



N° d'ordre :
N° de série :

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE ECHAHID HAMMA LAKHDAR D'EL-OUED
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE CELLULAIRE ET
MOLECULAIRE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

THEME

**Contribution à l'étude phytochimique, les activités
biologiques (Antioxydante et Antibactérienne) d'une
plante médicinale *Cleome arabica* L (Région d'Oued Souf).**

Présenté par :

AREF Mahdia et HEDED Mounira

Membres du jury:

Présidente	M ^{elle} Farah RAMDANE	M.A.A	Université d'El Oued
Promoteur	Mr Atef CHOUIKH	M.A.A	Université d'El Oued
Examinatrice	M ^{me} Nasma MAHBOUB	M.A.A	Université d'El Oued

Année universitaire: 2014/2015



DÉDICACE

JE M'INCLINE DEVANT DIEU TOUT PUISSANT QUI M'A OUVERT LA
PORTE DU SAVOIR ET M'A AIDÉ LA FRANCHIR.

JE DÉDIE CE MODESTE TRAVAIL:

MES CHERS PARENTS, POUR LEUR ENDURANCE ET LEURS
SACRIFICES SANS LIMITES

MES FRÈRES ET SOEURS, EN RECONNAISSANCE DE LEUR
AFFECTION TOUJOURS CONSTANTE

TOUS MES PROCHES

MES AMIS

MES CAMARADES DE PROMOTION

TOUS MES ENSEIGNANTS SURTOUT MR CHOUIKH ATEF POUR
ENCADREMENT

TOUS CEUX QUI M'ONT AIDÉ DANS LA RÉALISATION DE CE
MÉMOIRE

MOUNIRA

A bouquet of pink tulips in a white vase on the left, and two decorated cupcakes on the right. One cupcake has green frosting with yellow sprinkles, and the other has purple and pink frosting with yellow centers.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

À mes Parents

À toute ma famille

À tout mes amies

Mahdia

Remerciements

Alhamdo li allah, qui nous a éclairé les voies de la science et de la connaissance et qui nous a aidé à compléter cette recherche modeste.

Premièrement, nous remercions Monsieur Chuikh Atef pour avoir accepté de nous encadrer et de nous diriger, pour son soutien, ses encouragements ainsi que pour la confiance qu'il nous a accordé en réalisant ce travail, nous le remercions profondément pour son compréhension, son patience et son politesse incomparable.

Comme nous ne pouvons pas oublier à remercier les membres du jury "MAHBOUB Nasma" et "RAMDANE Farah" pour avoir accepté d'évaluer ce travail.

Nos remerciements vont également à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail, et notamment à:

Toutes les personnes qui travaillent dans le laboratoire de chimie au département des sciences et technologies et surtout l'enseignant Tliba Ali ingénieur de laboratoire de recherche.

Aussi à Hamid Abd El Karim technicienne dans le laboratoire dans l'hôpital Ben Omar Djilani Oued souf et Brik Hakima travailleur dans laboratoire d'analyse bactériologie de cette hôpital.

Résumé

Ce travail s'inscrit dans le cadre de l'étude du patrimoine botanique national surtout les plantes médicinales dont une grande partie reste encore vierge et nécessite des études approfondis, alors il porte sur notre objectif sera alentour l'étude phytochimique et l'activité biologique (Antioxydante et Antibactérienne) de la partie aérienne de *Cleome arabica* L, c'est la seule espèce de famille capparidaceae se trouve dans la région d'Oued Souf. Le screening chimique a mis en évidence la présence de flavonoïdes, d'alcaloïdes, tanins, saponosides et les sucres réducteurs dans la plante étudié. Les extraits méthanoliques bruts a été obtenus par deux méthodes d'extraction: macération (EM) et ultra-sons (EU), les rendements respectifs sont : 8.95%, et 9.60%, la teneur de polyphénols totaux représente 11.57 mg EAG/g MS avec (EM) et 13.46 mg EAG/g Ms avec (EU) ; La teneur de flavonoïdes est de 5.48 mg et 6.19 éq Qu/g Ms dans les deux extraits (EM) et (EU) respectivement. Aussi bien l'activité antioxydante, montrent que les deux extraits méthanoliques (Avec concentration 0.01 mg/ml) ont une grande capacité de piéger le radical DPPH avec un pourcentage d'inhibitions 41% pour (EM) et 60.67 % de (EU). En parallèle, l'activité antimicrobienne a été déterminée sur deux souches bactériennes: *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, les résultats obtenus montrent que les deux souches testés possèdent une faible sensibilité avec différents concentrations de nos extraits (Zones d'inhibitions de 12 à 00 mm pour *Escherichia coli* ; de 11.5 à 00 pour *Staphylococcus aureus*), et cela pour les deux méthodes d'extraction (EM moins élevé que EU). Par contre ces résultats restent très faible par rapport l'antibiotique utilisé (Amoxyclav: 44 mm pour *Escherichia coli*; 45.5 mm pour *Staphylococcus aureus*).

Mots clés : *Cleome arabica* L, EM (Extrait de Macération), EU (Extrait de ultrasons), Polyphénols totaux, Flavonoïde, Activité antioxydante, Activité antibactérienne, La région d'Oued Souf.

Contribution to the phytochemical study, the biological activities (Antioxidant and Antibacterial) a médecine plant *Cleome arabica* L (Oued Souf region)

Abstract

This work is inscribed in the cadre the matronal of study botqnicql is to investigate one famous plant used tremendously in our folk medicines, whose In spite of the numerous studies so far carried out on the considered plant, the aims of this work is study phytochemicals and biological activities (antioxidant and antibacterial) of the aerial part of *Cleome arabica* L, this is the only species of Capparidaceae family growing in the region of Oued Souf. The phytochemical screening of *Cleome arabica* L contains the flavonoids, alkaloids, tannins, saponosides, and reducing compounds. The crude extracts methanolic were obtained by maceration (EM) and ultra-sound (EU), The yields of extracts were: 8.95% and 9.60% respectively. Quantitative estimation of total phenol is 11.57 mg EGA/g MD for (EM), and 13.46 mg EAG/MD for (EU). The flavonoïds contents in (EM) and (EU) are respectively 5.48 and 6.19 E Qu/g MD. Antioxidant activity of the two extracts (in concentration 0.01mg/ml) demonstrated a great capacity to scavenging the DPPH radical where the percentage of inhibition was 41% for (EM) and 60.67 % for (EU). Antibacterial activity assay toward two bacterial strains *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The results revealed that two bacterial strains a low sensitivity in different concentrations of ours extracts (with inhibition zones variable at 12 from 00 mm for *Escherichia coli*; between 11.5 and 00 mm for *Staphylococcus aureus*). Depending ours results, we can say that the methods of extraction related to activity antibacterial where the (EM) gives large areas of inhibition from the (EU)., this zones was most low with in areas of inhibition obtained by Antibiotic Amoxyclav (44 mm to *Escherichia coli* and 45.5 mm for *Staphylococcus aureus*).

Key words: Chemical screening, *Cleome arabica* L, EM (Maceration extract), UE (Ultra-sound extract), Total Polyphenols, Flavonoids, antioxidant activity, antibacterial activity, region of Oued Souf.

الملخص

ينصب هذا العمل في إطار دراسة الموروث النباتي الوطني خاصة النباتات الطبية، والتي لايزال قسم كبير منها يتطلب دراسات معمقة. حيث كان الهدف من بحثنا هذا الدراسة الفيتوكيميائية والفعالية البيولوجية (المضادة للأكسدة وضد البكتيرية) للجزء الهوائي لنبات النتن (*Cleome arabica* L)، وهو النوع الوحيد من العائلة الكبارية (Capparidaceae) النامي في منطقة وادي سوف. أظهر الكشف الكيميائي عن وجود كل من الفلافونويدات، القلويدات، التانينات، الصابونوزيدات والمركبات المرجعة. أما عن المستخلص الخام للنبات والذي تم تحضيره بطريقتي النقع والموجات فوق الصوتية بواسطة الميثانول، فقدرة المردود بـ 8.95% و 9.60%. على التوالي. من خلال التقدير الكمي لمحتوى الفينولات في كلا المستخلصين فقد بـ 11.57 مغ مكافئ من حمض الغاليك/غ من المادة الجافة لدى مستخلص النقع و 13.46 مغ مكافئ من حمض الغاليك/غ من المادة الجافة لمستخلص الموجات فوق الصوتية، في حين قدرت الفلافونويدات في المستخلصين (النقع و الموجات فوق الصوتية) بـ 5.48 و 6.19 مغ مكافئ من الكرسيتين/غ من المادة الجافة على التوالي. أظهرت النشاطية المضادة للأكسدة للمستخلصين (في التركيز 0.01 مغ/مل) مع الجذر الحر DPPH أن لهما قدرة عالية على كبح هذا الجذر بنسبة تثبيط قدرت بـ 41 % للمستخلص الميثانولي عن طريق النقع و 60.67 % مع مستخلص الميثانولي عن طريق الموجات فوق الصوتية. تم اختبار النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلصين مع سلالتين بكتيريتين *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* حيث بينت النتائج أن السلالتين أبدتا حساسية ضعيفة مع مختلف تراكيز المستخلصين (الأقطار التثبيطية متغيرة ما بين 12 و 00 مم مع السلالة *Escherichia coli*، وما بين 11.5 و 00 مم مع السلالة *Staphylococcus aureus*)، كما بينت أن المستخلص بطريقة النقع لديه فعالية أكبر لدى السلالات البكتيرية المختبرة مقارنة بمستخلص الأمواج فوق الصوتية. بالمقابل فإن هاتين النتائجين تبقى جد ضعيفة مقارنة بالمضاد الحيوي Amoxyclav والذي أعطى أقطار تثبيطية قدرت بـ 44 مم مع السلالة *Escherichia coli* و 45.5 مم مع السلالة *Staphylococcus aureus*.

الكلمات المفتاحية :

الكشف الكيميائي، النتن (*Cleome arabica* L)، مستخلص النقع، المستخلص بالأمواج فوق الصوتية، عديدات الفينولات الكلية، الفلافونويدات، النشاطية المضادة للأكسدة، النشاطية المضادة للبكتيريا، منطقة وادي سوف.

SOMMAIRE

Résumé	
Liste des Tableaux	
Liste des Figures	
Liste des abréviations	
Introduction	
PREMIÈRE PARTIE : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	
Chapitre I : Métabolites secondaire chez les plantes	03
1. Définition	03
2. Biosynthèse	03
3. Classification	05
3.1. Polyphénols	05
3.1.1. Définition	05
3.1.2. Classification	05
3.1.2.1. Polyphénols monomériques	05
3.1.2.1.1. Acides phénoliques	05
3.1.2.1.2. Flavonoïdes	06
3.1.2.2. Polyphénols sous forme de polymères	09
3.1.2.2.1. Tanins	09
3.1.2.2.2. Lignines	10
3.1.2.2.2. Coumarines, Stilbénes (les plus rares)	11
3.1.3. Biosynthèse des polyphénols	12
3.2. Alcaloïdes	13
3.2.1. Définition	13
3.2.2. Fonctions et propriétés	14
3.2.3. Biosynthèse	14
3.2.4. Classification	15
3.2.5. Propriétés physicochimiques et pharmacologiques	16
3.3. Terpénoïdes	17
3.3.1. Définition	17
3.3.2. Biosynthèse	18
3.3.3. Classification	18
3.3.3.1. Monoterpènes	18
3.3.3.2. Sesquiterpènes	19
3.3.3.3. Diterpènes	19
3.3.3.4. Triterpénoides et stéroïdes	19
3.3.3.5. Tétraterpènes	19
Chapitre II : Présentation la plante étudiée	20
1. Famille capparidaceae	20
1.1. Définition	20
1.2. Description	20
1.3. Répartition	20
1.4. Sous-familles de capparidaceae	21
2. <i>Cleome arabica</i> L.	21
2.1. Position systématique	21
2.2. Répartition géographique	22
2.3. Description botanique	22
2.4. Intérêts socioéconomiques	23

DEUXIEME PARTE : PARTIE PRATIQUE	
Chapitre I : MATERIEL ET METHODES	
1. Matériels	24
1.1. Matériel végétale	24
1.2. Matériels de laboratoire.....	24
1.3. Réactifs chimiques et solvants.....	24
1.4. Souche microbienne.....	25
1.5. Antibiotique.....	25
1.6. Milieu de culture.....	26
2. Méthodes.....	26
2.1. Récolte de la plante.....	26
2.2. Screening chimique.....	26
2.2.1. Flavonoides, Composées réducteurs et Tanins	27
2.2.2. Saponosides.....	27
2.2.3. Stérols et Tritéropènes.....	27
2.2.4. Anthocyanes.....	28
2.2.5. Alcaloïdes.....	28
2.3. Méthodes d'extraction.....	28
2.3.1. Extraction assiste par macération(EAM).....	28
2.3.2. Extraction assiste par ultrasons (EAU).....	30
2.4. Détermination de rendement.....	32
2.5. Analyse quantitative de composées phénoliques	32
2.5.1. Dosage de polyphénols totaux.....	32
2.5.2. Dosage de flavonoïdes	32
2.6. Activités biologiques.....	33
2.6.1. Activité antioxydant.....	33
2.6.2. Activité antibactérienne.....	33
2.6.2.1. Détermination de DI (diamètre d'inhibition).....	33
2.7. Analyse statistique.....	35
Chapitre II : RESULTATS ET DISCUSSION	
1. Résultats.....	36
1.1. Screening chimique.....	36
1.2. Rendement des extraits alcooliques.....	42
1.3. Analyse quantitative de composés phénoliques	43
1.3.1. Dosage de polyphénols totaux.....	43
1.3.2. Dosage de flavonoïdes.....	44
1.4. Activité biologique.....	46
1.4.1. Activité antioxydant.....	46
1.4.2. Activité antibactérienne.....	47
2. Discussion.....	51
2.1. Screening chimique.....	51
2.2. Rendement des extraction.....	52
2.3. Analyse quantitative de composés phénoliques.....	53
2.3.1. Dosage de polyphénols totaux.....	53
2.3.2. Dosage de flavonoïdes.....	54
2.4. Activités biologiques.....	55
2.4.1. Activité antioxydante.....	55
2.4.2. Activité antibactérienne.....	56

Conclusion	58
Références bibliographiques.....	60
Annexes.....	79

LISTE DES TABLEAUX

Numéro	Titre	Page
Tableau 1	Différentes classes de Flavonoïdes	08
Tableau 2	Classification de <i>Cleome arabica</i> L	21
Tableau 3	Résultats des tests phytochimiques de <i>Cleome arabica</i> L	36
Tableau 4	Aspects, couleurs et rendements des extraits par de macération et ultrasons	42

LISTE DES FIGURES

Numéro	Titre	Page
Figure 1	Origine biosynthétique des métabolites secondaires	04
Figure 2	Acide benzoïque	06
Figure 3	Acide cinamique	06
Figure 4	Structure de base d'un Flavonoïde	07
Figure 5	Structure générale de tanins hydrolysable	10
Figure 6	Structure générale de tanins condensés	10
Figure 7	Structures chimiques de lignine	11
Figure 8	Structure d'une molécule de coumarine	11
Figure 9	Structure chimique de stilbène	12
Figure 10	Biosynthèse des composés phénoliques	13
Figure 11	Origine biosynthétique de différentes classes d'alcaloïdes	14
Figure 12	Les principaux cycles azotés des alcaloïdes	16
Figure 13	Structure de la molécule d'isoprène	17
Figure 14	<i>Cleome arabica</i> L. au stade fructification à Sahara septentrional (Oued Metlili: Région de Ghardaïa)	22
Figure 15	<i>Cleome arabica</i> L	23
Figure 16	Les deux souches bactériennes utilisées	25
Figure 17	Amoxyclav 30 µg/disque	25
Figure 18	Milieu de culture (gélose Mueller Hinton).	26
Figure 19	Protocole de préparation de l'extrait méthanoïque par macération	29
Figure 20	Phénomène de cavitation acoustique	30
Figure 21	Protocole de préparation de l'extrait méthanolique par ultrasons	31
Figure 22	Boite de pétrie contenant gélose Muller Hinton	34
Figure 23	Disposition des disques d'extrait et d'antibiotique dans boite de pétrie.	35
Figure 24	Détection chimique des flavonoïdes	38
Figure 25	Détection chimique des composée réducteurs.	38

Figure 26	Détection chimique des tanins	39
Figure 27	Détermination chimique des saponosides et détection l'indice de mousse	40
Figure 28	Détection chimique des stérols et triterpènes	40
Figure 29	Détection chimique des anthocyanes	41
Figure 30	Détection chimique des alcaloïdes	41
Figure 31	Rendement de deux extraits	42
Figure 32	Courbe d'étalonnage d'acide gallique	43
Figure 33	Evaluation des polyphénols totaux des deux extraits	44
Figure 34	Courbe d'étalonnage de quercétine	45
Figure 35	Teneur en Flavonoïdes des deux extraits méthanoïques	45
Figure 36	Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique de test DPPH	46
Figure 37	Pourcentage d'inhibitions I% contre le radical libre DPPH (concentration 0.01mg/ml) des deux extraits méthanoliques de <i>Cleome arabica</i> L.	47
Figure 38	Zones d'inhibition (par mm) dse deux souches bactérienne testées en fonction des différentes concentrations d'extraits (EAM; EAU).	48
Figure 39	L'effet d'extrait de macération sur <i>Escherichia coli</i>	49
Figure 40	L'effet d'extrait de macération sur <i>Staphylococcus aureus</i>	49
Figure 41	L'effet d'extrait d'ultra-sons sur <i>Escherichia coli</i>	50
Figure 42	L'effet d'extrait d'ultra-sons sur <i>Staphylococcus aureus</i>	50

LISTE DES ABREVIATIONS

EAM: Extraction Assisté par macération

EAU: Extraction Assisté par ultrasons

EM: Extrait par macération

EU: Extrait par ultrasons

IPP: Pyrophosphate d'isopentényle

DMAPP: Pyrophosphate diméthylallyl

DXP: Desoxyxylulose-5- phosphate

HEs: Huiles essentielles

FPP: Farnésyldiphosphate

MeOH: Méthanol

mg: Miligramme

mm: Millimètre

MeOH: Méthanol

mg éqQu/g : mg équivalent quercitine par gramme de matière sèche

mg éqAG/g : mg équivalent acide gallique par gramme de matière sèche

DPPH: 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl

DMSO: Diméthylsulfoxyde

ATCC: American type culture collection

%: Pourcentage

C°: Degré Celsius

DXP: Desoxyxylulose-5- phosphate

Da: Dalton

AlCl₃: Trichlorure d'aluminium

Na₂CO₃: Carbonate de sodium

ATB: Antibiotique

INTRODUCTION

Introduction

Les plantes ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'homme, au travers des âges, l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base: nourriture, abris, vêtements (GURIB-FAKIM, 2006). Le monde des végétaux est plein de ressources et de vertus d'où l'homme puise non seulement sa nourriture mais aussi des substances actives qui procurent souvent un bienfait à son organisme parfois affecté de troubles insidieux (BABA-AISSA, 2000). L'utilisation thérapeutique des extraordinaires vertus des plantes pour le traitement de toutes les maladies de l'homme est très ancienne et évolue avec l'histoire de l'humanité (GURIB-FAKIM, 2006).

Les plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments, elles sont considérées comme source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments (MAURICE, 1997). Cette matière végétale contient un grand nombre de molécules qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie alimentaire, en cosmétologie et en pharmacie; Parmi ces composés on retrouve, les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tannins, les terpènes et les flavonoïdes (BAHORUN *et al.*, 1996).

Le stress oxydant est impliqué dans de très nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications, la plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes augmente la multiplication mitochondriale de radicaux (GIRODON *et al.*, 2010). Parmi les activités biologiques des plantes médicinales, ces dernières années l'attention s'est portée sur l'activité antioxydante en raison du rôle qu'elle joue dans la prévention des maladies chroniques telles que les pathologies du coeur, le cancer, le diabète, l'hypertension, et la maladie d'alzheimer en combattant le stress oxydant (MEDDOUR *et al.*, 2013).

Aussi la maîtrise des infections bactériennes devient complexe du fait que de nombreuses bactéries ont développé une résistance à la plupart des antibiotiques ce qui a constitué un problème de santé important à l'échelle mondiale (BENBRINIS, 2012). Les végétaux furent de plus en plus utilisés pour l'extraction des substances physiologiquement actives ou pouvant être transformées en médicament. Mais avec l'introduction de la chimiothérapie, l'usage des plantes médicinales a connu un certain recul. Cependant l'emploi abusif et souvent incontrôlé de cette chimiothérapie en particulier l'antibiothérapie a fait

apparaître un phénomène de résistance chez la plupart des agents bactériens. Face à ce problème de résistance, l'utilisation de la phytothérapie est de plus en plus d'actualité. La recherche de nouvelles molécules possédant un pouvoir antibactérien est également très active, notamment au niveau des plantes de la pharmacopée africaine (ATEFBEIBU, 2002).

L'évaluation des propriétés phytopharmaceutiques, antioxydante et antimicrobienne demeure une tâche très intéressante et utile, en particulier pour les plantes d'une utilisation rare ou moins fréquente ou non connue dans la médecine traditionnelle. Ces plantes représentent une nouvelle source de composés actifs (TEIXEIRA DA SILVA, 2004).

Le Sahara dispose d'une biodiversité floristique exceptionnelle, constituée d'environ 500 espèces végétales et à laquelle s'ajoute une tradition séculaire de pharmacopée traditionnelle (OZANDA, 1991). Les plantes spontanées des zones arides sont considérées comme l'une des ressources phytogénétiques qui présentent un intérêt agronomique, économique, écologique mais aussi stratégique (UNESCO, 1960). Parmi à ces plantes médicinales recensées à ce jour, ceux de la famille Capparidaceae l'une des famille des angiospermes, il comporte 45 genre et 800 espèces (JAMES *et al.*, 1996).

Les buts de notre travail a été entrepris afin de réalises d'une études phytochimique, ainsi que d'évaluer les activités antioxydante et antibactérienne des extraits méthanoliques de la partie aérienne de *Cleome arabica* L (Nom commun: NETTIN) la seul espèce de famille capparidaceae se trouve dans la région d'Oued Souf. Cette plante utilisée en médecine traditionnelles par les populations locales et les nomades surtout pour ses effets anti-rhumatismaux (TIGRINE, 2014). Au cours de nos travaux, nous avons préparés les extrait méthanoïques de cette plante par deux méthodes d'extraction mcération et ultra-sons.

Cette étude comporte deux parties:

La premiere partie est consacré à une synthèse bibliographique, qui constitué de deux chapitre l'un sur les métabolismes secondaires et l'autre sur la présentation de la plante étudiée (*Cleome arabica* L. Famille: Capparidaceae).

La seconde partie concerne la partie expérimentale, qui comporte deux chapitres, l'un sur les matériels et les méthodes de travail; Le deuxième chapitre regroupe l'ensemble des résultats qui seront suivis d'une discussion. Enfin nous avons terminés notre travail par une conclusion qui est un ensemble de réflexions achève ce travail.

PREMIERE PARTIE
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Métabolites secondaire chez les plantes

Chapitre I : Métabolites secondaire

1. Définition

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées par les plantes autotrophes (BOUDJOUREF, 2011). Ce sont caractérisés généralement par de faible concentration dans les tissus végétaux (généralement quelques pourcents du carbone total, si on exclue la lignine de cette catégorie) (NEWMAN et CRAGG, 2012). Aussi n'exercent pas de fonction directe au niveau des activités fondamentales de la plante (GUIGNARD, 1996).

Biosynthétisés à partir de métabolites primaires et jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement, contribuant ainsi à la survie de l'organisme dans son écosystème (PEEKING *et al.*, 1987). En 1987 Plus de 8500 métabolites secondaires sont déjà connus. Les plus grands groupes sont les alcaloïdes, les terpénoïdes, les stéroïdes et les composés phénoliques. Ils présentent une énorme valeur économique (en particulier pour l'industrie pharmaceutique et la cosmétique) (PEEKING *et al.*, 1987).

2. Biosynthèse

La production des métabolites secondaires est étroitement liée au métabolisme primaire, résultent généralement de trois voies de biosynthèse (Figure 01): la voie de shikimate, la voie de mévalonate et du pyruvate (VERPOORTE et ALFERMANN, 2000). La plupart des précurseurs sont issus de la glycolyse (pyruvate, phosphoenolpyruvate, acétyl-CoA), de la voie des pentoses phosphate (glyceraldéhyde-3-P, Erythrose-4-P) et du métabolisme des lipides (glyceraldéhyde-3-P et acétyl-CoA). Ces précurseurs sont à l'origine de la diversité structurale observée au niveau des métabolites secondaires (MAYER, 2004).

Du point de vue synthétique, ces métabolites secondaires peuvent aussi être subdivisés en deux catégories : ils peuvent être de type phyto anticipines ou de constitution, C'est-à-dire synthétisés par la plante de manière permanente même en absence d'un facteur de stress par opposition aux métabolites induits ou phytoalexines qui sont synthétisés uniquement en cas de stress et sont donc formés de novo (LITVAK et MONSON, 1998).

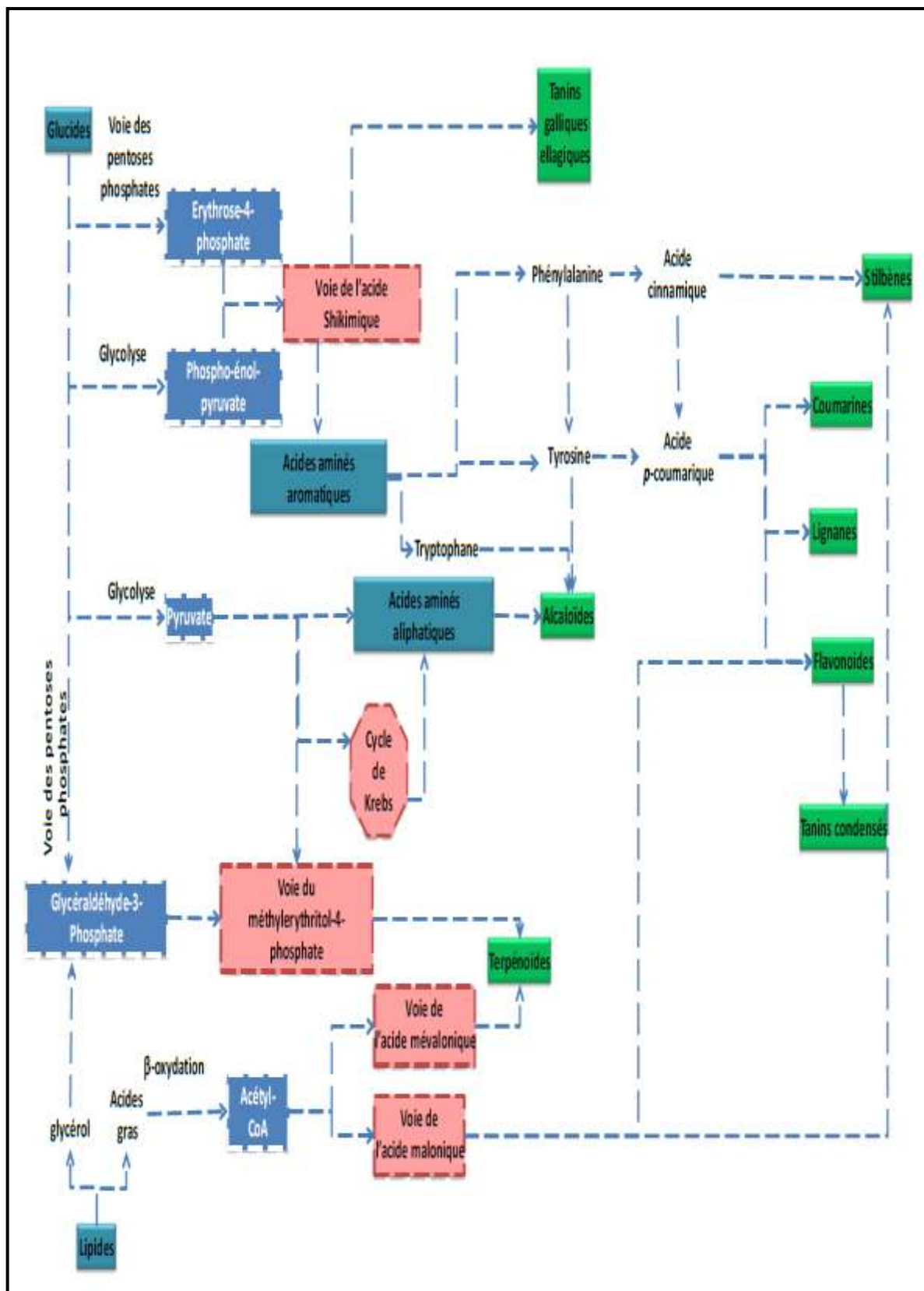


Figure 01: Origine biosynthétique des métabolites secondaires (AHARONI et GALILI, 2001).

3. Classification

D'après leur biosynthèse, les métabolites secondaires peuvent être divisés en trois classes: Polyphénols; terpénoïdes; stéroïdes et alcaloïdes (HENNEBELLE *et al.*, 2004).

3.1. Polyphénols

3.1.1. Définition

Les 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, ou engagé dans une autre fonction tels que : éther, ester, hétéroside...etc (BRUNETON, 1999). La grande majorité de composés phénoliques dérivent de l'acide cinnamique formé par la voie du shikimate (GORHAM, 1977). Sont solubles dans la solution de carbonate de sodium. Chimiquement, ils sont réactifs et donnent souvent lieu à des liaisons hydrogènes, ou chélater des métaux pour les O-dihydroxyphénols (catéchol); Enfin, ils sont sensibles à l'oxydation (GORHAM, 1977).

3.1.2. Classification

La classification de ces substances a été proposée par HARBORNE (1980). On peut distinguer les différentes classes des polyphénols en se basant d'une part, sur le nombre d'atomes constitutifs et d'autre part, sur la structure de squelette de base, principales classes sont largement répandues (MACHEIX *et al.*, 2006).

3.1.2.1. Polyphénols monomériques

3.1.2.1.1. Acides phénoliques

Les acides phénoliques, ou acides phénols ont une fonction acide et plusieurs fonctions phénols, Ils sont incolores et plutôt rares dans la nature (HASLAM, 1994). Ils se divisent en deux classes: les dérivés de l'acide benzoïque (les acides hydroxycinnamiques) et les dérivés de l'acide cinnamique (les acides hydroxybenzoïques) (PANDEY et RIZVI, 2009).

✓ Acide phénols dérivés d'acide benzoïque :

Sont des hydroxybenzoïques et ont une structure générale de base de type (C6-C1) (figure 02), ces molécules existent souvent sous forme d'esters ou de glycosides (HARRAR., 2012). Les plus répandus sont: l'acide salicylique et l'acide gallique (BRUNETON, 1999).

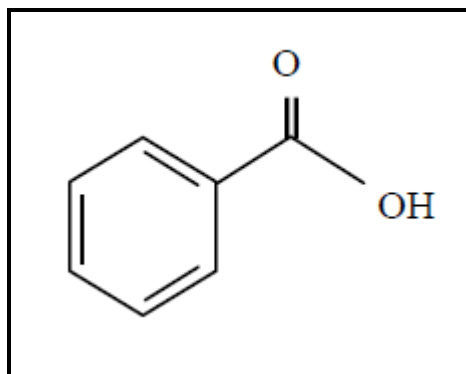


Figure 02: Acide benzoïque (PAWLOWSKA *et al.*, 2006).

✓ **Acide phénols dérivés d'acide cinnamique :**

Les acides phénols dérivés de l'acide cinnamique (figure 03) sont souvent estérifiés. Les plus courants sont l'acide cinnamique, l'acide caféïque, l'acide férulique, l'acide *p*-coumarique et l'acide synaptique (HASLAM, 1994).

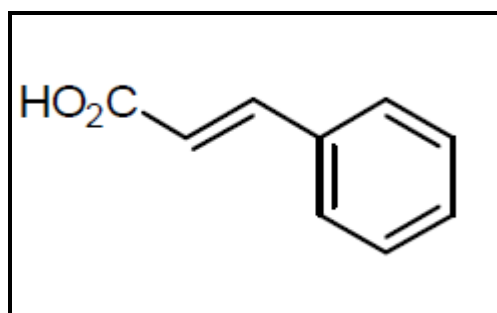


Figure 03: Acide cinamique (GORHAM, 1977).

Remarque :

Les acides hydroxycinnamiques sont plus fréquents que les acides hydroxybenzoïques et comprennent essentiellement l'acide *p*-coumarique, caféïque, férulique et sinapique (PANDEY et RIZVI, 2009).

3.1.2.1.2. Flavonoïdes

C'est le groupe le plus représentatif des composés phénoliques, ces molécules ont des structures chimiques variées et des caractéristiques propres (BENHAMMOU, 2011). En 2003, environ de 4000 composés flavoniques sont connus (EDENHARDER et GRUNHAGE, 2003). Certains sont des pigments quasi-universels des végétaux, ces composés existent sous forme libre dite aglycone ou sous forme d'hétérosides, c'est à- dire liée à des oses et autres substances (HELLER et FORKMANN, 1993).

ont une squelette de base formé par deux cycles en C6 (A et B) reliés entre eux par une chaîne en C3 qui peut évoluer en un hétérocycle (Cycle C) (figure 04) (AKROUM, 2011).

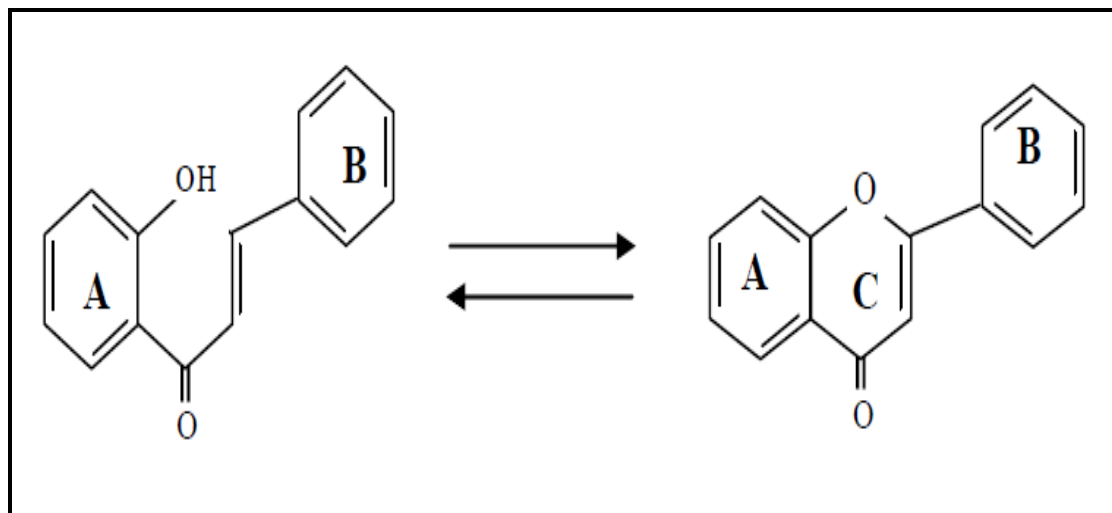
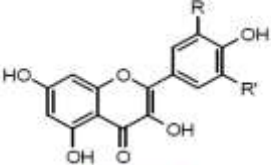
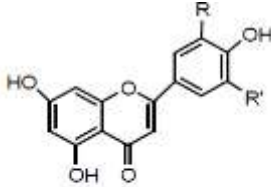
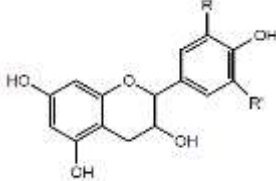
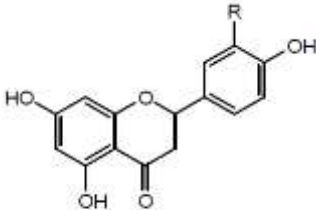
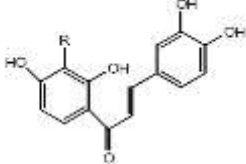
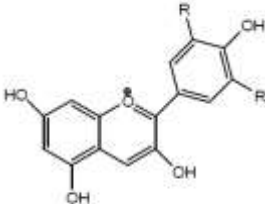
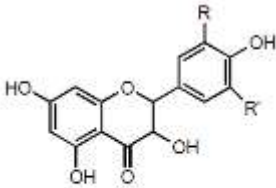
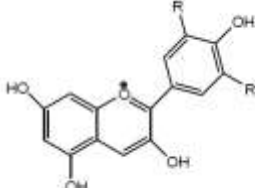


Figure 04: Structure de base d'un flavonoïde (HELLER et FORKMANN, 1993).

La nature chimique des flavonoïdes dépend de leur classe structurale, de degré d'hydroxylation et de méthylation, de degré de polymérisation, des substitutions et des conjugaisons sur le cycle C c'est-à-dire la présence : de double liaison C2-C3, du groupe 3-O et la fonction 4-oxo (YAO *et al.*, 2004). Ils se répartissent en plusieurs classes des molécules dont les plus importants sont représentées dans le tableau (01).

Tableau 01: Différentes classes de flavonoïdes (NKHILI, 2009).

Flavonols  $R=R'=H$: Kaempférol $R=OH, R'=H$: Quercétine $R=OCH_3, R'=H$: Isorhamnétine $R=R'=OH$: Myricétine	Flavones  $R=R'=H$: Apigénine $R=OH, R'=H$: Lutéoline $R=R'=OCH_3$: Triciné
Flavan-3-ols  $R=R'=H$: Afzélaïne $R=OH, R'=H$: Catéchine $R=R'=OH$: Gallocatéchine	Flavanones  $R=H$: Naringénine $R=OH$: Eriodictyol
Chalcones  $R=H$: Rutéine $R=OH$: Okanéine	Aurones  $R=R'=H$: Pélargonidine $R=OH, R'=H$: Cyanidine $R=OCH_3, R'=H$: Péonidine $R=R'=OH$: Délphinidine $R=R'=OCH_3$: Malvidine $R=OH, R'=OCH_3$: Pétunidine
Flavanonols  $R=OH, R'=H$: Taxifoline $R=OH, R'=OH$: Ampéloptol	Anthocyanes  $R=R'=H$: Pélargonidine $R=OH, R'=H$: Cyanidine $R=OCH_3, R'=H$: Péonidine $R=R'=OH$: Délphinidine $R=R'=OCH_3$: Malvidine $R=OH, R'=OCH_3$: Pétunidine

3.1.2.2. Polyphénols sous forme de polymères

3.1.2.2.1. Tanins

Les tanins sont des composés phénoliques complexes, hydrosolubles ayant un poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Da (KAMRA *et al.*, 2006). Ces composés naturellement produits par les plantes et se caractérisent par leur facilité à se combiner aux protéines (MAKKAR, 2003; MANGAN, 1988; MCSWEENEY *et al.*, 2001). Grâce à la présence de plusieurs groupements hydroxyles phénoliques (KHENAKA, 2011), Aussi à d'autre polymères organiques tels que des glucides, des acides nucléiques, des stéroïdes et des alcaloïdes, pour former avec eux des complexes stables (HASLAM, 1998).

Ils sont très répandus dans le règne végétal, mais ils sont particulièrement abondants dans certaines familles comme les *conifères*, les *Fagacée*, les *Rosacée* (GHESTERM *et al.*, 2001). Ils peuvent exister dans divers organes: l'écorce, les feuilles, les fruits, les racines et les grains (KHANBABAE et REE, 2001). En général, ils sont subdivisés en deux groupes distincts en fonction du type de l'acide phénolique et du type de liaisons qui déterminent la taille et la réactivité chimique de la molécule (RIRA, 2006).

A. Tanins hydrolysables:

Sont des hétéro polymères (figure 05) possédant un noyau central constitué d'un polyol, il s'agit souvent d'un D-glucose; comme leur nom l'indique, ces substances s'hydrolysent facilement en milieux acides et alcalins ou sous l'action d'enzymes (telle que la tannase), pour donner des glucides et des acides phénoliques (LEINMULLER *et al.*, 1991). Ils sont facilement scindés par les enzymes de tannases en oses et en acide phénol, selon la nature de celui-ci on distingue: les tanins galliques (Gallo tanins), ils donnent par l'hydrolyse des oses et de l'acide gallique et les tanins ellagiques (Ellagitanins), Ainsi sont scindés par les enzymes en oses et en acide ellagique (PARIS et HURABIELLE, 1981).

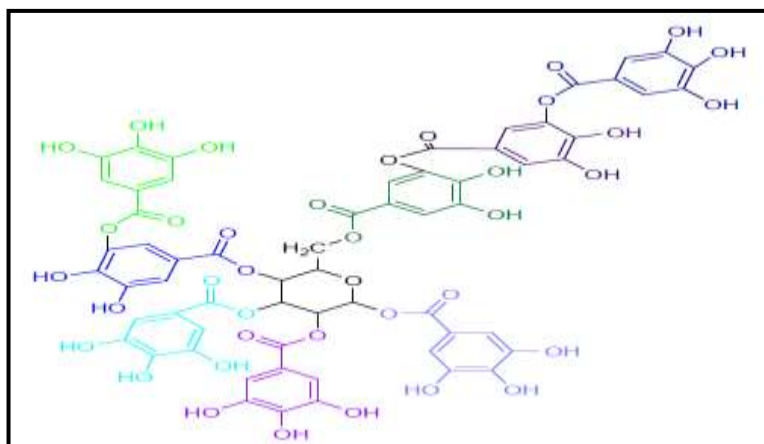


Figure 05: Structure générale de tanins hydrolysable (GILBERT et NORRIS, 1968).

B. Tanins condensées

Ce sont des tanins non hydrolysables (Dits catéchiques et proanthocyaniques), ils sont plus complexes que les tanins galliques (figure 06), ils possèdent une squelette phényl-2-chromane de flavonoïdes (ALILOU, 2012). Il est admis aujourd'hui que ces tanins sont constitués par le mélange de produits de polymérisation oxydative de catéchines (flavan-3-ols) et de proanthocyanes (flavan-3,4- dioles), on peut les qualifier encore de tanins flavaniques (RICHTER, 1993).

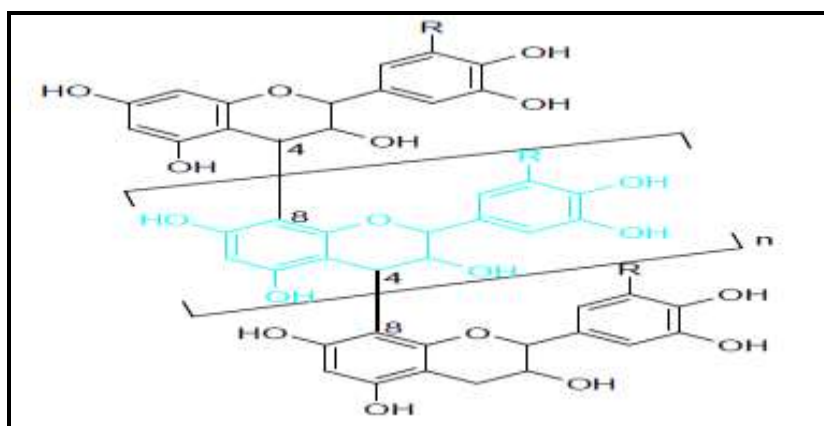


Figure 06: Structure générale de tanins condensés (GILBERT et NORRIS, 1968).

3.1.2.2.2. Lignines (figure 07):

C'est l'un des polymères biosources les plus abondants sur Terre, elle constitue de 15 à 40% de la matière sèche des arbres et de 5 à 20% des tiges des plantes annuelles. C'est également le polymère aromatique naturel le plus abondant (PRIVAS, 2013). Subissant les

contraintes de la gravité, la lignine est apparue afin notamment de rigidifier les parois cellulaires (CRUZ *et al.*, 2001).

Le rôle des lignines dans l'évolution des végétaux, ils forment une barrière mécanique, de goût désagréable, et réduisant la digestibilité des sucres de la paroi, les lignines participent à la résistance des plantes aux microorganismes et herbivores, la lignification est une réponse courante à l'infection ou la blessure (MURRY *et al.*, 1982).

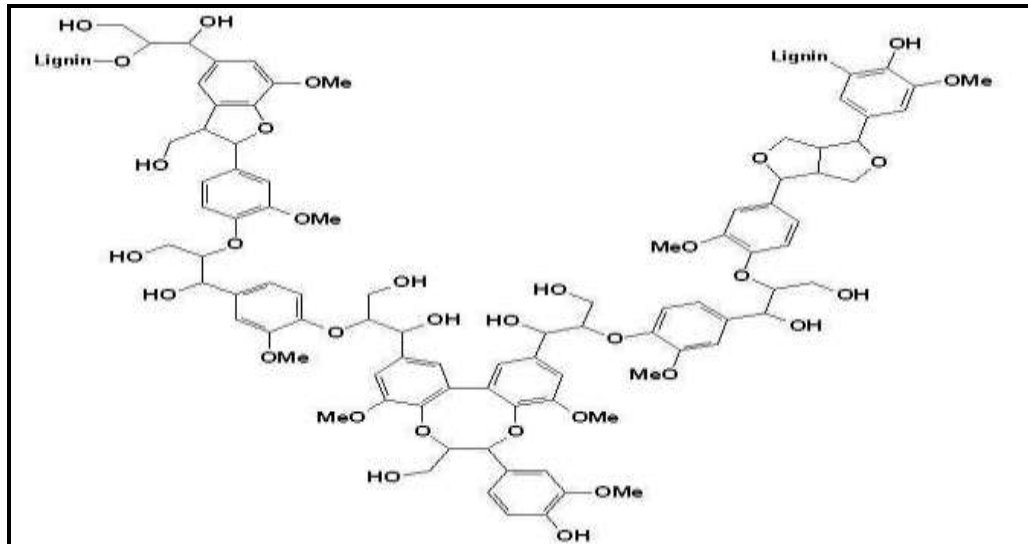


Figure 07 : Structures chimiques de lignine (SCALBERT et WILLIAMSON, 2000).

3.1.2.2.3. Coumarines, Stilbènes (les plus rares) (NKHILI, 2009).

3.1.2.2.3.1. Coumarines

Les coumarines (figure 08) sont des molécules largement répandues dans tout le règne végétal, sont des 2H-1-benzopyran-2-ones, considérées comme étant les lactones des acides 2-hydroxy-7-cinnamiques (BENAYACHE, 2005) (Figure 08). Elles existent sous forme libre solubles dans les alcools et dans les solvants organiques ou les solvants chlorés ou encore liées à des sucres (hétérosides) sont plus ou moins solubles dans l'eau (BRUNETON, 1999).

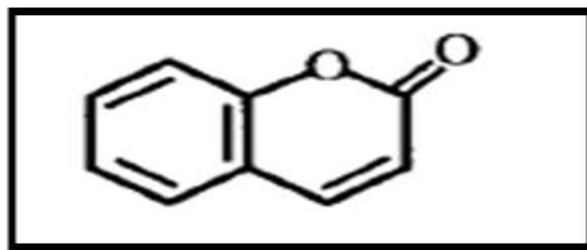


Figure 08 : Structure d'une molécule de coumarine (COWAN, 1999).

La coumarine et ses dérivés ont des actions phyto biologiques (HOSTETTMANN, 1992), bactériostatiques et anti fongiques (RUFINI et SAMPAOLO, 1977). Ils ont un effet anti-œdémateux (HOULT et PAYA, 1996).

3.1.2.2.3.2. Stilbènes

Les stilbènes (figure 09) sont des composés phénoliques contenant au minimum deux noyaux aromatiques reliés par une double liaison, Le resvératrol et le ptérostilbène font partie de la famille des stilbènes et sont des composés synthétisés par la plante suite à un stress, Ces molécules peuvent s'oxyder sous l'action d'enzymes oxydase et les peroxydases (PERRET, 2001).

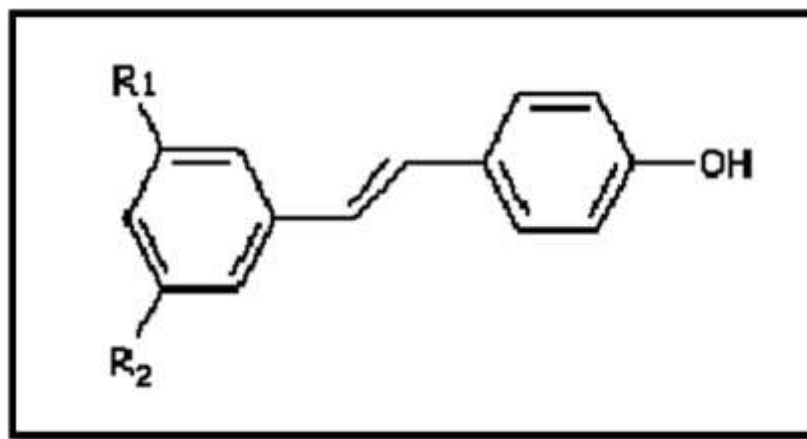


Figure 09: Structure chimique de stilbène (PERRET, 2001).

3.1.3. Biosynthèse des polyphénols

Les polyphénols sont synthétisés par deux voies biosynthétiques (figure 10):

- ✓ Celle de l'acide shikimique (shikimate).
- ✓ Celle issue de l'acétate-malonate (MOHAMMEDI, 2013).

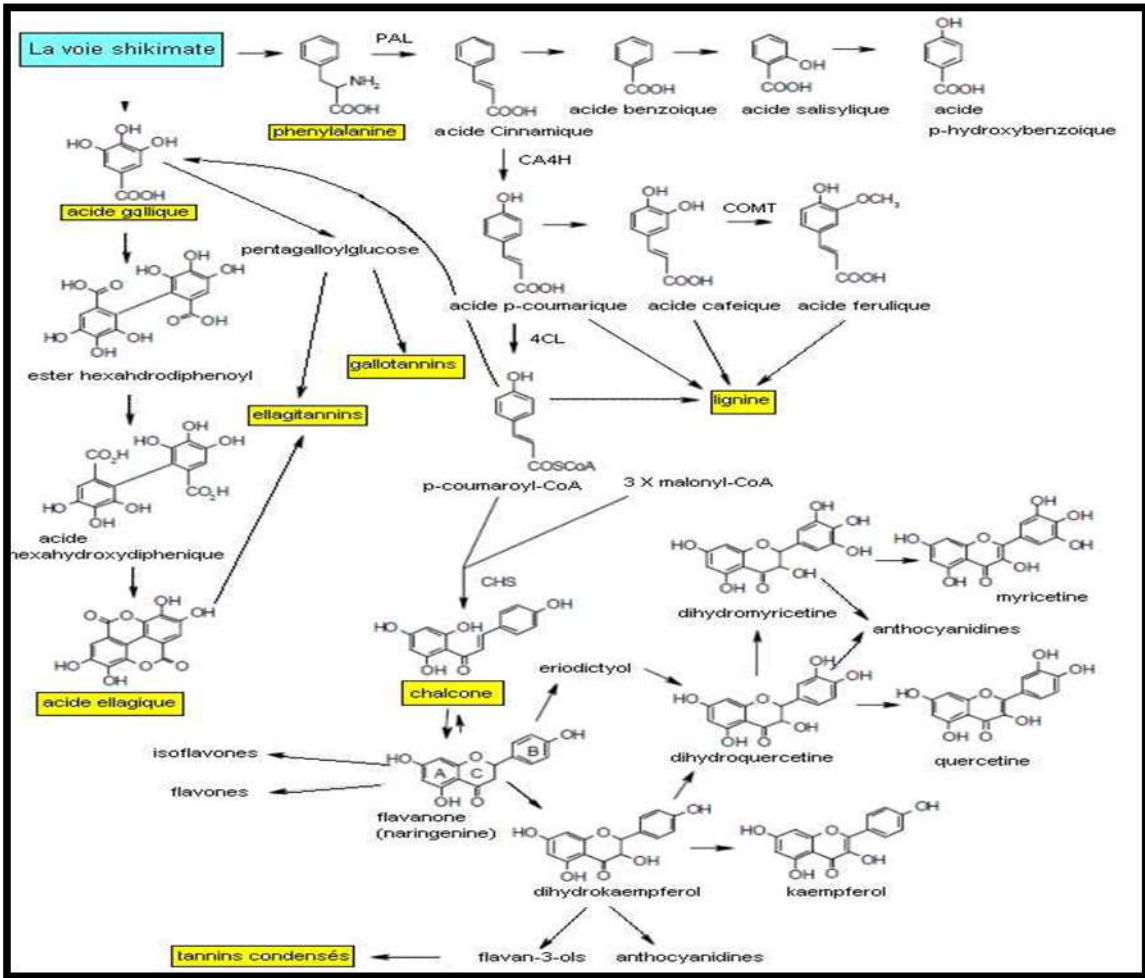


Figure 10: Biosynthèse des composés phénoliques (MOHAMMEDI, 2013).

De plus la diversité structurale des composés polyphénoliques due à cette double origine biosynthétique, est encore accrue par la possibilité d'une participation simultanée des deux voies dans l'élaboration de composés d'origine mixte (MARTIN et TSITOHAINA, 2002).

3.2. Alcaloïdes

3.2.1. Définition

Les alcaloïdes sont des substances organiques naturelles composés de carbone, d'hydrogène, d'oxygène et d'azote (SCHAUBENBERG et PARIS, 2005). Typiquement comme les amines primaires, secondaires, ou tertiaires et cela confère la basicité à l'alcaloïde, en facilitant leur isolement et purification comme sels solubles dans l'eau formés en présence des acides minéraux (HESS, 2002). Ils peuvent être présents dans tous les organes (ZIEGLER et FACCHINI, 2008). Leur teneur est très variable, généralement comprise entre 0.1% et 2 à 3 % du poids sec de la drogue (ROUX et CATIER, 2007).

Les alcaloïdes existent rarement à l'état libre dans la plante, mais le plus souvent ils sont combinés à des acides organiques ou à des tanins (ZIEGLER et FACCHINI, 2008).

3.2.2. Fonctions et propriétés

Les alcaloïdes sont des molécules très intéressantes au 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). Insolubles ou fort peu solubles dans l'eau; ils sont solubles dans l'alcool plus à chaud qu'à froid, l'éther, les acides et dans l'ammoniaque (COWAN, 1999).

3.2.3. Biosynthèse

Contrairement à la plupart des autres types de métabolites secondaires, les nombreuses classes d'alcaloïdes ont des origines biosynthétiques unique (figure 11) (ZIEGLER et FACCHINI, 2008). Les noyaux de base de ces différents alcaloïdes dérivent des acides aminés du métabolisme primaire (NACOUUMA, 2012).

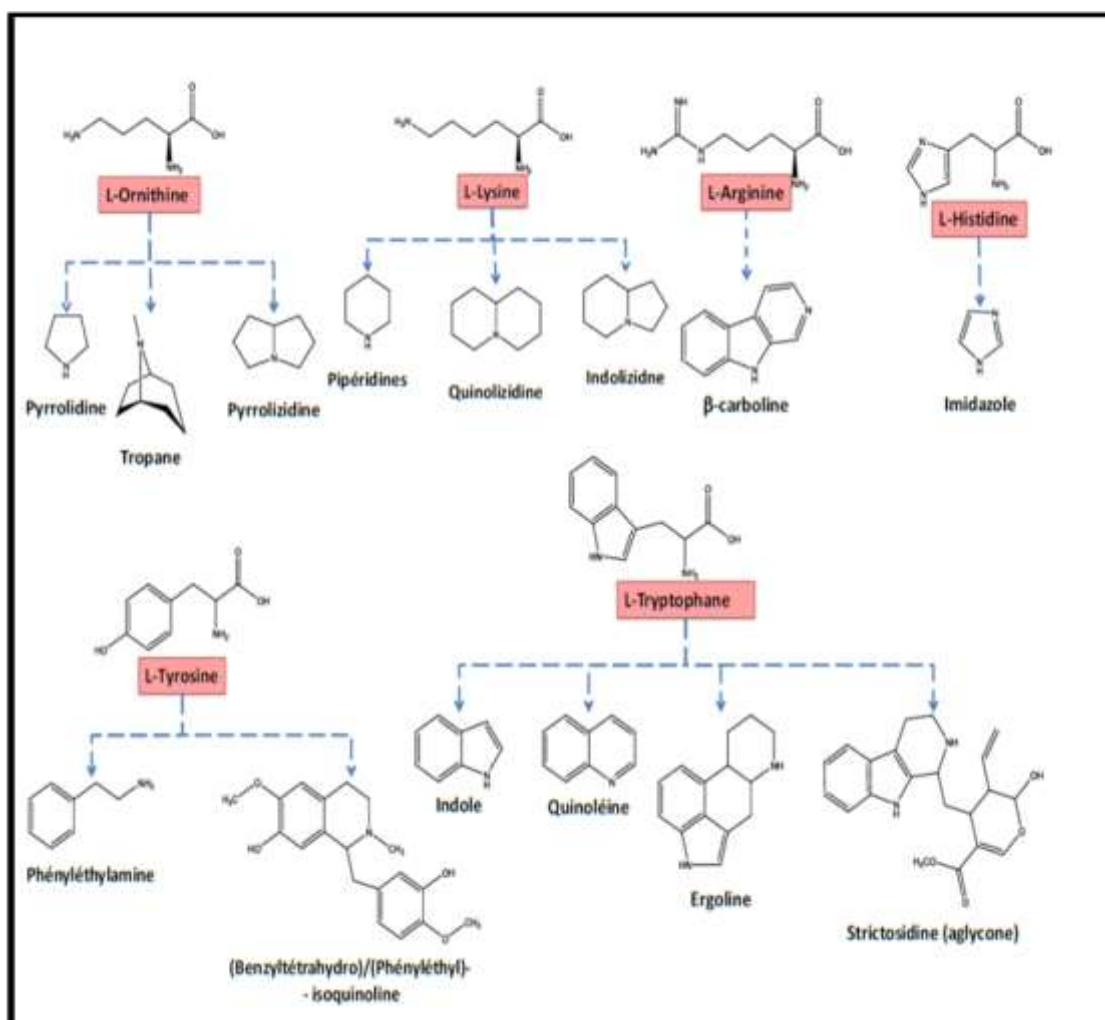


Figure 11: Origine biosynthétique de différentes classes d'alcaloïdes (NACOUUMA, 2012).

3.2.4. Classification

3.2.4.1. 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 (BRUNETON, 1999).
- ❖ **Pseudo-alcaloïdes** : ils représentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas dérivés des acides aminés (BRUNETON, 1999).
- ❖ **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).

3.2.4.2. Selon leur composition chimique et structure moléculaire

Les alcaloïdes peuvent être divisés en plusieurs groupes.

- ❖ **Phénylalanines**: comme capsaïcine chez piment, colchicine chez colchique.
- ❖ **Alcaloïdes isoquinoléiques** : comme: morphine, éthylmorphine, codéine et papavérine continues dans l'opium du pavot; et des alcaloïdes indoliques: ergométrine, ergotamine et ergotoxine de l'ergot des céréales (GONZALEZ *et al.*, 1984).
- ❖ **Alcaloïdes quinoléiques**: se trouvent dans les écorces de Cinchona (DONATIEN, 2008).
- ❖ **Alcaloïdes pyridiques et pipéridiques**: par exemple: ricinine chez ricin.
- ❖ **Alcaloïdes dérivés du tropane** : comme scopolamine et atropine chez la belladone.
- ❖ **Alcaloïdes stéroïdes**: racine de vératre, douce-amère ou aconite (aconitine) par exemple (GONZALEZ *et al.*, 1984).

Les principaux cycles azotés des alcaloïdes sont de type a, b, c, d, e, f, g et h (figure 12) (MEDJROUBI *et al.*, 1997).

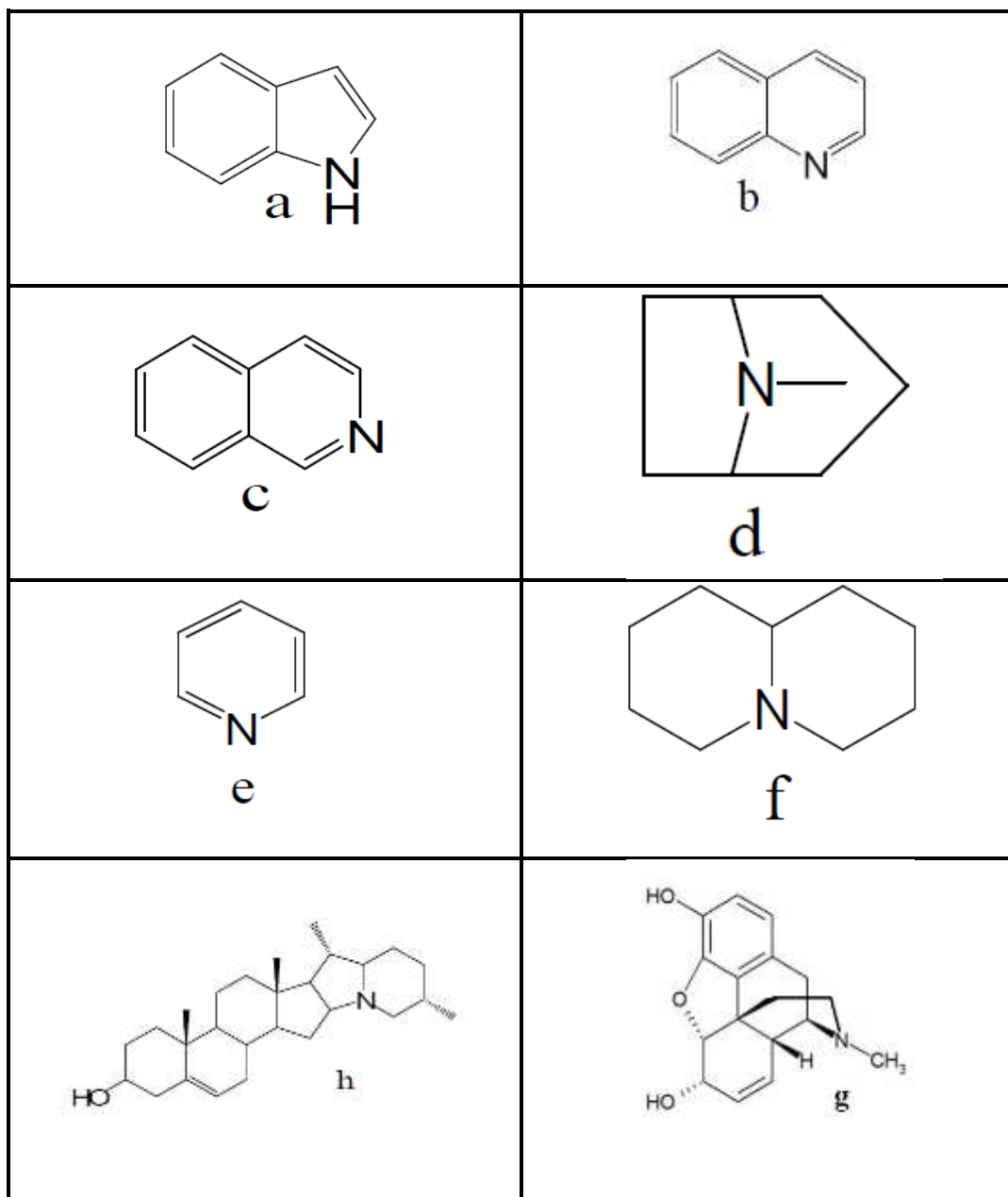


Figure 12 : Les principaux cycles azotés des alcaloïdes (GONZALEZ *et al.*, 1984). Indole (a), Quinoline (b), Isoquinoline (c), Tropane (d), Pyridine (e), quinolizidine (f), la morphine (g) et solanidine (h) (stéroïde)

3.2.5. Propriétés physicochimiques et pharmacologiques

Si dans les plantes, les alcaloïdes en tant que composés du métabolisme secondaire jouent un rôle écologique de défense contre des herbivores, chez l'homme ils trouvent cependant plusieurs applications pharmaceutiques (MCCALLEY, 2002 ; STÖCKIGT *et al.*, 2002):

- ❖ Les alcaloïdes présentent fréquemment de propriétés pharmacologiques marquées et ont de nombreuses utilisations en thérapeutique, notamment au niveau de système nerveux central, du système nerveux autonome et du système cardiovasculaire (GAZENDEL et ORECCHIONI, 2013).
- ❖ On notera aussi l'existence d'anti-tumoraux, d'anti-parasitaires, de curarisants, les alcaloïdes sont utilisées comme anti-cancer, sédatifs et pour leur effet sur les troubles nerveux (maladie de Parkinson) (ISERIN *et al.*, 2007).

Ces nombreuses activités conduisent à une utilisation importante des drogues à alcaloïdes, soit sous forme de préparation galéniques, soit le plus souvent, pour l'extraction des alcaloïdes qu'elles renferment, ces alcaloïdes étant utilisés eux mêmes ou servant de matière première d'hémi-synthèse (GAZENDEL et ORECCHIONI, 2013).

3.3. Terpénoïdes

3.3.1. Définition

Appelés aussi terpènes, constituent une vaste groupe de métabolites secondaires, sont des hydrocarbures naturels, de structure cyclique ou de chaîne ouverte (HELLAL, 2011). En effet les plantes synthétisent plus de vingt deux milles dérivés isopréniques qui possèdent des structures, des propriétés physiques et chimiques et activités biologiques très diverses (CONOLLY, 1992). Ils répondent dans la plupart de cas à la formule générale (C_5H_8) (SEENIVASAN., 2006) c'est-à-dire leur particularité structural la plus importante est la présence dans leur squelette d'unité isoprénique (Figure 13) à 5 atomes de carbone (HERNANDEZ-OCHOA, 2005).

Les précurseurs de tous les isoprénoïdes, le pyrophosphate d'isopentényle (IPP) et son isomère allylique pyrophosphate diméthylallyl (DMAPP), avec près de 40 milles structures moléculaires (YU et UTSUMI, 2009). Ils constituent une importante classe de produits secondaires, hydrophobes quelquefois volatils et unis par une origine commune (SEAMAN, 1982).

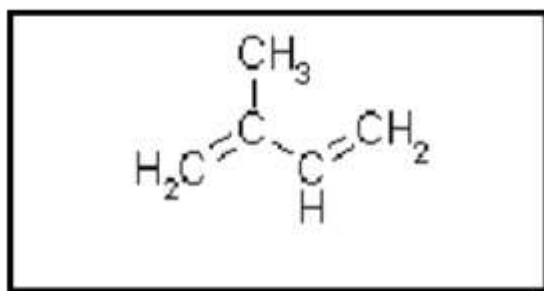


Figure13: Structure de la molécule d'isoprène (CALSAMIGLIA *et al.*, 2007).

3.3.2. Biosynthèse

Les terpénoïdes sont des métabolites secondaires synthétisés par les plantes, les organismes marins, les champignons et même les animaux, ils résultent de l'enchaînement de plusieurs unités isopréniques (BHATS *et al.*, 2005). L'isopentéyl- diphosphate (IPP) et le diméthylallyldiphosphate (DMAPP), équivalents biologiques de l'isoprène, sont les précurseurs communs de tous les isoprénoides et peuvent s'isomériser grâce à une enzyme l'IPP isomérase (SPURGEON et PORTER, 1981), chez les plantes supérieures, les isoprénoides sont synthétisés par deux voies biochimiques indépendantes, voie de mévalonate et la voie desoxyxylulose-5- phosphate (SHARKEY, 1991).

3.3.2.1. Voie de mévalonate

Se fait dans le cytosol et le reticulum endoplasmique, la plus anciennement connue, utilise l'acétyl-CoA comme point de départ, tout comme la biosynthèse des acides gras (SHARKEY, 1991).

3.3.2.2. Voie desoxyxylulose-5- phosphate

La voie de desoxyxylulose-5- phosphate (DXP) qui fut découverte chez les organismes procaryotes, puis généralisée selon les dernières recherches aux chloroplastes des plantes supérieures donne naissance aux précurseurs d'isoprènes, monoterpènes, diterpènes et tétraterpènes et ce à partir des produits issus directement de la photosynthèse; la pyruvate et glycéraldéhyde 3-phosphate (LICHTENTHALER, 1999).

3.3.3. Classification

Selon le nombre d'unités isopréniques qui les constituent, on distingue : les terpènes ou monoterpènes en C₁₀, les sesquiterpènes en C₁₅, les diterpènes en C₂₀, les triterpènes C₃₀, et les tétraterpènes C₄₀ (GUIGNARD, 1996).

3.3.3.1. Monoterpènes

Sont volatils entrainables à la vapeur d'eau, d'odeur souvent agréable et représentent la majorité des constituants des huiles essentielles, parfois plus de 90%; ils peuvent être acycliques (Mycènes, ocymène), monocycliques (terpinène, p-cimène) ou bicycliques (pinène, sabinène) (BRUNETON, 1999).

Ils existent sous la forme d'hydrocarbures simples (limonène, Mycènes ...), d'aldéhydes (linalal, géraniol...), d'alcools (linalol, geraniol...) et d'acides (acide linalique gérannique ..) voire d'esters (acétate de linalyle), ce sont des composés aromatiques qui constituent les essences florales, les huiles essentielles et les résines (SINGH *et al.*, 1989).

3.3.3.2. Sesquiterpènes

Les sesquiterpènes sont des molécules à 15 atomes de carbone constituées de trois unités isopréniques et dérivant du Farnésyl diphosphate (FPP) (WINK, 2003); il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes, elle contient plus de 3000 molécules comme par exemple: β -caryophyllène, β -bisabolène, α -humulène, α -bisabolol, farnesol.

3.3.3.3. Diterpènes

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).

3.3.3.4. Triterpénoïdes et stéroïdes

Les triterpènes sont des composés en C_{30} issus de la cyclisation de l'époxyqualène ou du scalène (KRIEF., 2003). Les stéroïdes sont dérivés de triterpènes tétracycliques et possèdent un squelette cyclopentaperhydro phénanthrène. Beaucoup de stérols se produisent sous forme de glycosides caractérisés par les saponines stéroïdiens (HANSON, 2003).

3.3.3.4.1. Saponines (Groupes de stéroïdes)

Le mot saponine est dérivé du mot latin *sapo*. Les saponines ont reçu leur nom du fait qu'elles produisent une mousse semblable à celle du savon (HART *et al.*, 2008), Ils sont des glycosides à poids moléculaire élevé, regroupant un ensemble complexe et chimiquement très diversifié de molécules triterpéniques ou stéroïdes. Elles se composent d'une fraction aglycone hydrophobe (un noyau stéroïdique ou triterpénique) liée à une chaîne mono ou polysaccharidique hydrophile (WALLACE, 2004).

3.3.3.5. Tétraterpènes (comme Caroténoïdes)

3.3.3.5.1. Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments rouges ou jaunes (HANSON, 2003), possédant un chromophore caractéristique (au moins 10 doubles liaisons conjuguées) expliquant leur couleur jaune-orangée et leur sensibilité à l'oxydation. Pour cela, les caroténoïdes sont employés en industrie agro-alimentaire principalement pour leur pouvoir colorant (safran : *Crocus sativus* L.) mais on peut aussi noter qu'ils sont préconisés en cas de photo dermatose puisqu'ils interfèrent avec les processus de photo-oxydation (KRIEF, 2003).

PRESENTATION DE LA PLANTE ETUDIEE

Chapitre II : Présentation de la plante étudiée (*Cleome arabica* L. Famille: Capparidaceae)

1. Famille capparidaceae

1.1. Définition

Capparidaceae (ou Capparaceae) est une famille d'environ 40 à 45 genres et 700 à 900 espèces. Dont les membres présentent une diversité considérable dans l'habitude, les fruits, et les caractéristiques florales (HEYWOOD, 1993). Nommées "crucifères des pays chauds" (KERHARO, 1974).

1.2. Description

Capparidaceae sont généralement des herbes, arbustes ou lianes; les fruits sont des capsules, des baies ou des siliques, ce sont des plantes généralement sempervirentes, souvent sclérophylles (OUETIAN, 1994); feuilles alternes; calice à 4 sépales; pétales et étamines en nombre variable (QUEZEL et SANTA, 1962). Souvent les étamines sont portées à l'extrémité d'un sigment allongé de l'axe de la fleur qui porte le nom d'androphore, tandis que fréquemment aussi le pistil est lui-même porté sur un long pied appelé gynophore (OZENDA, 1977). Gynécée de 2-6 carpelles réunis pour former un ovaire supère, 1-3-loculaire qui est couramment sur un gynophore; pariétal placentation; stigmatisation sessiles et simples; les graines réniformes fréquemment (SHORT et COWIE, 2011).

1.3. Répartition

Principalement une famille de régions tropicales et subtropicales avec seulement quelques espèces dans les régions arides (MABBERLEY, 2008). Elle est peu représentée dans le nord et le centre du Sahara (4 genres et 4 espèces seulement), mais son importance s'accroît rapidement en approchant de l'Afrique noire, et elle compte déjà une vingtaine de représentants dans le Sahara méridional (OZENDA, 1977).

Il est donc très possible que certains de ces derniers remontent en réalité plus au nord et soient susceptibles d'être observés dans les limites adoptées. Aussi ce cadre géographique a-t-il été élargi dans le cas particulier des capparidacées: le clé des genres *capparis*, *cadabaforsk*, *gyndaudropsids*, *cleome*, *maerua*, *bosciam*, *crataeua* se rapporte à l'ensemble du sahara. soulignons toutefois que seuls les genres *capparis*, *cleom* et *maerua* sont présents dans la partie septentrionale (OZENDA, 1977).

1.4. Sous-familles de Capparedaceae

Les deux principaux sous-familles de Capparidaceae sont: Cleomoideae et Capparoideae, sont tout à fait distincts et ont même été élevé au statut familial par certains auteurs (AIRY SHAW, 1965).

- **Capparoideae**

Sont généralement ligneuses (arbustes à petits arbres) et avoir des fruits déhiscent ou indéhiscents, qui sont charnues (PAX et HOFFMANN, 1936).

- **Cleomoideae**

Sont généralement herbacées et avoir des fruits déhiscent avec Rempl, dans les deux sous-familles le genre de type est de loin le plus grand et abrite la majorité des espèces: *Cleome* (environ 200 espèces) et *Capparis* (150-200 espèces) (PAX et HOFFMANN, 1936).

1.4.1. *Cleome* L

Le genre *Cleome* L est le plus grand genre de Cleomoideae comprenant 180 à 200 espèces herbacées annuelles ou vivaces et arbustes largement distribués dans les régions tropicales et subtropicales (RAGHAVAN., 1993). La fleur Calice à 4 sépales. 4 pétales. 6 étamines, 4 ovaires à 01 loge, portés par un pied court ou nul, fruit est capsule stipitée, siliquiforme, à 2 Valves se séparant des placentas (QUEZEL et SANTA, 1962).

2. *Cleome arabica* L

2.1. Position systématique

ABBAYES *et al* (1963); MAIRE (1965); OZENDA (1991); CHWEYA *et* MENZAVA (1997); JUDD *et al* (2002) classent l'espèce *Cleome arabica* selon (Tableau 02) :

Tableau 02: Classification de *Cleome arabica* L

Embranchment	Spermaphytes
Sous- Embranchment	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Dillenidae
Ordre	Capparales
Sous- ordre	Capparidineae
Famille	Capparidaceae
Tribu	Cleomoideae
Genre	<i>Cleome</i>
Espèce	<i>Cleome arabica</i> L.

2.2. Répartition géographique

Cleome arabica, fréquent dans les savanes désertiques et les tamaricaies de l'étage tropical, monte dans l'étage méditerranéen en inférieure sur les pentes pierreuses et dans les ravins sablonneux jusque vers 2300 m d'altitude (MAIRE, 1933). C'est une espèce commune dans tout le Sahara septentrional, en Egypte et en Afrique tropicale (KEMASSI, 2012). Selon Ozanda (1991) dans la région saharienne, *C. arabica* se trouve sur des rocaillies, du sable et des graviers (Figure 14).



Figure14: *Cleome arabica* L. au stade fructification au Sahara septentrional (Oued Metlili: Région de Ghardaïa (Avril 2012) (HADJ AMAR, 2012).

2.3. Description botanique

Plante vivace (figure15) de 30 cm de hauteur, à tiges dressées et ramifiées, feuilles petites poilues, trifoliées à folioles lancéolées, les fleurs ont des pétales dont la couleur va du jaune au pourpre-foncé, le fruit est une gousse velue de 2 à 5 cm de longueur située à la base du pétiole (GUBB, 1913; OZANDA, 1991).

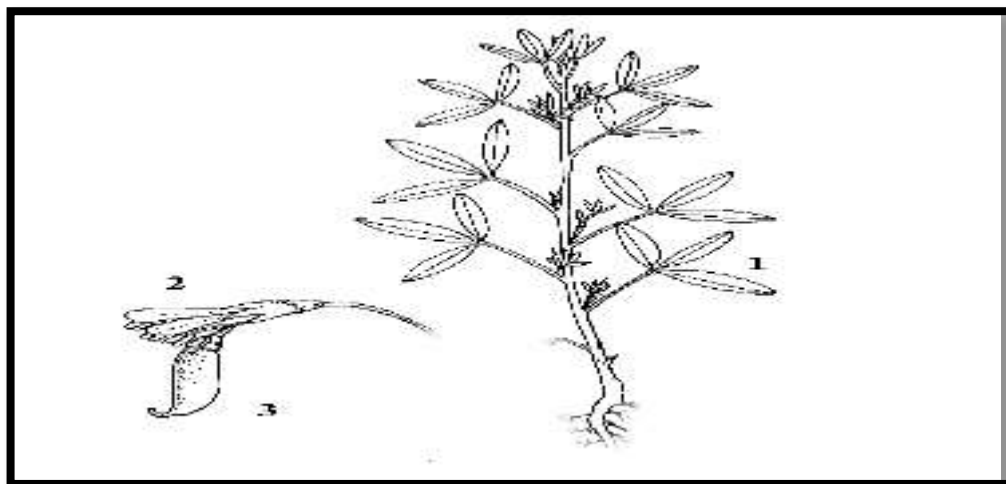


Figure15: *Cleome arabica* L (2007 ، حليس). **1:** Les Feuillettes se composent de 3 dépliantes ovales, papiers florales. **2:** Fleur se compose de n épis avec bords violet, 4 pétales blancs avec un haut violet, 4 leonis à motoc violet. **3:** Fruit cornée vert contient des grains d'ours noir
comporte poils denses

C'est une plante à odeur fétide, toxique et présente des effets hallucinogènes. Les glandes stipées secrètent une substance visqueuse (GUBB, 1913).

2.4. Intérêts socioéconomiques

Selon MAIRE (1933), les chameaux, les chèvres et moutons refusent cette plante et n'en mangent que très peu, les indigènes l'utilisent comme diurétique et contre les rhumatismes. Elle est utilisée en médecine traditionnelle par les nomades du Sahara comme analgésique des douleurs névralgiques (SHARAF *et al.*, 1992).

DEUXIEME PARTIE
PARTIE PRATIQUE

MATERIELS
ET
METHODES

Chapitre I: Matériels et Méthodes

1. Matériels

1.1. Matériel végétal

Nous avons ramassé les parties aériennes de *Cleome arabica* L, de la région d'Oued souf à l'Est-sud Algérienne. Pendant la fin de la période de floraison et début de la période de fructification.

1.2. Matériels de laboratoire

- Spectrophotométrie;
- Bain ultrasonique;
- Etuve;
- Rotavapeur de type Buchi R-200;
- Balance de précision;
- Agitateur;
- Mortier;
- Autoclave;
- Plaque chauffante;
- Micropipette;
- Papier Filtre;
- Bec Benzène;
- Ans de platine;
- Ecouvillon stérile;
- Tube à essai;
- Pince stérilisée;
- Disques vide stériles;
- Réfrigérateur;
- Boîtes de pétrie;
- Entonnoire.

1.3. Réactifs chimiques et solvants

Dans cette étude nous avons utilisé: Méthanol comme solvant et les réactifs chimiques: AlCl_3 ; Folin ciocolteu; Na_2Co_3 ; 2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl (DPPH); Acide

ascorbique; acide gallique; quersitine; diméthyle sulfoxyde (DMSO); l'eau physiologique; eau distillée.

1.4. Souches bactériennes testées

Les souches bactériennes utilisées dans cette recherche pour l'activité antibactérienne sont des souches référencées une gram⁺ c'est: (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923) et une souche gram⁻ (*Escherichia coli* ATCC 25922) (Figure 16). ces souches obtenues du Institut de Pasteur en Algerie, et sont conservées dans le réfrigérateur dans des tubes à visser contenant milieu nutritive jusqu'à l'utilisation.

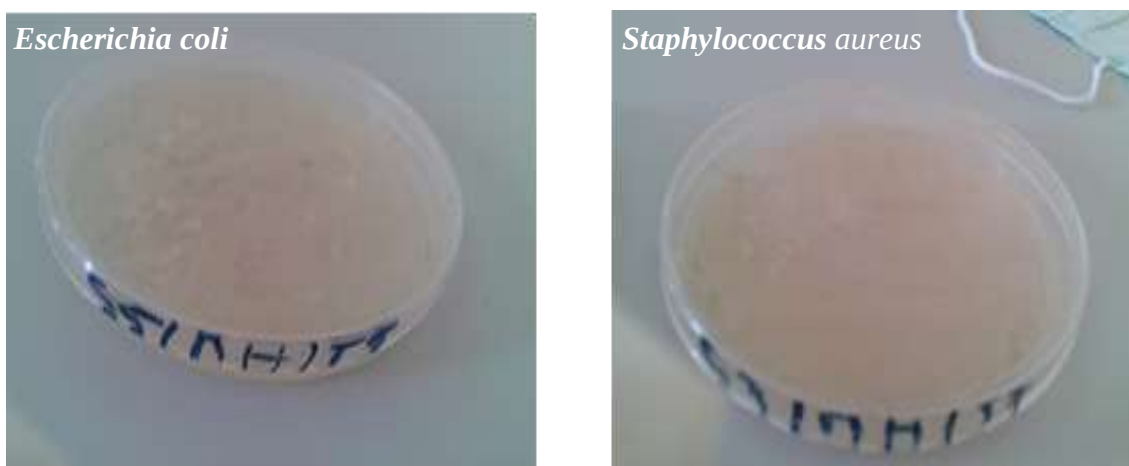


Figure 16: Les deux souches bactériennes utilisées

1.5. Antibiotique

Pour valoriser l'activité antibactérienne on utilise l'antibiotique Amoxyclav (30 µg/disque) (Figure 17) pour faire la controle positive.



Figure 17: Amoxyclav 30 µg/disque.

1.6. Milieu de culture

On utilise gélose nutritive Mueller Hinton (Figure 18) pour l'étude de la sensibilité des souches bactériennes aux différents concentrations d'extraits méthanoliques.



Figure 18: Milieu de culture (gélose Mueller Hinton).

2. Méthodes

2.1. Récolte de la plante

La plante a été récoltée durant la période de floraison au mois de novembre 2014 à la commune de Hassani Abd El Kerim de la région d'Oued Souf (Algérie). Le séchage de cette plante a été effectué dans un endroit sec et à l'abri des rayons solaires presque de 20 jours en moyenne (voire l'annexe 01), puis le broyage, la conservation de la plante séchée dans une bouteille de verre dans le réfrigérateur.

2.2. Screening chimique

Cette étude permet de mettre en évidence la présence de quelques groupes chimiques (les alcaloïdes, flavonoïdes....etc) dans notre plante. Le matériel végétal pulvérisé est épuisé successivement par macération dans des solvants de polarité croissante (chloroforme, méthanol, eau). Les tests phytochimiques pour les tanins, les alcaloïdes, les anthocyanes, les flavonoïdes, les saponosides, les stérols ont été réalisés par différents méthodes.

2.2.1. Flavonoïdes, Composés réducteurs et les Tanins

Dans un bécher, on ajoute 30 ml d'éthanol avec 5 g du matériel végétal, et reflux 01 heure puis filtré l'extrait (Solution extractive alcoolique).

2.2.1.1. Flavonoïdes

Dans un tube à essai on ajoute à 5 ml de solution, puis on ajoute 1 ml HCl et 0.5 g de Mg (lire pendant 3 min). L'apparition d'une coloration rose ou rouge indique la présence d'un flavonoïde (DEBRAY *et al.*, 1971).

2.2.1.2. Composés réducteurs

1 ml de solution avec 2 ml H₂O et ajoute 20 gouttes de réactif de Fehling puis chauffé. Formation le précipité rouge-brique signifie la présence des Composés réducteurs (TREASE et EVANS, 1987).

2.2.1.3. Tanins (Cathéchique ou Gallique)

On mettre 1 ml de solution avec 2 ml H₂O et ajoute 2 à 3 gouttes de FeCl₃ 1%. En présence de tanins, il se développe une coloration bleu-vert (tanins Cathéchique) ou bleu-noire (tanins Gallique) (TREASE et EVANS, 1987).

2.2.2. Saponosides

Dans un bécher, on ajoute 100 ml d'eau distillée à une quantité de 2 g de matériel végétal sec, puis la solution est portée à ébullition pendant 30 min. Après refroidissement, on filtre la solution par papier filtre, et on ajuste le filtrat à 100 ml avec l'eau distillée. Une série (plante 10 tubes à essai) de dilutions (10% - 100%) de bouilli de la et préparés. Une agitation violente et horizontale a été faite pendant 15 secondes pour chaque tube. Après 20 mn de repos nous avons testés le tube dans lequel hauteur de mousse est plus proche de 1 cm. La présence des saponines est indiquée par un indice de mousse supérieur à 100 (RIZK, 1982). Ce dernier est calculé selon la formule suivante :

$$I = \text{Hauteur de la mousse (en cm) dans le } x \text{ tube} \times 5 / 0,0x.$$

Où:

I: Indice de mousse.

Hauteur de mousse dans le x tube: Hauteur de mousse dans le tube plus proche de 1cm.

x: Numéro de tube dans lequel la mousse plus proche de 1 cm (BEN KHERARA, 2010).

2.2.3. Stérols et triterpènes

Macéré 5 g de poudre végétal dans 20 ml d'éther pendant 24h, après la filtration on évaporé le filtrat, puis on ajoute 0.5 ml d'Anhydride acétique et 0.5 ml de Chloroforme avec

un peu d'acide sulfurique; On observe une anneau rouge-brunâtre , alors qu'en présence de stérols et triterpènes (TREASE et EVANS., 1987).

2.2.4. Anthocyanes

Infusion de 5 g de poudre végétal dans 100 ml d'eau bouillant (15 min) , après la filtration on mètre 2 ml d'infusé et on ajoute 2 ml HCl (2N) avec quelques gouttes d'ammoniac; Si la coloration s'accroît par acidification puis vire au bleu violacé en milieu basique, conclure à la présence d'anthocyanes (DEBRAY *et al.*, 1971).

2.2.5. Alcaloïdes

Dans un bicher macéré 5 g de poudre végétal dans 25 ml de H₂SO₄ (10%) 24h .Après la filtration on ajoutons à 1 ml de macéré quelque gouttes de réactif de Wagner; L'apparition de précipité brun traduit la présence des alcaloïdes (KANOUN, 2011).

2.3. Méthodes d'extractions

L'extraction veut dire la séparation des parties actives de tissus végétaux ou animaux des composants inactifs ou inertes à l'aide de solvants sélectifs, traditionnellement l'eau, les huiles végétales ou les graisses animales. Les produits ainsi obtenus sont relativement impures sous forme de liquides, semi-solides ou poudres exclusivement destinés à un usage oral ou externe. Il s'agit de préparations connues comme les tisanes et les huiles médicinales (HANDA, 2008).

Dans notre étude, l'extraction est effectuée par l'utilisation un solvant organique à polarité Méthanol (MeOH) par deux méthodes d'extraction ont été requises pour l'extraction des principes actifs à partir de plante de *Cleome arabica* L.

2.3.1. Extraction assiste par macération (EAM)

2.3.1.1. Principe

La macération est la méthode d'extraction solide-liquide la plus simple. Elle consiste en la mise en contact du matériel végétal avec le solvant sans ou avec agitation, L'opération bien que généralement longue et a rendement souvent médiocre, est utilisée dans le cas d'extraction de molécules thermosensibles (LEYBROS et FREMEAUX, 1990).

2.3.1.2.Mode d'opération

La macération consiste à émerger 20g de poudre de *Cleome arabica* L dans 200 ml de méthanol pendant 24 heure à température ambiante, Ensuite la filtration est réalisée sur papier filtre et le solvant a été récupéré du filtrat par évaporation dans un rotavapor type Buchi R-

200, à une température de 55°C (Annexe 02). L'extrait obtenu a été conservé au 4°C jusqu'à l'utilisation (REBAYA *et al.* , 2015) (Figure 19).

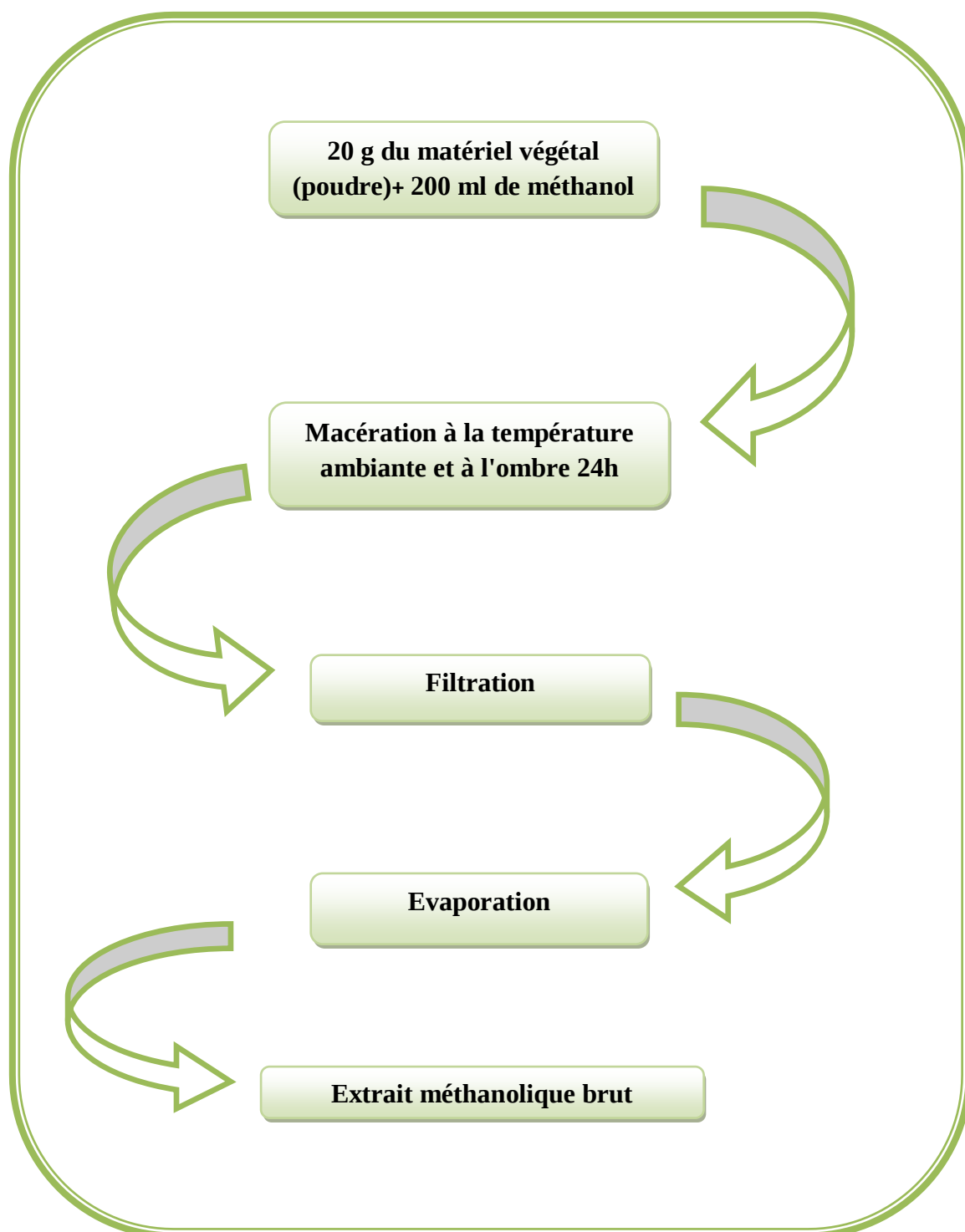


Figure 19 : Protocole de préparation d'extrait méthanolique par macération.

2.3.2. Extraction assisté par ultrasons (EAU)

L'UAE est une technique peu onéreuse, utilisable avec n'importe quel type de solvant et simple à mettre en place. En effet, l'extraction peut être réalisée de manière très simple en utilisant un bain à ultra-sons, ce qui par-ailleurs permet d'effectuer plusieurs extractions simultanément ou via une sonde ultrasonore combinée à un agitateur (VINATORU *et al.*, 1997).

2.3.2.1. Principe

Les ultrasons sont des ondes sonores qui génèrent des vibrations mécaniques dans un solide, un liquide ou un gaz. Elles sont principalement caractérisées par leur fréquence (15 kHz-500 MHz) (SANTOS *et al.*, 2009). À la différence des ondes électromagnétiques, les ondes sonores peuvent se propager dans une matière (BENAMOR, 2008). Dans un milieu liquide, la propagation des ondes va générer des cycles successifs de compression (haute pression) et de raréfaction (basse pression) (WANG et WELLER, 2006). Les séries de ces cycles de compressions et de raréfactions créent une pression acoustique. Au cours du cycle de basse pression, les ondes ultrasonores créent des petites bulles de cavitation dans le liquide (SUSLICK, 1998). Ces bulles vont croître pendant les phases de raréfaction et diminuer pendant les phases de compression (Figure 20). La répétition de ces cycles va conduire à l'implosion des bulles de cavitation, libérant ainsi une grande quantité d'énergie (PETRIER *et al.*, 2008).

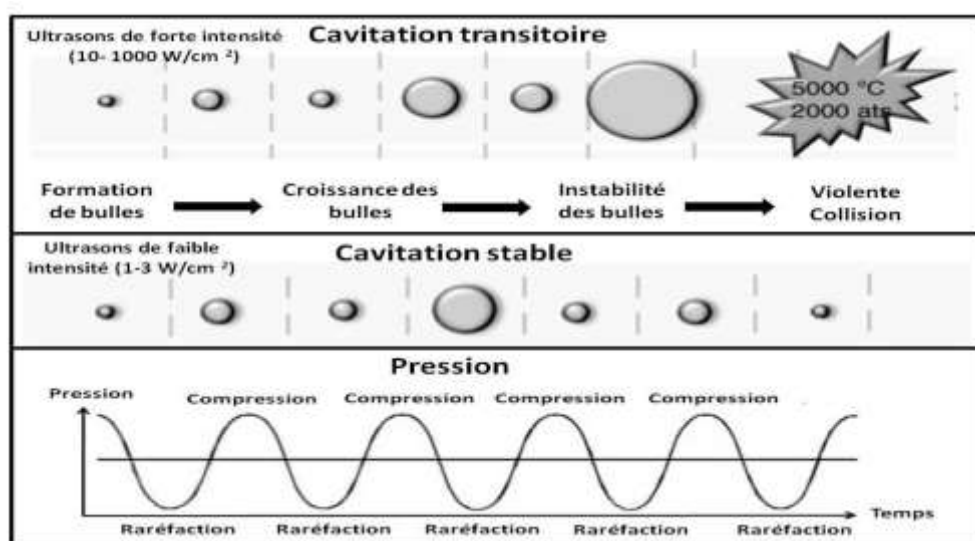


Figure 20: Phénomène de cavitation acoustique (SANTOS *et al.*, 2009).

Lorsque les bulles de cavitation sont formées à proximité d'une surface solide elles deviennent asymétriques, et l'implosion qui en résulte produit des jets de liquide projetés à très grande vitesse vers la surface du solide, ainsi qu'une augmentation locale de la température et de la pression. Dans le cas d'une matrice végétale, ces jets de liquides vont percer les parois végétales et permettre ainsi la libération des molécules dans le milieu liquide (WANG et WELLER, 2006).

2.3.2.2. Mode d'opération

On met 20g de poudre végétale avec 200 ml de méthanol puis on le met dans bain ultrasonique (Annexe) pendant 30 min. Après la filtration on met notre extrait dans un rotavapeur de type Buchi R-200, à une température de 55°C, afin d'obtenir l'extrait brut (KHOSRAVI *et al.*, 2013) (Figure 21).

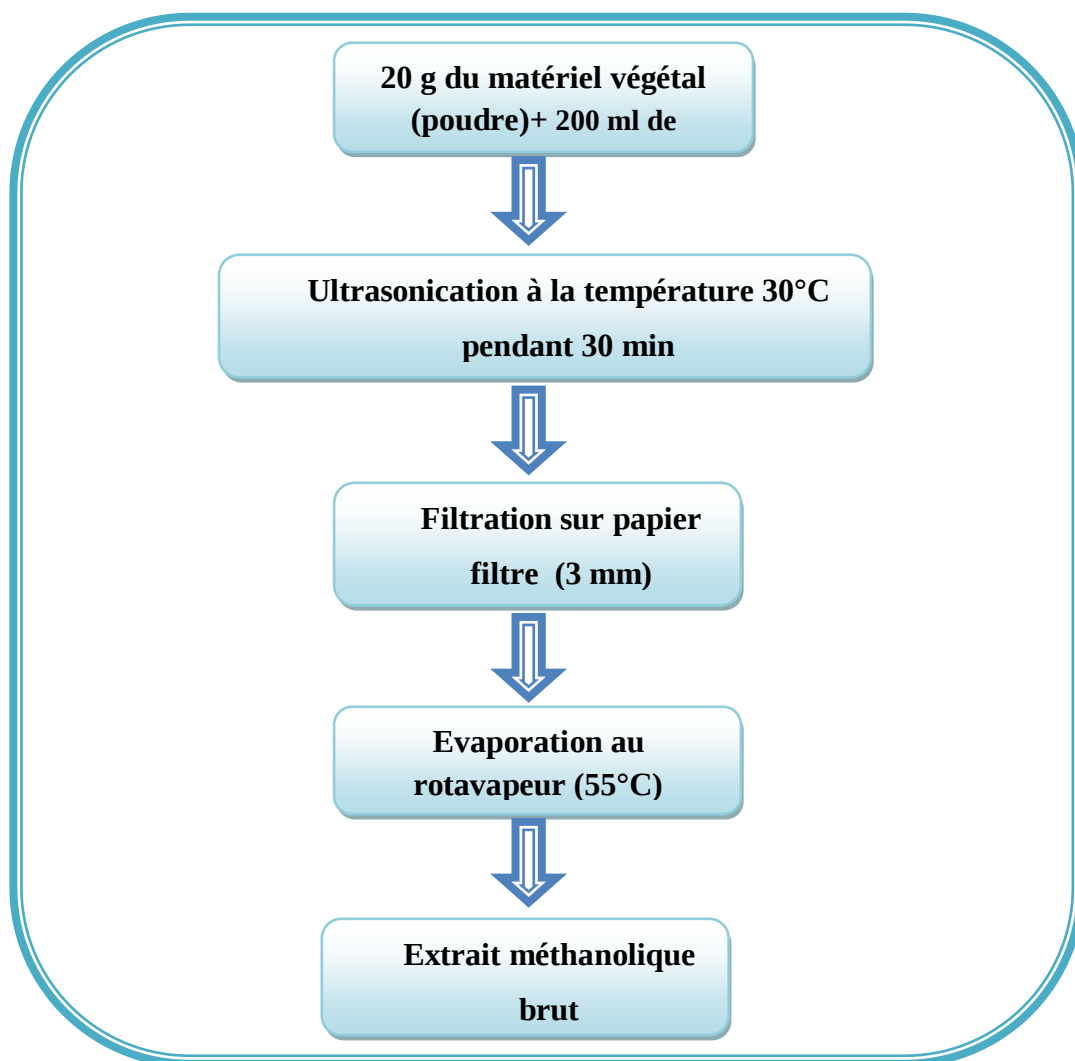


Figure 21: Protocole de préparation de l'extrait méthanolique par Ultrasons.

2.4. Détermination de rendement

Le rendement des extraits a été calculé par la formule suivante:

$$R (\%) = 100 \text{ Mext/Méch.}$$

Où :

R: est le rendement en %;

Mext: est la masse de l'extrait après évaporation du solvant en g;

Méch: est la masse sèche la plante en g (FALLEH *et al.*, 2008).

2.5. Analyse quantitative des composées phénoliques

2.5.1. Dosage de polyphénols totaux

Les polyphénols ont été déterminés par spectrophotométrie selon la méthode de Folin-Ciocalteu (SINGLETON *et al.*, 1999); Ce réactif de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif Folin-Ciocalteu en un complexe ayant une couleur bleu constitué d'oxyde de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés (BOIZOT *et al.*, 2006).

Dans un tube à essai on preleve : 0,2 ml de l'extrait méthanolique, 1 ml de réactif Folin- Ciocalteu; 0,8 ml du solution de carbonates de sodium (Na_2CO_3 : 7,5 %) et incubé à l'ombre, à température ambiante pendant 30 min. L'absorbance est mesurée à 760 nm. Une courbe d'étalonnage est préparée en utilisant l'acide gallique comme standard, les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g MS).

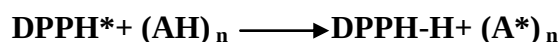
2.5.2. Dosage de Flavonoïdes

L'estimation quantitative des flavonoïdes contenus dans les extraits de *Cleome arabica* L, est réalisée suivant une méthode colorimétrique du trichlorure d'aluminium AlCl_3 (KOSALEC *et al.*, 2004) avec modification légère, on met 1 ml d'extrait (préparé dans le méthanol) et on ajoute à 1 ml d' AlCl_3 à 2%; puis le mélange est vigoureusement agité, l'ensemble est incubé à l'ombre à la température ambiante pendant 30 minutes, l'absorbance est lue à 430 nm. La quantification des flavonoïdes se fait en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisée par un flavonoïde standard: Quercétine. La teneur en flavonoïde est exprimée en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g MS).

2.6. Activités biologiques

2.6.1. Activités antioxydante (test DPPH)

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH). Ce dernier est réduit à la forme d'hydrazine (non radical) en acceptant un atome d'hydrogène (BRAND-WILLIAM *et al.*, 1995). On peut résumer la réaction sous la forme de l'équation:



L'activité antioxydante des différents extraits est mesurée par la méthode décrite par BRAND-WILLIAM *et al* (1995). Pour chaque extrait, Un volume de 1 ml de la solution de DPPH (0.1mM) est mélangé avec 0.5 ml d'extrait ou des antioxydants standards (acide ascorbique). Après 30 minute d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance est lue à 517 nm. Le pourcentage de l'activité anti-radicalaire est calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Activité antiradicalaire (\%)} = [(\text{Ac} - \text{At}) / \text{Ac}] \times 100$$

Ac: Absorbance du contrôle.

At: Absorbance d'extrait ou standard.

2.6.2. Activité antibactérienne

2.6.2.1. Détermination de DI (diamètre d'inhibition)

Evaluation l'activité antibactérienne de différents concentration (1mg/ml; 0.75mg/ml; 0.5mg/ml; 0.25mg/ml) de extraits méthanoliques selon la méthode de diffusion en milieu gélosé (antibiogramme) (TREKI *et al.*, 2009). Cette technique repose sur l'apparition d'un zone d'inhibition dans le milieu de culture deux souches bacterienne: *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. autour du disque contenant l'extrait de la plante (BSSAIBIS *et al.*, 2009).

2.6.2.1.1. Préparation des dilutions des extraits (concentration)

Différentes concentrations (1mg/ml; 0.75 mg/ml; 0.5mg/ml, 0.25mg/ml) d'extrait méthanolique de *Cleome arabica* L ont été préparé par DMSO (MEDDOUR *et al.*, 2013).

2.6.2.1.2. Préparation des disques

Les disques sont préparés à partir de papier d'wattman, avec une diamètre de 6 mm. Ensuite ils sont mis dans un tube à essai, et stérilisés à l'autoclave (Annexe 04) et conservers jusqu'à l'utilisation.

2.6.2.1.3. Préparation le milieu du culture

On met le stérilisation et la surfusion de milieu de culture (Muller Hinton) à l'aide d'autoclave pendant 15 min à 121°C, puis on le verser dans les boites de Petri à 4 mm de hauteur (figure 22) et on laisse quelques minutes jusqu'à la solidification (HARRAR, 2012).

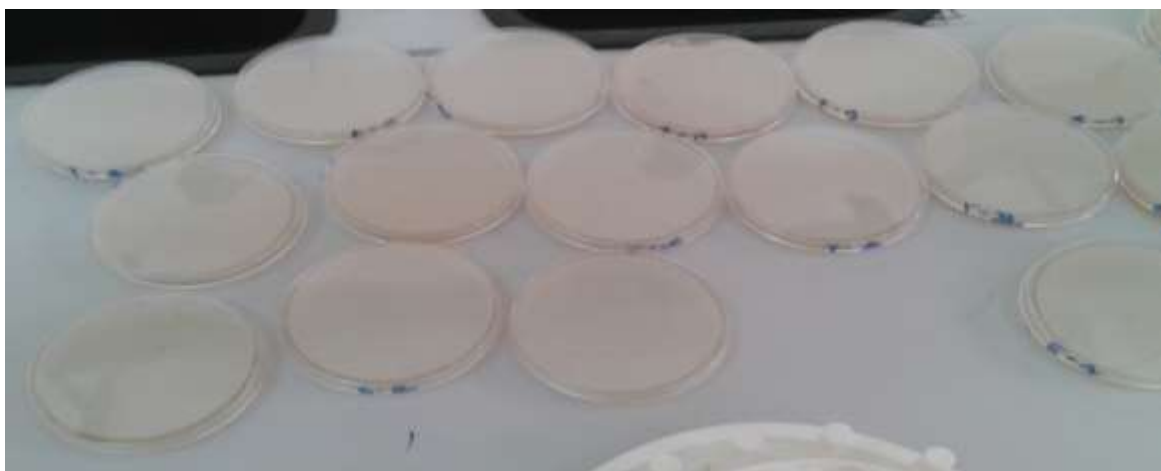


Figure 22: Boite de péttrie contenant gélose Muller Hinton.

2.6.2.1.4. Inoculum

- ❖ A partir d'une culture pure des bactéries à tester sur milieu d'isolement, racler Par une anse de platine, quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- ❖ Décharger l'anse dans 5 ml d'eau physiologique stérile à 0.9 %, bien homogénéiser la suspension bactérienne.
- ❖ L'ensemencement doit se faire en moins en quelques min après la préparation de l'inoculum (DJELLOUL DAOUADJI, 2010).

2.6.2.1.5. Ensemencement

- ❖ La culture se fait dans un milieu stérile en présence de bec benzen;
- ❖ Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne (il évite la contamination du manipulateur et de la paillasse);
- ❖ L'essorer en le pressant fermement, en tournant sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum;
- ❖ Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas;
- ❖ Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de Pétrie de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose;

- ❖ Les disques sont disposés sur la surface de la gélose à l'aide d'une pince stérilisée au bec bunsen (4 disques de l'extrait et 1 disque de antibiotique) (figure 23) (DJELLOUL DAOUADJI, 2010).
- ❖ Pour contrôle négatif on met une boîte de petri 6 disques (3 disques de DMSO; 3 disques vide) (MEDDOUR *et al.*, 2013).

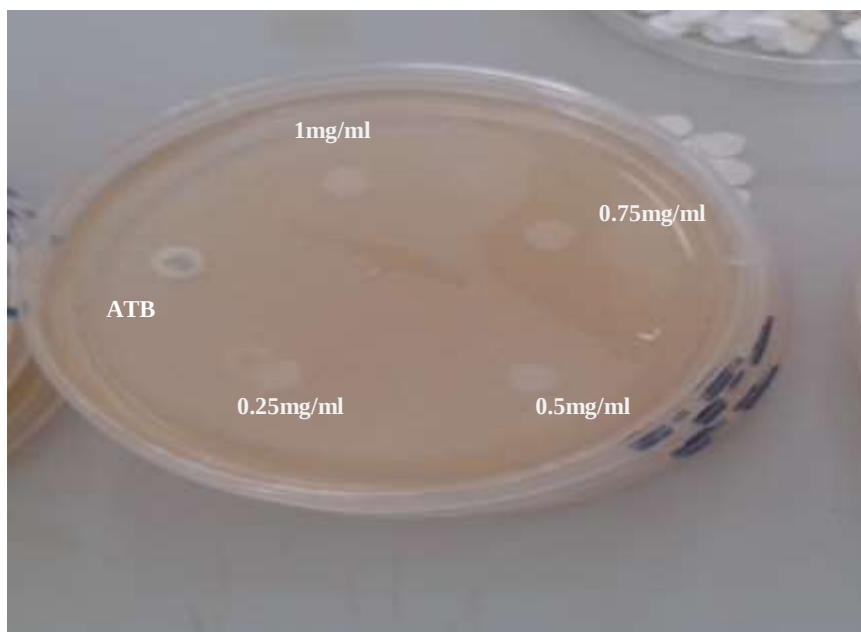


Figure 23: Disposition des disques (à différents concentrations) d'extrait et d'antibiotique dans la boîte.

2.6.2.1.6. Incubation et Lecture

Après incubation 18-24 heures à 37°C dans l'étuve, Les résultats sont observés, en mesurant les diamètres d'inhibition (BOUDJOUREF, 2011) (Annexe 07).

RESULTATS
ET
DISCUSSION

Chapitre II : Résultats et Discussion

1. Résultats

1.1. Secrining chimique

Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles de composés existantes dans la plante par les réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques.

Les résultats de ce criblage phytochimique sont reportés dans le Tableau 03, Il révèle la présence ou l'absence d'un groupe de métabolites secondaires.

Tableau 03 : Résultats des tests phytochimiques de *Cleome arabica* L.

- Négative; + Faiblement positif.

++ Positif; +++ fortement positif.

Métabolites Secondaires	Remarque	Résultats
Flavonoïdes	Apparition d'une couleur rouge	++
Composées réducteurs	La formation d'un précipité rouge-brique	+
Tanins cathéchique	Apparition d'une couleur bleu-verte	+
Tanins gallique	N'apparaître pas d'une couleur bleu-noire	-

Saponosides	Le tube n° 3 est plus proche de 1 cm, donc l'indice de mousse I= 150	+++
Stérols et Tritéropènes	Pas de formation d'anneau rouge-brunâtre ou violette	-
Anthocyanes	Pas de couleur rose ou rouge	-
Alcaloïdes	Apparition d'un précipité blanc	+++

1.1.1. Flavonoides, Composées réducteurs et Tanins

1.1.1.1. Flavonoides

On observe transformation la solution en couleur rouge (figure 24); Donc, on peut conclure la présence des flavonoïdes dans notre plante.



Figure 24: Détection chimique des flavonoïdes.

1.1.1.2. Composées réducteurs

Formation d'une précipitation rouge-brique (figure 25); Signifier que la plante étudiée (*Cleome arabica* L) contient des composées réducteurs.

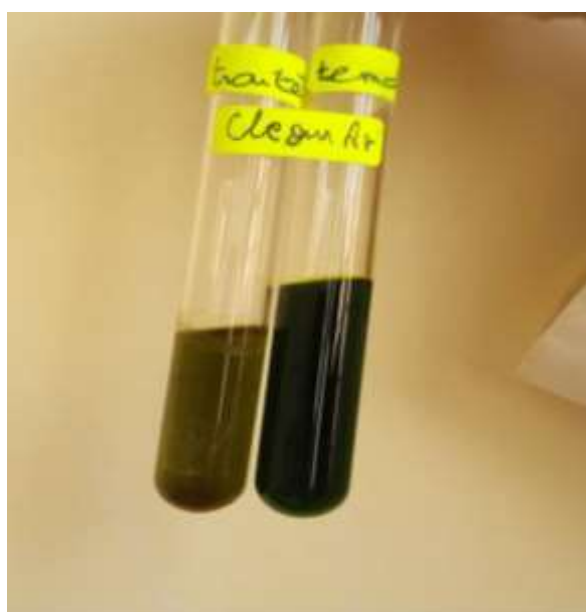


Figure 25: Détection chimique des composée réducteurs.

1.1.1.3. Tanins

On remarque la transformation de solution à une couleur bleu – verte (figure 26); Donc on a confirmé la présence de tanin cachectique dans notre plante.

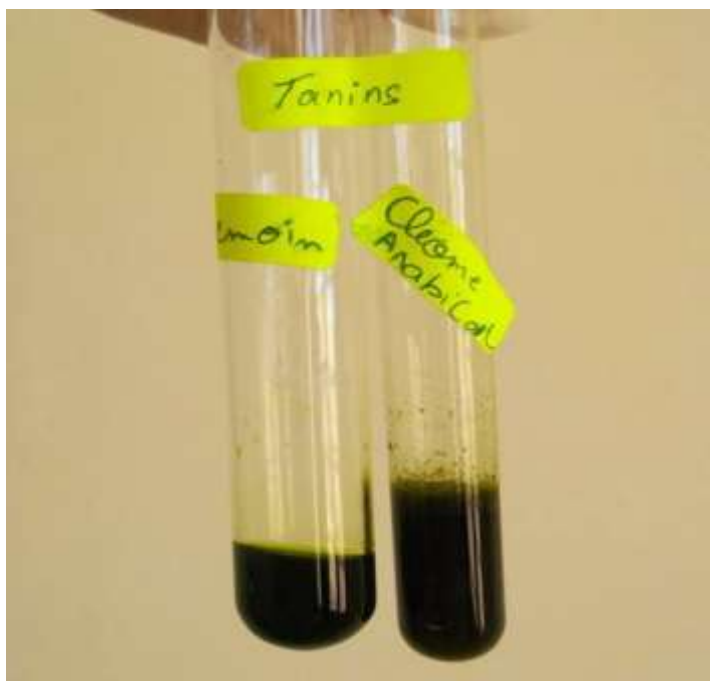


Figure 26: Détection chimique des tanins.

1.1.2. Saponosides

Apparition de mousse dans tous les tubes et la mousse plus proche de 1 cm présenté dans tube numéro 3 (figure 27); Donc déterminé l'indice de mousse à partir de la formule précédente avec cette tube $I = 150$. Cette résultat indique que notre plante riche en saponosides.



Figure 27: Détection chimique du saponosides et détection l'indice de mousse.

1.1.3. Stérols et Triterpènes

On observe l'absence de formation d'un anneau rouge-brunâtre ou violet (figure 28); Celle ci indique que l'extrait de *Cleome arabica* L ne contient pas de stérols et triterpènes.



Figure 28: Détection chimique des stérols et triterpènes.

1.1.4. Anthocyanes

Nous remarquons la coloration de solution par la couleur blanc et pas par la couleur rose ou rouge (figure 29); Donc notre plante ne contient pas des anthocyanes.



Figure 29: Détection chimique des anthocyanes.

1.1.5. Alcaloïdes

Apparition d'un précipité blanc en quantité importante dans la solution (figure 30); Ceci indique que la plante de *Cleome arabica* L est très riche en alcaloïdes (tableau 03).

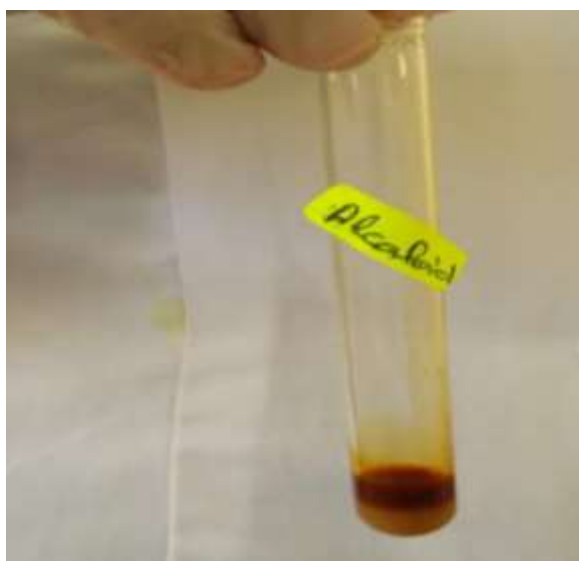


Figure 30: Détection chimique des alcaloïdes.

1.2. Rendement d'extraits alcooliques

Le rendement est calculé par rapport au poids de la matière sèche du *Cleome arabica* L, l'extrait par macération représente (EAM) 8.95%; Suivite par ultrasons (EAU) qui à donné un rendement de 9.60 % (figure 31).

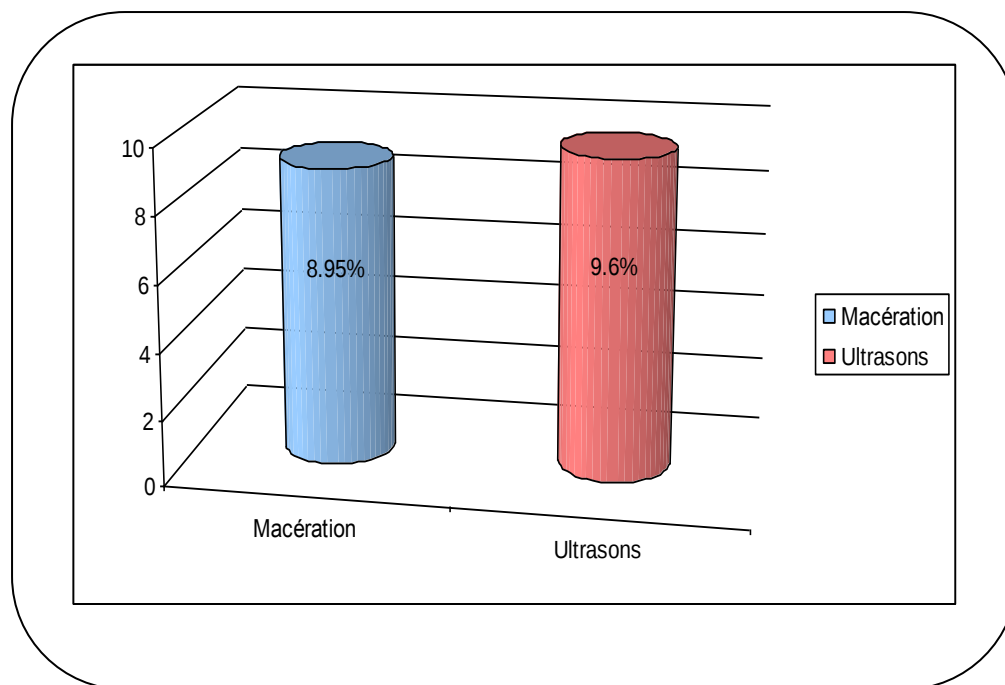


Figure 31: Rendement du deux extraits.

Le tableau (04) représente les caractères organoleptiques de nos extraits.

Tableau 04: Aspects, couleurs et rendements des extraits obtenues par Macération et Ultrasons.

Extrait	Aspect	Couleur	Rendement (%)
EAM	Pâte collante	Vert	8.95
EAU	Pâteux	Vert Foncé	9.60

1.3. Analyse quantitative de composés phénoliques

1.3.1. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux a été estimée par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu. C'est l'une des méthodes les plus anciennes conçue pour déterminer la teneur en polyphénols, des plantes médicinales et les nourritures.

L'acide gallique est le standard le plus souvent employé dans cette méthode. Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage (figure 32), ayant l'équation:

$$Y = 103.1x + 0.087$$

$$R^2 = 0.976$$

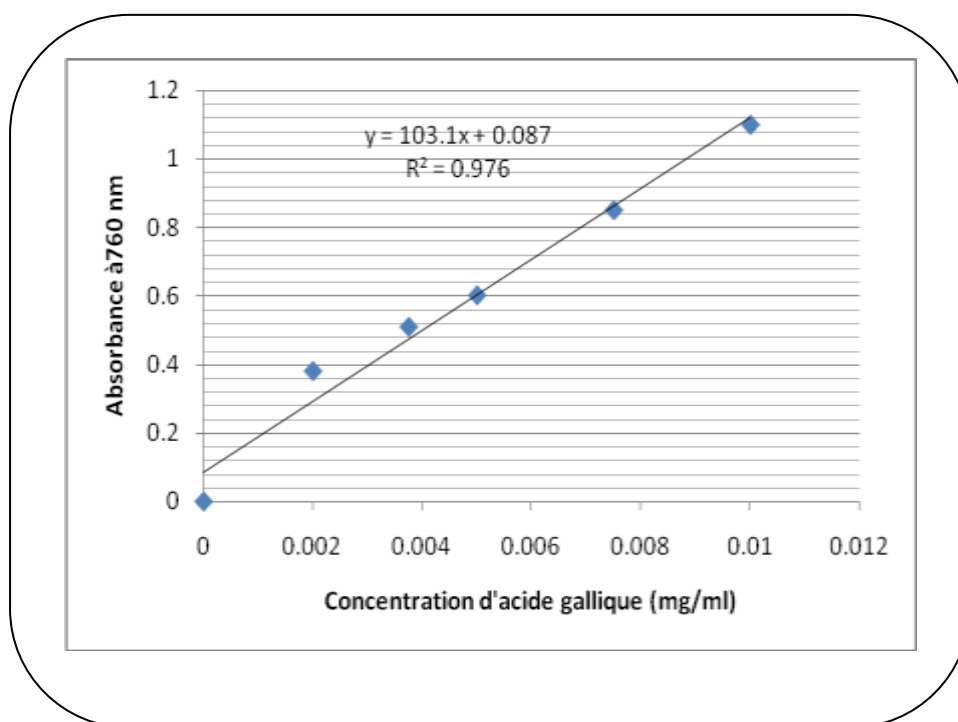


Figure 32: Courbe d'étalonnage d'acide gallique.

À partir de la courbe d'étalonnage, la concentration des polyphénols totaux des extraits méthanolique de *Cleome arabica* L par ultra-sons 13.46 mg EAG/g MS.; suivite par l'extrait de macération de 11.57 mg EAG/g MS (Figure 33).

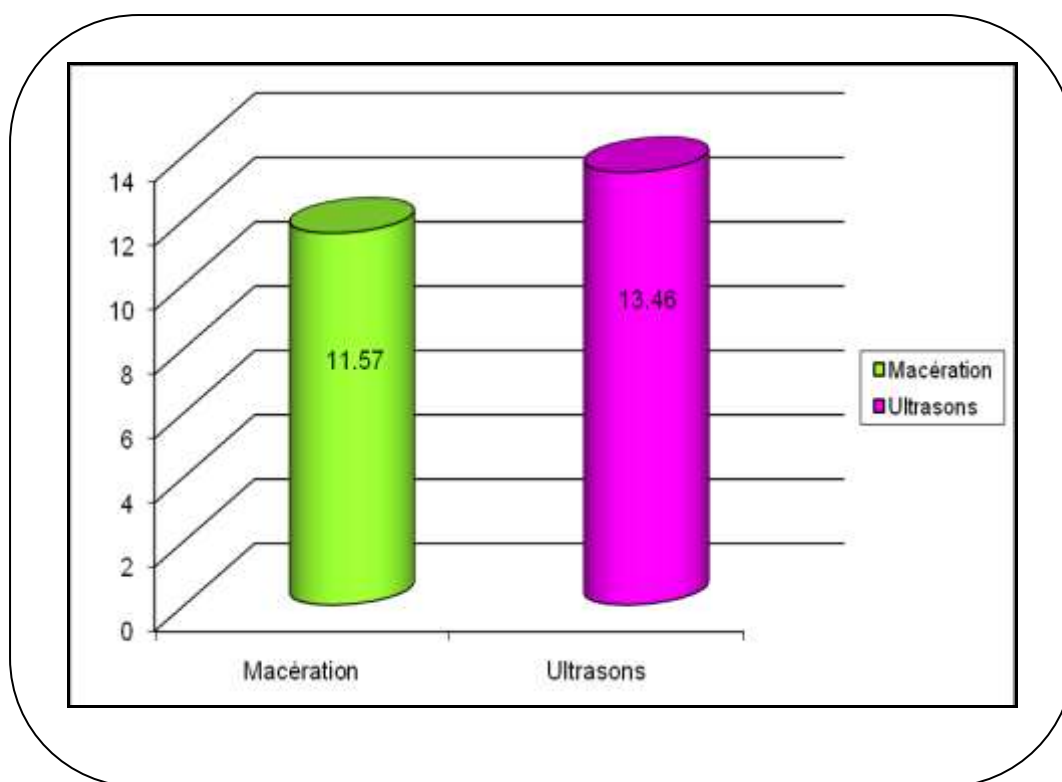


Figure 33: Evaluation des polyphénols totaux des deux Extraits de *Cleome arabica* L.

1.3.2. Dosage des Flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3), la Quercétine a été utilisé comme étalon. Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage (figure 34), ayant l'équation:

$$Y = 11.74x + 0.072$$

$$R^2 = 0.0975$$

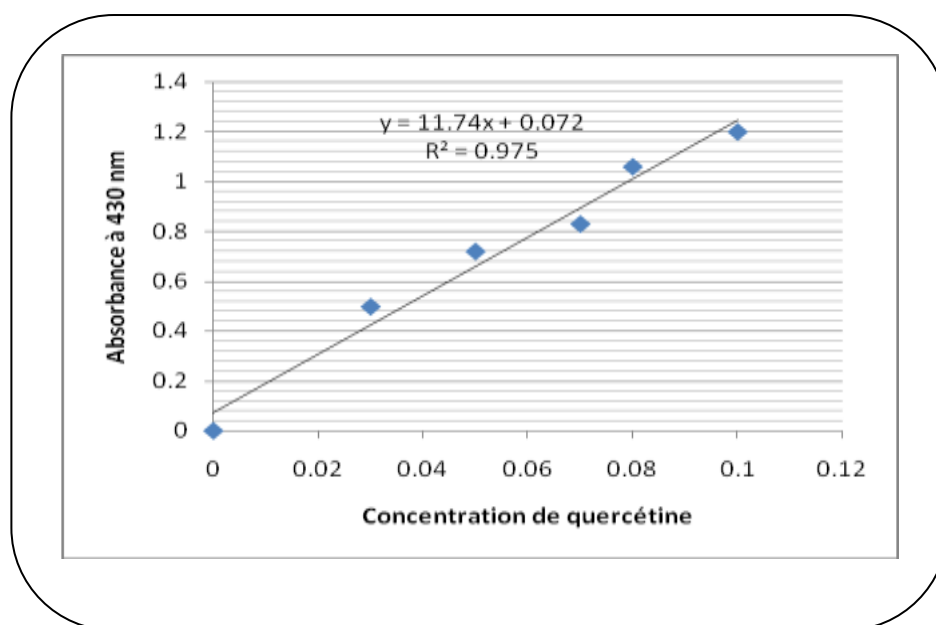


Figure 34: Courbe d'étalonnage de quercétine.

À partir de la courbe d'étalonnage, les résultats de la teneur en flavonoïde des EM et EU du partie aérienne du *Cleome arabica* L montrent que l'ultrasons est préférable pour extraire les flavonoïdes à savoir une moyenne de 6.19 mg éq Qu/g MS contre 5.48 mg éq Qu/g MS pour la macération (figure 35).

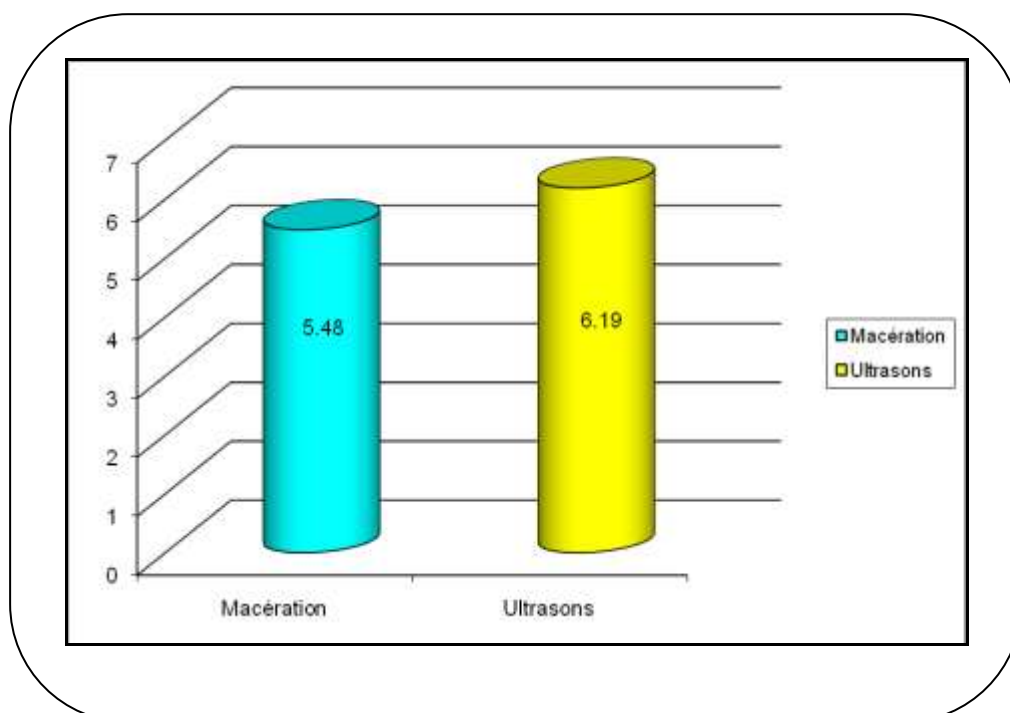


Figure 35: Teneur en Flavonoïdes des deux extraits méthanoliques.

1.4. Activités biologiques

1.4.1. Activité antioxydante

L'activité antioxydant de nos extraits a été évaluée par test DPPH ; le DPPH est un radical libre, stable, qui possède une bande d'absorbance à 517 nm, employé pour évaluer l'activité antioxydante des composés polyphénoliques. Dans ce test on utilise l'acide ascorbique comme standard, les résultats obtenus (pourcentage d'inhibitions I%) sont représentés dans la courbe d'étalonnage (figure 36), ayant l'équation:

$$Y = -0.006x + 0.607 \quad R^2 = 1$$

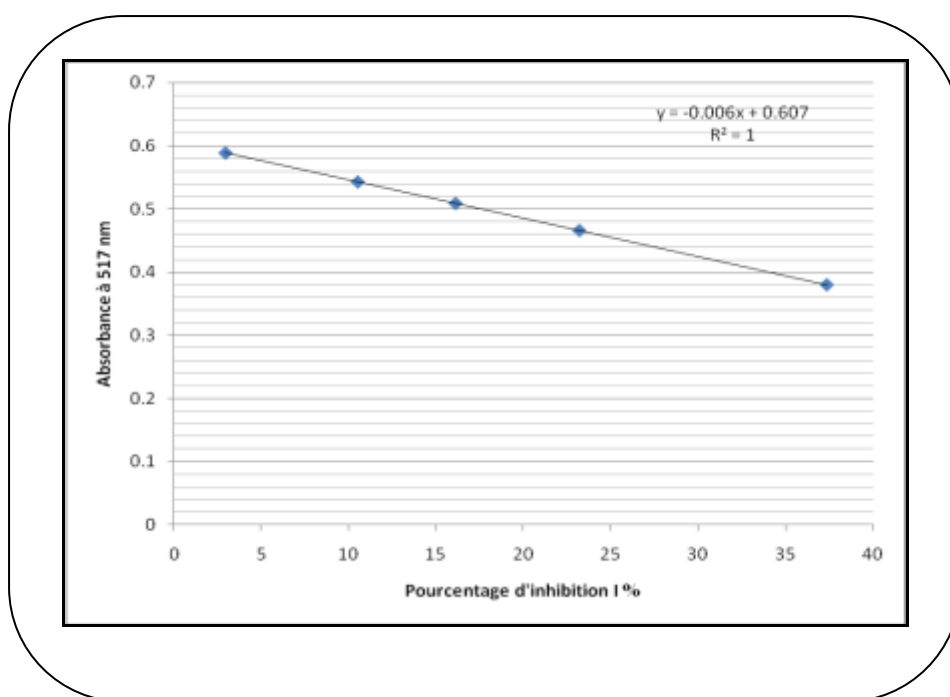


Figure 36: Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique de test DPPH.

L'extrait méthanolique de la partie aérienne de *Cleome arabica* L par ultrasons a présenté une activité antiradicalaire élevée (60.67 % avec une concentration 0.01mg/ml), suivie par l'extrait de macération (41% avec de même concentration 0.01mg/ml) (figure 37).

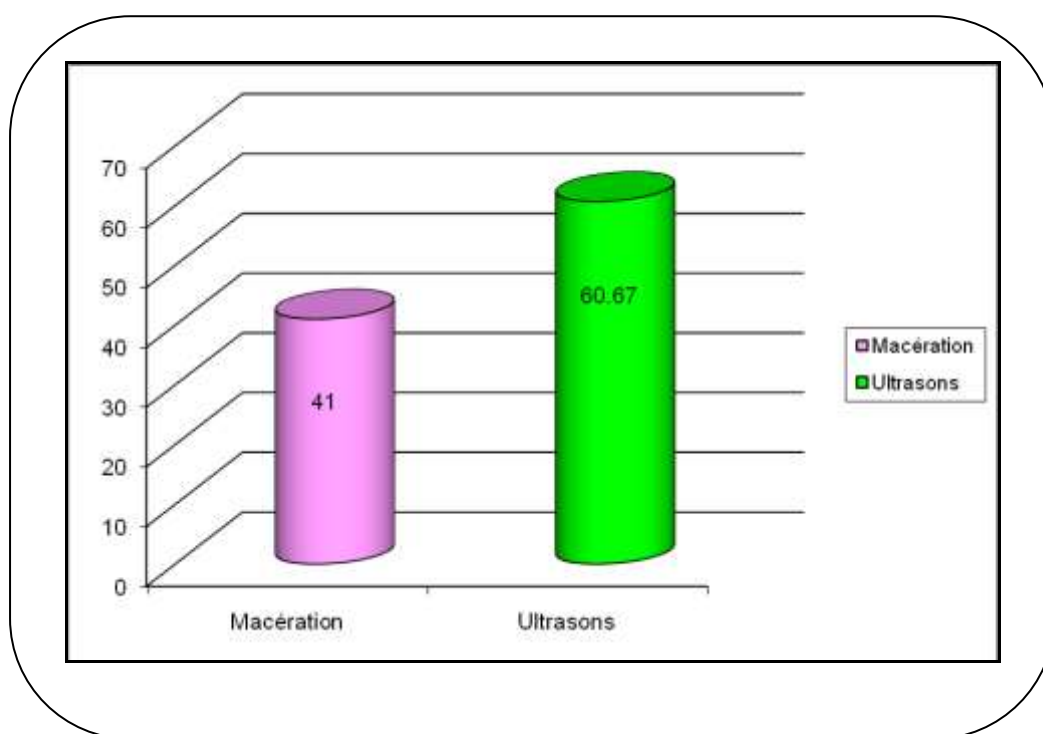


Figure 37: Pourcentage d'inhibitions I% contre le radical libre DPPH (concentration 0.01mg/ml) des deux extraits méthanoliques de *Cleome arabica* L.

1.4.2. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des extraits méthanoliques de *Cleome arabica* L est testée vis-à-vis de deux souches bactériennes via la méthode de diffusion sur disque.

Les résultats obtenus (voir l'annexe 08) sont représentés par l'histogramme suivant (figure 38).

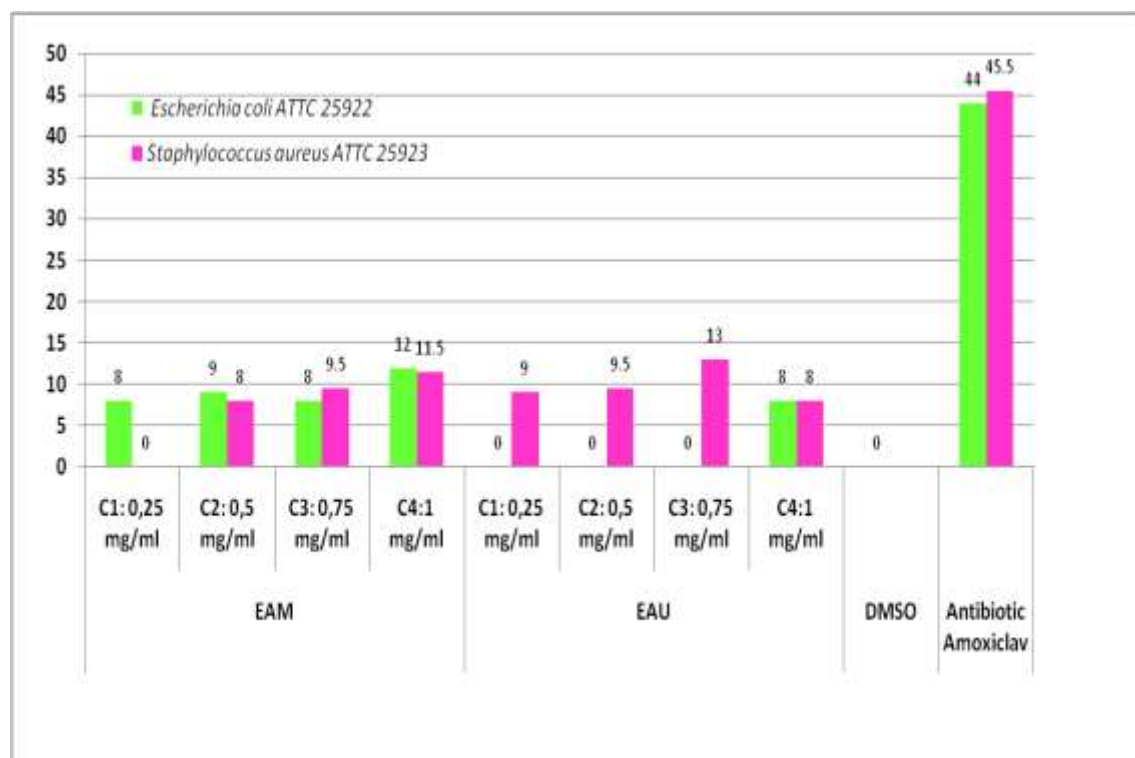


Figure 38: Zones d'inhibition (par mm) dse deux souches bactérienne testées en fonction des différentes concentrations d'extraits (EAM; EAU).

Les résultats révèlent que l'extrait méthanoliques de *Cleome arbica* L exercent un effet antibactérien considérable sur les deux souches bactérienne (Figure 39; 40; 41; 42). Cet effet demeure faible par rapport à celui d'amoxyclav. Ce dernier utilisé comme antibiotique de référence.

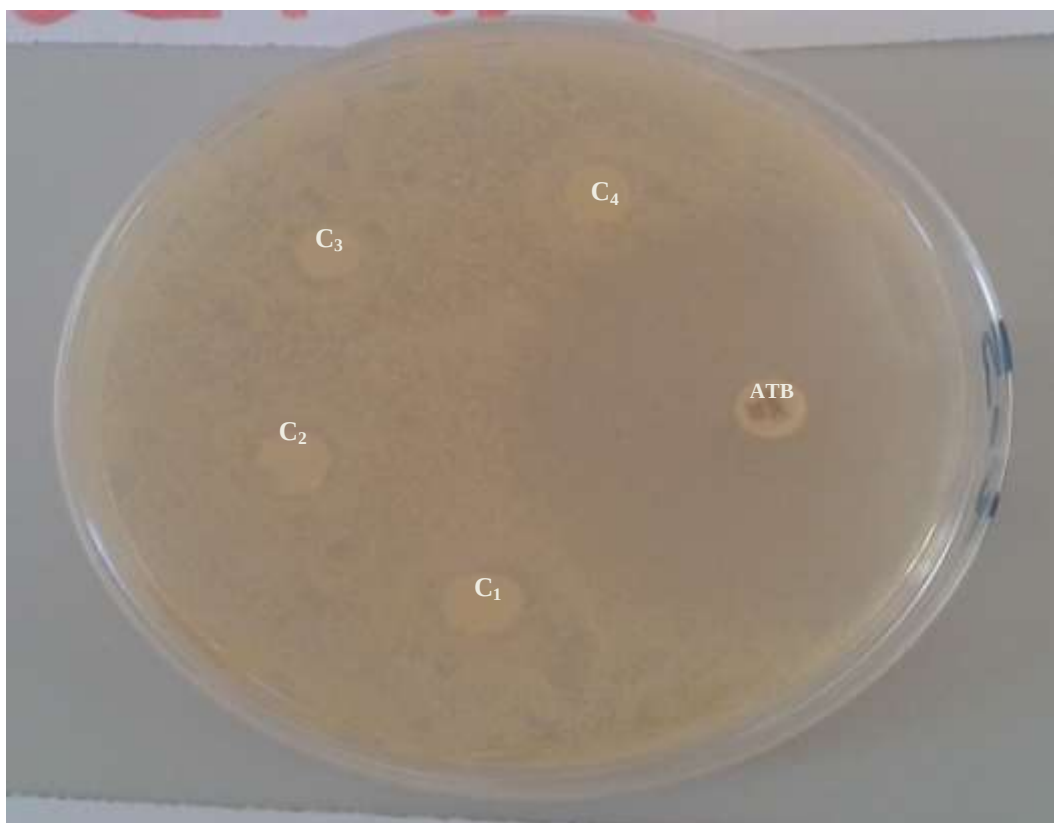


Figure 39: L'effet d'extrait de macération sur la souche bactérienne *Escherichia coli*.

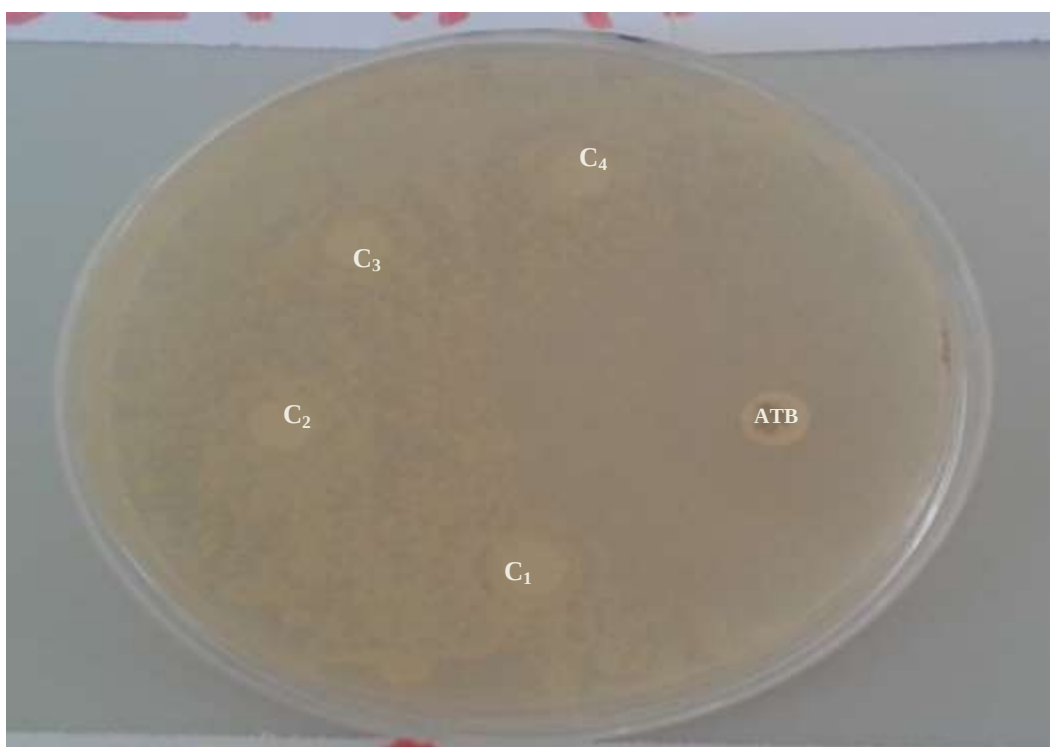


Figure 40: L'effet d'extrait de macération sur la souche bactérienne *Staphylococcus aureus*.

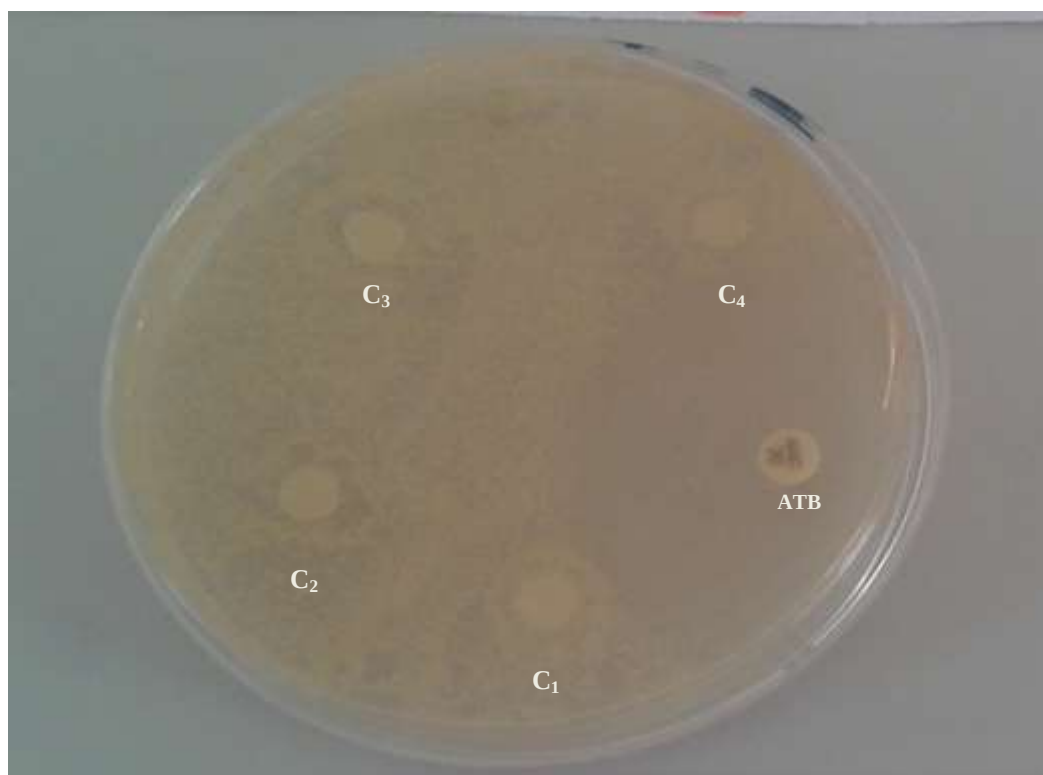


Figure 41: L'effet d'extrait d'ultra-son sur la souche bactérienne *Escherichia coli*.

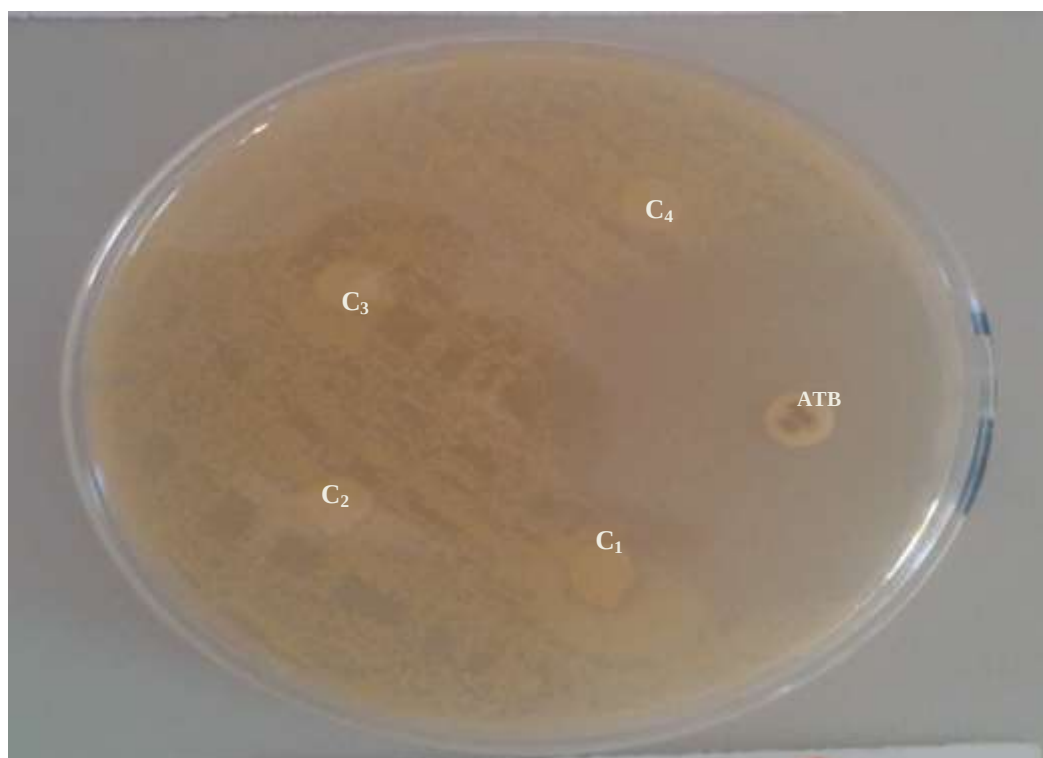


Figure 42: L'effet d'extrait d'ultra-son sur la souche bactérienne *Staphylococcus aureus*.

Pour EAU une seule concentration (C1:1mg/ml) a donné un effet sur *Escherichia coli* testée, donc son effet est faible par rapport EAM.

En outre, il y a deux valeurs illogiques avec des diamètres d'inhibition (EAM: C1= 0.75 mg/ml pour *Escherichia coli*, DMI = 08mm; EAU: 1 mg/ml, DMI = 08 mm pour *Staphylococcus Aureus*).

2. Discussion

2.1. Screening chimique

Le screening phytochimique dans notre étude, nous a permis de mettre en évidence la présence de quelques métabolites secondaires (Tanins, flavonoïdes, alcaloïdes, les composés réducteurs, stérols et tritépènes, anthocyanes) au niveau des tissus végétaux de la plante de *Cleome arabica* L. La détection de ces composés chimiques est basée sur des essais de solubilités des constituants, des réactions de précipitation, un changement de couleur (KANOUN, 2011).

L'examen phytochimique réalisé sur la partie aérienne de *Cleome arabica* L, a révélé la présence des alcaloïdes, les saponosides et des flavonoides en quantités importantes; Tanins catéchique et les composés réducteurs en quantités moins importantes. Cependant, nous observons l'absence d'anthocyanes, stérols et tritépènes.

Une analyse phytochimique qui permet de déterminer qualitativement les composés non nutritifs mais biologiquement actifs qui confèrent la saveur, la couleur et d'autres caractéristiques à la plante. C'est pour cela les plantes des zones arides produisent plusieurs types de métabolites secondaires afin de se défendre et pouvoir subsister aux contraintes imposées par le climat et le milieu (RIRA, 2006).

L'ensemble des groupes chimiques ainsi identifiés, ayant des propriétés pharmacologiques diverses (OUEDRAOGO, 2001). Ce qui justifie l'utilisation multiple de *Cleome arabica* L en tradi-thérapeutique.

Le potentiel d'une plante médicinale est attribué à l'action de ses constituants phytochimiques. Ils sont produits comme métabolites secondaires, en réponse au stress environnemental ou pour assurer un mécanisme de défense aux agressions provoquant des maladies chez les végétaux (MOHAMMEDI, 2013).

En effet les flavonoïdes jouent un rôle dans la coloration des végétaux (RIBÉREAU-GAYON et REYNAUD, 1968), Aussi ils possèdent des rôles très importants dans les plantes,

dont elles protègent les plantes contre le stress hydrique et génère une tolérance des plantes aux métaux lourds présente dans les sols. Hors la plante, les flavonoïdes possèdent plusieurs effets pharmacologique (MAKHLOUFI, 2010). Les flavonoïdes protègent les aliments d'origine végétale de l'oxydation, ce sont des antioxydants réputés pour leur action anti radriculaire (MAKHLOUFI, 2010).

En parallèle, on note la présence de tanins, ce composé qui donne un goût amer à l'écorce ou aux feuilles et les rendent impropres à la consommation pour les insectes ou le bétail (EBERHARD *et al.*, 2005). Les plantes peuvent produire des substances phénoliques (tannoïdes) en réponse à un stress environnemental, suscité par différents facteurs: déficience en éléments nutritifs, sécheresse, surchauffage (températures élevées) et l'intensité lumineuse (RIRA, 2006).

La présence des alcaloïdes peut expliquer des activités biologiques diverses (MILCENT et CHAU, 2003). Ils jouent; à faibles doses, le rôle d'anesthésique locaux, d'analgésique, d'antibiotiques, d'antiparasitaires, d'antipaludique, d'anti-tumoraux et d'amoebicides (CHENNI, 2010).

La plante est très riche en saponosides, Les saponosides possèdent des propriétés anti-inflammatoires et anti-oedémateuses, ils sont particulièrement toxiques pour les poissons et autres animaux aquatiques (BOUHADJERA, 2005). Aussi ces molécules ont des propriétés analgésiques (ROUX et CATIER, 2007).

2.2. Rendement d'extraction

A la lumière des Résultats obtenus on observe que le meilleur rendement résulte par EAM et EAU, Cette élévation notée pour *Cleome arbica* L peut être expliquée par le stade de croissance (floraison) (VITTI *et al.*, 2005).

La différence de rendement entre les deux extraits est due aux techniques d'extraction utilisées, qui sont totalement différentes, et à la composition chimique qui diffère d'un extrait à l'autre, puisque l'effet mécanique des ultrasons sur la matière végétale induit une meilleure pénétration du solvant dans les cellules, ce qui améliore ainsi le transfert de masse et augmente le rendement d'extraction et la cinétique d'extraction (MARSTON, 2011). Donc L'ultrasons de puissance sont maintenant bien connus pour avoir des effets significatifs sur la cinétique de certaines réactions chimiques ou encore sur la réduction du temps des procédés industriels.

En effet la cavitation induite par les ultrasons de faibles fréquences dans les milieux liquides se traduit entre autres par des accélérations de cinétique et/ou des améliorations du rendement, notamment dans le cas de l'extraction solide-liquide (VEILLET *et al.*, 2009)

En général, un procédé EAU possède un optimum compris entre 15 et 30 minutes de traitement à température ambiante, alors que les extractions conventionnelles (macération, distillation.... etc) sont très longues et/ou réalisées à la température d'ébullition de solvant pendant plusieurs heures (CHEMAT *et al.*, 2008).

2.3. Analyse quantitative de composés phénoliques

2.3.1. Dosage de polyphénols totaux

La teneur en polyphénols a été estimée par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu.

Les résultats montrent que les composés polyphénoliques sont abondants dans la partie aérienne de *Cleome arabica* L. La teneur élevée en polyphénols dans l'extrait méthanolique est liée à la solubilité élevée des phénols dans les solvants polaires (GHEDADBA *et al.*, 2014).

Le teneur en polyphénols totaux résulte dans l'extrait méthanolique de *Cleome arabica* L par EAU peu élevée par rapport la teneur obtenu par macération. Puisque la teneur en composés phénoliques variées en fonction de la méthode d'extraction (WOJDYLO, 2007).

Dans une étude sur les feuilles de *Cleome arabica* L (EFCA) montre que cet extrait est relativement riche en polyphénols, avec un taux de $322,1 \pm 3,44$ mg équivalent d'acide gallique/g MS (TIGRINE, 2014). Ceci peut être lié à la distribution des métabolites secondaires, peut changer pendant le développement de la plante; Aussi aux conditions climatiques dures (la température élevée, exposition solaire, sécheresse, salinité), qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires tels que les polyphénols (FALLEH *et al.*, 2008). En plus l'organe analysé, la région et la date de la récolte, la méthode d'extraction et les solvants qui sont utilisés (TIRICHINE, 2010).

En effet, la teneur phénolique d'une plante dépend d'un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétique) et extrinsèques (les pratiques culturelles, la maturité à la récolte et les conditions de stockage) (PODSEDEK, 2007). En plus la méthode de quantification peuvent également influencer l'estimation de la teneur des phénols totaux (LEE *et al.*, 2003).

2.3.2. Dosage de flavonoïdes

Les résultats quantitatifs des flavonoïdes, révèlent que leur teneur est important dans les deux extrait; On note que les plantes réagissent aux agressions de l'environnement en augmentant la production des polyphénols surtout les flavonoïdes, ces composés phénoliques peuvent être soumis à l'importantes fluctuations face à ces agressions (YOUNG *et al.*, 1997; CARPENTER et SMITH, 1975).

Les teneurs élevées en composés phénoliques par comparaison aux flavonoïdes sont logiques étant donné que les flavonoïdes représentent les composés majoritaires des polyphénols (BOUSSAHEL, 2011). Ceci peut être aussi expliqué par une augmentation du métabolisme phénolique de la plante; en plus, l'existence d'une liaison avec les conditions climatiques défavorables et les conditions de collections telles que les températures élevées, la durée d'exposition solaire, la nature du sol et la saison de croissance (DJERIDANE *et al.*, 2005).

A la lumière des résultats obtenus nous remarquons que la teneur obtenue par ultrasons peu élevé par rapport que la macération; Selon WOJDYLO *et al* (2007) la teneur en composés phénoliques variées également en fonction de la méthode d'extraction.

Dans une étude sur extraits de feuilles de *Cleome arabica* a montré que cet extrait est riche en flavonoïdes qui sont estimés à $245,6 \pm 4,67$ mg équivalent de quercétine/g MS (TIGRINE, 2014).

Dans des autres études s'accordent avec les résultats qui ont confirmé que la plante *Cleome arabica* est riche en ces composés phénoliques (BOURICHE *et al.*, 2003; ISMAIL *et al.*, 2005; DJERIDANE *et al.*, 2010). Ceci pourrait être du aux conditions environnementales (FAHMI *et al.*, 2013).

La concentration des flavonoïdes dans les extraits de la plante dépend de la polarité des solvants utilisés dans la préparation des extraits (DJERIDANE *et al*, 2010; GHEDADBA *et al.*, 2014). C'est pourquoi, BRUNETON (2009) et STANKOVIĆ (2011) ont signalé que les hétérosides de flavonoïdes sont solubles dans les solvants polaires comme les mélanges méthanol-eau parfois et l'acétonitrile-eau, alors que pour les génines (partie aglycone des flavonoïdes) sont solubles dans les solvants apolaires. Toute fois, il est important de signaler que l'utilisation de différentes méthodes de dosage, réduit la fiabilité d'une comparaison entre les deux études (MEZITI, 2009).

Selon ISMAIL *et al* (2005) les parties aériennes, les feuilles et les tiges de *Cleome arabica* sont très riche en flavonoïdes glycosylés.

2.4. Activités biologiques

2.4.1. Activité antioxydante

Les résultats obtenus montrent que les extraits méthanoïques des parties aériennes de *Cleome arabica* L par deux méthodes (EAU et EAM) ont une activité antiradicalaire très importante. Ces activités antioxydante constatées, sont dues à une production des métabolites secondaires (GAGANDEEP, 2006). En générale les plantes médicinales usitées dans les pharmacopées traditionnelles possèdent des propriétés antioxydantes (SPERONI *et al.*, 2000).

L'analyse chimique de partie aérienne de *Cleome arabica* L confirment l'existence de propriétés antioxydantes révélées par le test DPPH, dont les résultats obtenus montrent que la richesse de *Cleome arabica* L en polyphénols surtout en flavonoïdes, ces derniers sont des composés phénoliques connus par leurs activités anti-oxydantes et antiradicalaires (BARRECA *et al.*, 2011). L'action de ces antioxydants est supposée d'être due à leur capacité de donation d'atomes d'hydrogène ou d'électrons dérivée principalement de l'hydroxyle du cycle A des flavonoïdes (LE *et al.*, 2007).

Nos résultats aussi indiquent que EAU détient le pouvoir antioxydant le plus élevé par rapport EAM, ceci peut être explique que L'utilisation des ultrasons pour l'extraction des matières végétales permettant d'augmenter les rendements et d'accélérer les cinétiques d'extraction. Ces améliorations peuvent être attribuées à l'amélioration de la diffusion des substances dissoutes de l'intérieur de la cellule vers le milieu d'extraction. Les applications couvrent aujourd'hui l'extraction de nombreux autres composés comme les arômes, les antioxydants, les huiles et les colorants (CHEMAT, 2009).

Les résultats obtenus sont différents à ceux obtenus par TIGRINE (2014) dont le pourcentage d'inhibition sur les feuilles de *Cleome arabica* L sont d'environ 94 % avec la contraction 20 µg/ml. Cette différence entre les deux études, en plus à la méthode d'extraction peut être expliquée que les compositions et la teneur en composés phénoliques et respectivement l'activité antioxydante sont différents pour les différents organes des plantes (KAHKONEN *et al.*, 1999). Parce que la plante, tout comme tout être vivant, consomme beaucoup d'énergie au cours de son développement, les feuilles, en particulier qui sont le siège des réactions chloroplastiques, enregistrent une forte consommation d'oxygène et produisent donc par conséquent des radicaux libres (AVLESSI *et al.*, 2004). Donc les

antioxydants ne sont pas simplement présents dans les fruits, mais ils peuvent également être présents dans les feuilles des plantes aromatiques ou encore dans les feuilles de certains arbres (ALBU *et al.*, 2004).

En plus, la phase de maturation de la plante dont observées des différences de la teneur en polyphénols entre jeunes et vieilles feuilles de différentes matrices végétales (SAWA *et al.*, 1999).

2.4.2. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des extraits méthanoliques qui nous avons obtenu par deux méthodes (EAM, EAU) de *Cleome arabica* L a été évaluée dans cette étude par la technique de diffusion sur disque (RIOS et RECIO, 2005).

Les résultats obtenus dans le présent travail, montrent que l'extrait méthanolique de partie aérienne du *Cleome arabica* L a un effet inhibiteur faible sur la croissance de deux souches bactériennes testées. Ces activités observées sont par ailleurs expliquées par les résultats de l'analyse chimique des plantes (tableau 03) qui révèle la présence des composés tels que les alcaloïdes, les tanins, les flavonoïdes dont les propriétés anti-microbiennes ont déjà été démontrées (BOUZID, 2011). Tels que les différentes classes de polyphénols essentiellement les tanins et les flavonoïdes peuvent augmenter la toxicité des extraits envers les micro-organismes. Cette toxicité est fonction du site et du nombre de groupements hydroxyles présents sur le composé phénolique (HARRAR, 2012). En outre, il est évident que l'augmentation de l'hydroxylation conduit à une augmentation de la toxicité. L'effet anti-microbien 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). Aussi L'activité antimicrobienne et donc anti-infectieuse des flavonoïdes a été démontrée par de nombreuses études. Cette activité est due principalement à la capacité de ces molécules à inhiber l'expression de l'ADN et la synthèse de certaines enzymes et protéines membranaires des microorganismes (ULANOWSKA *et al.*, 2006).

Malgré l'effet antibactérienne remarquable de *Cleome arabica* L dans notre étude mais Cete effet demeure faible par rapport à celui de l'antibiotique Amoxyclav (AMC), cette grande différence peut être expliquée pour de nombreuses plantes, en fonction de la date de la récolte il aura des variations très importantes dans la composition chimique et de l'activité (ATHAMENA, 2009).

Pour EAM l'effet préférable que EAU, malgré l'extrait due par ultrasons renferme une quantité appréciable de polyphénols; Cette différence trouvée peuvent être attribuées aux plusieurs facteurs tels que les méthodes d'extraction (ATHAMENA, 2009), puisque les ondes ultrasonores à haute puissance sur l'extrait provoquent une altération de la qualité du produit (KAUFMANN *et al.*, 2001) L'amplitude ou l'intensité des ondes permet de classer les ultrasons pour leurs applications industrielles : ultrasons de faible intensité (1-3 W/cm²), appliqués souvent pour le contrôle de la qualité des produits. Ces ultrasons génèrent de stable cavitation, alors que les ultrasons de forte intensité (10-1000 W/cm²) génèrent des cavitations transitoires, appliqués pour la modification des produits par rupture physique des tissus) (SANTOS *et al.*, 2009).

La zone d'inhibition augmente considérablement avec la concentration des extraits (DORDEVIC *et al.*, 2007). Ceci obtenues dans nos résultats à l'exception deux cas, l'un résulte de l'extrait de EAM (état de C2:0.75mg/ml; ZH = 08mm); L'autre résulte de EAU (état de C1: 1mg/ml; ZH = 08mm) qui peut traduire par des phénomènes physiques soit la dispersion de solvant sur la disque est insuffisante donc ne fait pas un contact entre l'extrait et la bactérie ; Soit le solvant n'est pas absorbé par le disque; Enfin peut être la technique d'ensemencement est effectué de manière erronée.

CONCLUSION

Conclusion

Le présent travail a porté sur l'étude phytochimique et l'activités biologiques (anti oxydante et anti bactérienne) des extraits brut préparés par deux méthodes d'extraction (macération et ultrasonique) d'une espèce médicinales *Cleome arabica* L de la famille Capparidaceae collectée au Sahara septentrional Est Algérien (la région de Oued Souf), cette plante largement distribuée dans la partie nord de l'Afrique et elle est utilisée dans la pharmacopée traditionnelle, pour le traitement de plusieurs pathologies et en particulier la purgation et antirhumatismaux.

Le screening phytochimique a montré la présence des alcaloïdes, des flavonoïdes, des tanins cathéchiques, des Saponosides et des composés réducteurs. Quand aux tanins gallique, les stérols et tritérpènes, et anthocyanes ils sont absents dans notre plante. La présence des composants précédents due à leur rôle important dans la plante, dont ils sont des produits considérés comme métabolites secondaires, en réponse au stress environnemental ou pour assurer un mécanisme de défense aux agressions provoquant des maladies chez les végétaux.

L'extraction de la partie aérienne de la plante a permis d'obtenir des rendements qui sont différentes en fonction des méthodes d'extraction utilisés (8.95% pour l'extrait obtenu par macération est 9.60% pour l'extrait obtenu par ultrasons).

La teneur en polyphénols totaux pour les deux extraits a été estimée par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu, les résultats obtenus montrent que l'extrait méthanolique de *Cleome arabica* L par ultra-sons 13.46 mg éqAG/g MS.; suite de l'extrait de macération contient 11.57 mg éqAG/g MS. Tandis que le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3), les résultats montrent que ultrasons est préférable pour l'extraction obtenu des flavonoïdes à savoir une moyenne de 6.19 mg éqQu/g MS par apport la quantité dans l'extrait par macération (5.48 mg éqQu/g MS).

L'activité antioxydante des extraits de *Cleome arabica* La été évaluée par méthodes de piégeage de radical libre DPPH. Les résultats ont montré que les deux extraits méthanoliques possèdent une activité antioxydante très importante, grâce à leur constituants (composés polyphénoliques), et on observe que cette activité elle est élevée dans l'extrait obtenu par ultrasons (60.67 %), par rapport l'extrait obtenu par macération (41 %) .

L'activité antimicrobienne a été déterminée sur deux souches bactériennes, selon la méthode sur diffusion de disque, les deux souche étudiées présentent une sensibilité vis-à-vis a l'extraits de la plante, avec un maximum d'inhibition sur *Escherichia coli* (zone d'inhibition de 12mm) et un minimum d'inhibition sur *Staphylococcus aureus*(zone d'inhibitions de 00 mm), les résultats indiquent que les deux extraits possèdent une activité antimicrobienne très faible sur les souches testées.

À partir de ces résultats, on peut conclure que l'étude de l'activité biologique des extraits méthanoliques de *Cleome arabica* L. Suggèrent que, cette plante représente une source naturelle et prometteuse de molécules chimiques qui possède des activités biologiques très importantes, cette activité était diffère que l'extrait a une autre selon la méthode d'extraction qui influencent sur la nature des composés présents dans les deux extraits et leur efficacité sur l'activités biologiques.

L'ensemble de ces résultats obtenus in vitro ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances d'origine naturelle biologiquement active, une étude in vivo est souhaitable, pour obtenir une vue plus approfondie sur les activités antioxydante et antimicrobienne de cette plante.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

Références Bibliographiques

1. ABBAYES H. D., CHADEFAUD M., DE FERRE Y., FELDMAN J., GAUSSEN H., GRASSE P. P., LEREDDE M. C., OZENDA P., PREVOT A.R., 1963.- Botanique, anatomie, cycle évolutif, systématique. Ed. Masson et Cie, Paris. France. 1039 p.
2. AHARONI A., GALILI G., 2011- Metabolic engineering of the plant primary, secondary metabolism interface. *Current Opinion in Biotechnology*. Vol.(22): 239–244.
3. AIRY SHAW H. K., 1965- Diagnoses of new families, new names, etc., for the seventh edition of Willis's 'Dictionary'. *Kew Bulletin*. Vol. (18): 249–273.
4. AKROUM S., 2011- Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels. Thèse de Doctorat en sciences. Université Mentouri de Constantine. Algérie. 113 p.
5. ALBU S., JOYCE E., PANIWNKY L., LORIMER J.P., MASON T.J., 2004- Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from *Rosmarinus officinalis* for the food and pharmaceutical industry. *Ultrasonics Sonochemistry*. Vol. 11 (34): 261-265.
6. ALILOU H., 2012- Etude phytochimique et antifongique de deux plantes du Sud du Maroc : *Asteriscus graveolens* subsp. *odorus* (Schousb.) Greuter et *Asteriscus imbricatus* (Cav) DC. Thèse de Doctorat en sciences. Université Ibn Zohr. Agadir, Maroc. 215p.
7. ATEFBEIBU E.S.I., 2002- Contribution à l'étude des tanins et de l'activité antibactérienne de *Acacia Nilotica* Var *Adansonii*. Thèse de doctorat. Université Cheikh Anta Diop. Dakar, Sénégal. 37 p.
8. ATHAMENA., 2009- Etude quantitative des flavonoïdes des graines de *Cuminum cyminum* et les feuilles de *rosmarinus officinalis* et l'évaluation de l'activité biologique. Thèse de Magister en Biologie. Université El-Hadj Lakhdar. Batna, Algérie. 88 p.

9. AVLESSI F., DANGOU J., WOTTOV D., ALITONOU G.A., Aohounhloue D.K. et Menut C., 2004- Composition chimique, propriétés antimicrobienne et activités sur les tiques de l'huile d'*Eucalyptus tereticornis* Sm. *J. Chimie*. Vol. (7): 1057-1061.
10. BABA-AISSA F., 2000- Encyclopédie des plantes utiles, flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. Ed. EDAS, Alger. Algérie. 368 p.
11. BAHORUN T., GRESSIER B., TROTIN F., BRUNET C., DINE T., LUYCKX M., VASSEUR J., CAZIN M., CAZIN J. C., PINKAS M., 1996- Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arznei. Forschung*. Vol. (46): 1086-1089.
12. BARRECA D., BELLOCCO E., CARISTI C., LEUZZI U., KUMQUAT G.G., 2011- *Fortunella japonica* Swingle juice : Flavonoïd distribution and antioxidant properties. *Food Research International*. Vol. (44): 2190-2197.
13. BENAMOR B., 2008- Maîtrise de l'Aptitude Technologique de la Matière Végétale dans les Opérations d'Extraction de Principes Actifs; Texturation par Détente Instantanée Contrôlée DIC. Thèse de Doctorat. Université de La Rochelle, France. 186p.
14. BENAYACHE F., 2005- Recherche et Détermination Structurale des Métabolites Secondaires d'espèces du Genre *Genista* (Fabaceae) : *G. saharae*, *G. ferox*. Thèse de Doctorat en chimie organiques. Université Mentouri-Constantine. Algérie. 199 p.
15. BENBRINIS S., 2012- Evaluation des activités antioxydante et antibactérienne des extraits de *Santolina chamaecyparissus*. Thèse de Magister en biochimie. Université Ferhat Abbas-Sétif. Algérie. 84p.
16. BENHAMMOU N., 2011- Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de Doctorat en biologie. Université Aboubakr Belkaïd, Tlemcen. Algérie. 113 p.

17. BEN KHERARA S., 2010 – Activité bactéricide des huiles essentielle et des flavonoïdes esoles d'une plante médicinale du nord-est, Algerian : lasouge officinale L. Thèse de Magistère en science université Badji-Mokhtar ,Annaba. Algérie. Pp:106.
18. BHATS S.V., NAGASAMPIGIB B.A., SIVAKUMAR S.M., 2005- chemistry of natural products. Ed. narosa, Springer, Verlag Berlin Heidelberg. USA. 840 p.
19. 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. Pp79-82.
20. BOUDJOUREF M., 2011- Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Thèse de Magister en Biochimie. Université Ferhat Abbès, Sétif. Algérie. 99 p.
21. BOUHADJERA K., 2005- Contribution a l'étude chimique et biologique de deux plantes médicinales sahariennes *Oudneya africana* R.Br. et *Aristida pungens* L. Thèse de Doctorat en chimie organique appliqué. Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen. Algérie. 143 p.
22. BOURICHE H., SELLOUM L., TIGRINE C., BOUDOUKHA C., 2003- Effect of *Cleome arabica* Leaf Extract on Rat Paw Oedema and Human Neutrophil Migration. *Pharmaceutical Biology*. Vol. (41): 10-15.
23. BOUSSAHEL S., 2011- Étude biochimique et histologique de l'effet de quelques extraits des plantes toxiques dans la région de Sétif. Thèse de Magister en Biologie et Physiologie végétale. Université Ferhat Abbès, Sétif. Algérie. 86 P.
24. BOUZID W., YAHIA M., ABDEDDAIM M., ABERKANE M.C et AYACHI A. 2011. Evaluation de l'activite antioxydante et antimicrobienne des extraits de *Aubepine monogyne*. *Lebanese Science Journal*. Vol. (12): 59-69.
25. BRAND-WILLIAMS W, CUVELIER ME, Berset C., 1995Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm Wiss Technology*. Vol. (28):25-30.

26. BRUNETON J., 1999- Pharmacognosie, phytochimie. Plantes médicinales. Ed. Technique et Documentation. 3^{ème} ed, Paris. France. 1120p.
27. BRUNETON J., 2009- Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales. Ed. Tec & Doc. 4^{ème} ed, Paris. France. 1288 p.
28. BSSAIBIS F. et *al.*, 2009- Activité antibactérienne de *Dittrichia viscosa* L. ; Rev. Microbiol. Ind. San et Environn. Vol. 3(1) ; p: 44-55.
29. CALSAMIGLIA S., BUSQUET M., CARDOZOP W., CASTILLEJOS L., FERRET A., 2007- Invited review: essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Journal of dairy science*. Vol. (90): 2580–2595.
30. CARPENTER S.B., SMITH N.D., 1975- Stomatal distribution and size in southern Appalachian hardwoods. *Canadian Journal of Botany*. Vol. (53): 1153–1156.
31. CHEMAT F., TOMAO V., VIROT M., 2008- Ultrasound-assisted extraction in food analysis. Handbook of Food analysis Instruments. Ed. Otles S, Taylor and Francis, New York. USA. 544 p.
32. CHEMAT F., 2009- Essential oils: green extraction and applications. Ed. Handbook, New Delhi. Indie. 311p.
33. CHENNI M., 2010- Contribution à l'étude chimique et biologique de la racine d'une plante médicinale : *Bryonia dioica* Jacq. Thèse de Magister. Université d'Oranes-Senia, Oran. Algérie. 138 p.
34. CHWEYA J., MANZAVA A., 1997- Cat's whiskers, *Cleome gynandra* L. *Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops*. Vol. (11):1 -54.
35. CONNOLLY JD., HILL RA., 1992- dictionnary of terpenoids. Ed. Chapman and Hall. CRC Press, New York. USA. 2156p.
36. COWAN N. M., 1999- Plant products as anti microbial agents. *Clinical microbiology Reviews*. Vol. 12(4): 564-582.
37. CRUZ J.M., DOMINGUEZ J.M., DOMINGUEZ H., PARAJO J.C. , 2001- Antioxidant and antimicrobial effects of extracts from hydrolysates of

- lignocellulosic materials. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 49(5):2459-2464.
38. DEBRAY M., JACQUEMIN H., RAZAFINDRAMBO R., 1971- Phytochemical Screening of *Pentadesma butyracea* Sabine (Clusiaceae) Acclimated in Benin by GC/MS. Travaux et documents de l'Orstom, Paris. France. Vol. 2013(2013): 8 P.
39. DHAOUADI K., RABOUDI F., ESTEVAN C., BARRAJON E., VILANOVA E., HAMDAROU 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*. Vol. (59): 402-406.
40. DJELLOUL DAOUADJI S., 2010- Detection de Biofilm a Staphylocoques sur Catheters Veineux. Thèse de Magister en Biologie Moléculaire et Cellulaire. Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen. Algérie. 77 p.
41. DJERIDANE A., YOUSFI M., BRUNEL J. M., STOCKER P., 2010- Isolation and characterization of a new steroid derivative as a powerful antioxidant from *Cleome arabica* in screening the in vitro antioxidant capacity of 18 Algerian medicinal plants. *Food Chem Toxicol*. Vol. (48): 2599–606.
42. DJERIDANE A., YOUSFI M., NADJEMI B., BOUTASSOUNA A., STOCKER C., VIDAL N., 2005- Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem*. Vol. (97): 654–660.
43. DONATIEN K., 2008. Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes - extraction, Identification d'alcaloïdes - caractérisation, quantification de polyphénols : étude de leur activité antioxydante. Thèse de Doctorat mention chimie organiques. Université Paul Verlaine de METZ – UPV- M. France. 150 p.
44. DORDEVIC S., PETROVIC S., DOBRIC S., MILENKOVIC M., VUCICEVIC D., ZIZIC S., KUKIC J., 2007- Antimicrobial, anti-inflammatory, anti-ulcer and antioxidant activities of *Carlina acanthifolia* root essential oil. *J Ethnopharmacol*. Vol. (109): 458-463.

45. EBERHARD T., ROBERT A., ANNEISE L., 2005- Plantes aromatiques, épice aromates, condiments et huiles essentielles. Ed. Tec et Doc, Paris. France. 521p.
46. EDENHARDER R., GRÜNHAGE D., 2003- Free radical scavenging abilities of flavonoids as mechanism of protection against mutagenicity induced by tert-butyl hydroperoxide or cumene hydroperoxide in *Salmonella typhimurium* TA102. *Mutat. Res.* Vol. (540): 1–18.
47. FAHMI F., TAHROUCH S., HATIMI A., 2013- Geoclimatic influences on flavonoids contents of the leaves of the argan tree Influences géoclimatiques sur la composition en flavonoides des feuilles de l'arganier *Argania spinosa*. *J. Mater. Environ. Sci.* Vol. 4 (6): 881-886.
48. 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.* Vol. (331). 372-379.
49. GAGANDEEP M., KALIDHAR S.B., 2006- Chemical constituents of Crataevanurvala (Buch-ham) leaves. *In. J. Ph. Sc.* Vol. (68): 804-806.
50. GAZENGEL JM., ORECCHIONI AM., 2013- Le préparateur en pharmacie – Guide théorique et pratique. 2^{ème} ed. Ed. Tec et Doc, Paris. France. 1443 p.
51. GHEDADBA N., BOUSSELSA H., HAMBABA L., BENBIA S., MOULOUD Y., 2014- Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des feuilles et des sommités fleuries de *Marrubium vulgare* L. *Phytothérapie.* Vol. (12). 15-24.
52. GHEDADBA N., HAMBABA L., ABERKANE M.C., OUELD-MOKHTAR S.M., FERCHA N., BOUSSELSA H., 2014- Évaluation de l'activité hémostatique *in vitro* de l'extrait aqueux des feuilles de *Marrubium vulgare* L. *Algerian Journal of Natural Products.* Vol. 2(2): 64-74.
53. GHESTEM A., SEGUIN E., PARIS M., ORECCHIONI A.M., 2001- Le préparateur en Pharmacie. 2^{ème} ed. Ed. Tec et Doc, Paris. France. 275p.

54. GILBERT B. L., NORRIS D. M., 1968- Achemical basis for bark beetle (scolytus) distinction between host and non-host trees. *J Insect physiol.* Vol. (14): 1063-1068.
55. GONZÁLEZ A.G., BARRERA J.B., GARCÍA T.Z., ROSAS F.E., 1984- Sesquiterpene lactones from *Centaurea* species. *Phytochemistry.* Vol. 23(9): 2071–2072.
56. GORHAM J., 1977- Lunularic acid and related compounds in liverworts, algae and hydrangea. *Phytochemistry.* Vol. (16):249-253.
57. GRAEBE J.E., 1987- Gibberellin biosynthesis and control. *Annu. Rev. Plant physiol.* Vol. (38): 419-465.
58. GUBB A.S., 1913- La flore Saharienne: Un aperçu photographique. Ed. Adolphe Jourdan, Alger. Algérie. 129 p.
59. GUIGNARD J.L., 1996- Biochimie végétale. Ed. Masson, Paris. France. 274 p.
60. GURIB-FAKIM A., 2006- Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine.* Vol. (27): 1-93.
61. HADJ AMAR., 2012- Étude de la toxicité des extraits foliaires de *Cleome arabica* L (Capparidaceae) sur les larves du cinquième stade et les adultes de *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775) (Orthoptera-Acrididae). Thèse d'ingénieur d'Etat en Sciences Agronomiques. Université Kasdi Merbah, Ouargla. Algérie. 67p.
62. HANDA S.S., 2008- An Overview of Extraction Techniques for Medicinal and Aromatic Plants. (Eds) Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. International Centre For Science and High Technology, Trieste. Italy. Pp 21-54.
63. HANSON J. R., 2003- Natural products : the secondary metabolites. Ed. Royaume-Uni : Royal society of chemistry, Italy. 137 p.
64. HARBORNE J.B., 1980- Plant Phenolics: Encyclopedia of Plant Physiology. *New series.* Vol. (8): 329-402.

65. HARRAR A.E.N., 2012- Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. Thèse de Magister Biochimie et physiologie expérimentale, Université Ferhat Abbas, Sétif. Algérie. 73 p.
66. HART K.J., YÁNEZ-RUIZ R., DUVALS M., MCEWANN R., NEWBOLD J., 2008- Plant extracts to manipulate rumen fermentation. *Animal feed science and technology*. Vol. (147) : 8–35.
67. HASLAM E., 1994- Natural polyphenols (vegetable tannins): Gallic Acid metabolism. *Nat. Prod.* Vol. (11): 41-66.
68. HASLAM E., 1998- Practical Polyphenolics: From Structure to Molecular Recognition and Physiological Action. Ed. Cambridge University Press, Cambridge. UK. 422p.
69. HELLAL Z., 2011- Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des citrus. application sur la sardine (*Sardina pilchardus*). mémoire de Magister en biologie, université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou. Algérie. 78p.
70. HELLER W., FORKMANN G., 1993- The flavonoids. Advances in research since 1986. In Harborne JB. Secondary Plant Products. Encyclopedia of plant physiology. Ed. Chapman et Hall, London. UK. Pp 399-425.
71. HENNEBELLE T., SAHPAZ S., BAILLEUL F., 2004- Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*. Vol (1): 3-6.
72. HERNANDEZ-OCHOA L.R., 2005- Substitution de solvants et matières actives de synthèse par combiné (solvant/actif) d'origine végétale. Thèse de Doctorat. Institut national polytechniques, Toulouse. France. 255p.
73. HESS M., 2002- Alkaloids, Nature's Curse or Blessing 1^{ère} édition. Ed. Wiley-VCH, New York. USA. 297 p.
74. HEYWOOD V. H., 1993- Flowering plants of the world. Oxford University Press, New York. USA. 336p.

75. HOSTETTMANN K., 1992- Les plantes sources de médicaments phlébotropes, la lettre de la phlébologie. Ed. Zyma SA, Nyon. Switzerland. 25 p.
76. HOULT J. R. S., PAYA M., 1996- Pharmacological and Biochemical actions of simple coumarine: Natural Products with Therapeutic potential. *Gen Pharmacol.* Vol (27): 711-722.
77. ISERIN P., MASSON M ., RESTELLINI J P., 2007- Larousse des plantes médicinales. Identification, préparation, Soins .Ed. Larousse, Paris. France. 335 p.
78. ISMAIL I.S., ITO H., SELLOUM L., BOURICHE H., YOSHIDA T., 2005- Constituents of *Cleome arabica* leaves and twigs. *Natural Medicine.* Vol 59(1): 53.
79. JAMES E., KENNETH G., ROBERT A., KENNETH J., 1996- Molecules, Morphology, and Dahlgren's Expanded Order arales. *Systematic botany Matt Lavin.* Vol. 21(3): 289-307.
80. JUDD W. S., CAMPBEL C. S., KELLOG E. A., STEVENS P., 2002- Botanique Systématique, une perspective phylogénétique. Ed. Université De Boeck, Bruxelles, Paris. France. 467 p.
81. KAHKONEN M. P., HOPIA A. I., VUORELA H. J., RAUHA J. P., PIHLAJA K., KUJALA T. S. et HEINONEN M. 1999- Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* Vol. (47): 3954-3962.
82. KAMRA D.N., AGARWAL N., CHAUDHARY L.C., 2006. Inhibition of ruminal methanogenesis by tropical plants containing secondary compounds. *International Congress Series.* Vol. (1293) : 156–163.
83. KANOUN K., 2011- Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis* L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine). Thèse de Magister en Biologie. Université aboubekr belkaid -Tlemcen. Algérie.110 p.

84. KAUFMANN B., CHRISTEN P., VEUTHEY J.L., 2001- Parameters affecting microwave-assisted extraction of withanolides. *Phytochemical Analysis*. Vol. 12 : 327-331.
85. KEMASSI A., BOUAL Z., LEBBOUZ I., DADDI BOUHOUN M., SAKER M.L., OULD EL HADJ-KHELIL A and OULD EL HADJ M.D., 2012- Étude de l'activité biologique des Extraits foliaires de *Cleome arabica* L. (capparidaceae). *Lebanese Science Journal*. Vol. (13): 81-97.
86. KERHARO J., ADAM J.C., 1974- La pharmacopée sénégalaise traditionnelle. Plante. médicinales et toxiques. Ed. Vigot frères, Paris. France. 1011 p.
87. KHANBABAE K., REE T.R., 2001- Tannins: Classification and Definition. *Journal of Royal Society of Chemistry*. Vol. (18): 641-649.
88. KHENAKA K., 2011- Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogénèse ruminale chez l'ovin. Thèse de Magister En Microbiologie Appliquée. Université Mentouri- Constantine. Algérie. 81p.
89. KHOSRAVI M et al., 2013- Interactive comment on "Diurnal variation of stratospheric HOCl, ClO and HO₂ at the equator: comparison of 1-D model calculations with measurements of satellite instruments". *Atmos. Chem. Phys. Discuss*. Vol. (12): C12653–C12654.
90. KOSALEC I., BAKMAZ M., PEPELJNJAK S., and VLADIMIR-KNEZEVIC S., 2004- Quantitative analysis of the flavonoids in raw propolis from northern Croatia. *Acta. Pharm*. Vol. (54): 65-72.
91. KRIEF S., 2003- Métabolites secondaires des plantes et comportement animal : surveillance sanitaire et observations de l'alimentation de chimpanzes (*pan troglodytes schweinfurthii*) en ouganda activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. Thèse de Doctorat. Museum national d'histoire naturelle, Ouganda. 49p.
92. LE K., CHIU F., NG K., 2007- Identification and quantification of antioxidants in *Fructus lycii*. *Food Chemistry*. Vol. (105): 353-363.

93. LEE K.W., KIM Y.J., LEE H.J et LEE C.Y., 2003- Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxydant Capacity than Theas and Red Wine. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. Vol. (3): 7292-7295.
94. LEINMÜLLER E, STEINGASS H, MENKE KH., 1991- Tannins in feeds for ruminants. II Effects on rumen metabolism in vitro. Übersichten zur Tierernährung. Vol. (19):45–70.
95. LEYBROS J, FREMEAUX P., 1990- Extraction solide-liquide aspects théoriques. Techniques de l'ingénieur, *Génie des procédés*. Vol. (2J2780): J2780.1-J2780.22.
96. LICHTENTHALER H.K., 1999- The 1-deoxy-d-xylose-5-phosphate pathway of isoprenoid biosynthesis in plants. *annual review of plant physiology and plant molecular biology*. Vol. (50): 47-65.
97. LITVAK M.E., MONSON R.K., 1998- Patterns of induced and constitutive monoterpène production in conifer needles in relation to insect herbivory. *Oecologia*. Vol. (114): 531-540.
98. MABBERLEY D.J., 2008- *Mabberley's Plant-Book: a Portable Dictionary of Plants, their Classification and Uses*. Ed. Cambridge University Press: Cambridge. USA. 1021p.
99. MACHEIX J.J., FLEURIET A., SARNI-MANCHADO P., 2006- Les Polyphénols en agroalimentaire. Ed. Tec et Doc, Paris. France. Pp:1-28.
100. MAIRE R., 1933- Études sur la flore et la végétation du Sahara central. Ed. Mémoire de la société d'histoire naturelle de l'Afrique du nord n°3, Mission du Hoggar II, Alger. Algérie. 361 p.
101. MAIRE R., 1965- Flore de l'Afrique du Nord. Encyclopédie biologiques. vol. XII. Ed. Paul Lechvalier, Paris. France. 407 p.
102. MAKHLOUFI., 2010- Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de Bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre. Thèse de doctorat d'état en biologie, université aboubaker belkaid, Tlemcen. Algérie. 136 p.

103. MAKKAR H.P.S. 2003- Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small Ruminant Research*. Vol. (49) : 241-256.
104. MANGAN J. L. 1988. Nutritional effects of tannins in animal feeds. *Nutr. Res. Rev.* Vol. (1) : 209-231.
105. MARSTON A., 2011- Thin-layer chromatography with biological detection in phytochemistry. *Journal of Chromatography A*. Vol. (19): 2676-2683.
106. MARTIN S., TSITOHAINA R., 2002- Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*. Vol. (51): 304-315.
107. MAURICE N., 1997- L'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXI^e siècle. Ed. Tec et Doc, Paris. France. Pp 12-14.
108. MAYER A.M., 2004- Resistance to herbivores and fungal pathogens: Variations on a common theme? A review comparing the effect of secondary metabolites, induced and constitutive, on herbivores and fungal pathogens. *Israel Journal Of Plant Sciences* . Vol. (52): 279-292.
109. MCCALLEY D.V., 2002- Analysis of the Cinchona alkaloids by high-performance liquid chromatography and other separation techniques, Review. *Journal of Chromatography A*. Vol (967): 1–19.
110. MCSWEENEY C.S., PALMER B., MCNEILL D.M. and KRAUSE D.O., 2001- Microbial interaction with tannins: nutritional consequences for ruminants. *Animal Feed Science and Technology*. Vol. (91): 83-93.
111. MEDDOUR A., YAHIA M., BENKIKI N., AYACHI A., 2013- Étude de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'un ensemble des parties de la fleur du *Capparis Spinosa* L. *Lebanese Science Journal*. Vol. (14): 49-60.
112. MEDJROUBI K., BENAYACHE F., BENAYACHE S., AKKAL S., KHALFALLAH N., ACLINOUE P., 1997- Guaianolides From *Centaurea-Musimomum*. *Phytochemistry*. Vol. (45), 1449-1451.
113. MEZITI A., 2009- Activité antioxydante des extraits des graines de *Nigella sativa* L Étude in vitro et in vivo. Thèse de Magister en biochimie appliqué. Université El-Haj Lakhdar, Batna. Algérie. 105 p.

114. MILCENT R., Chau F., 2003- Chimie organique hétérocyclique : Structure fondamentale, chimie et biochimie des principaux composés naturels. Ed. Francois chau EDP. Paris. France. 846p.
115. MOHAMMEDI., 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. Algérie. 169 p.
116. MURRY R. D. H., Mendez J., Brown S. A., 1982- the natural coumarins Occurrence Chemistry and Biochemistry. Ed. Chichester John Wiley and Sons, UK. New York. England. 702 p.
117. NACOULMA AP., 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. 92 p.
118. NEWMAN D.J., CRAGG G.M., 2012 – Natural Products As Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010. *J. Nat. Prod.* Vol. (75): 311-335.
119. NKHILI E-Z., 2009- Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. Thèse de Doctorat en Sciences des Aliments. Université Cadi Ayyad, Marrakech. Maroc. 327 p.
120. OUEDRAOGO Y., NACOULMA O., GUISSOU I.P., GUEDE GUINA F., 2001- Evaluation in vivo et in vitro de la toxicité des extraits aqueux d'écorces de tige et de racines de *Mitragyna inermis* (willd).o.ktz (rubiacées). *Pharm. Méd. Trad.* Vol. (11). 13-29.
121. OUETIAN B., 1994- Intérêt alimentaire et fourrager des capparidacées du burkinafaso. *Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée.* Vol. XXXVI (1), n°1: 45-56.
122. OZANDA P. 1991- Flore et végétation du Sahara 3^{ème} éd. Ed. CNRS, Paris. France. 662 p.
123. OZENDA P., 1977- Flore du sahara ,2^{ème} éd, Centre national de la recherche scientifique, Paris. France. Pp: 242-244.

124. PANDEY KB et RIZVI SI., 2009- Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Vol. 2 (5) : 270 – 278.
125. PARIS M., HURABIELLE., 1981- Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie. Tome 1. .Ed. Masson, Paris. France. 339 p.
126. PAWLOWSKA AM., DE LEO M., BRACA A. 2006- Phenolics of *Arbutus unedo* L. (Ericaceae) fruits: Identification of anthocyanins and gallic acid derivatives. *J. Agric. Food Chem.* Vol. 54 (26): 10234-10238.
127. PAX F., HOFFMANN K., 1936-Capparidaceae. In Engler and Prantl [eds.], *Die Natürlichen Pflanzenfamilien*. Ed. Wilhelm Engelmann, Leipzig. Germany. Pp: 146–233.
128. PEEKING A., PICAND B., HACENE K., LOKIEC F., GUERIN P., 1987- Oligimères procyanidoliques (Endotélon) et système lymphatique. *Artères et Veines. Publications médicales AGCF*. Vol. (6): 512-513.
129. PERRET C., 2001- Analyse de tanins inhibiteurs de la stilbène oxydase produite par *Botrytis cinerea*. Thèse de Doctorat .Université de Neuchâtel. Suisse. 184 p.
130. PETRIER C., Gondrexon N., and Boldo P., 2008- Ultrasons et sonochimie. *Techniques de l'ingénieur*. Vol. (AF6310) : 1-14.
131. PODSEDEK A., 2007- Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *LWT*. Vol. (40):1-11.
132. PRIVAS E., 2013- Matériaux ligno-cellulosiques «Élaboration et Caractérisation laboration ». Thèse de Doctorat en Science et génie des matériaux, L'École Nationale Supérieure des Mines, Paris. France. 166 p.
133. QUEZEL P. SANTA S., 1962- Nouvelle flore de L'Algérie et des régions désertiques méridionales. Editions du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris. France. 1170 p.
134. RAGHAVAN., R. S., 1993- Capparaceae. In: Sharma, B. D. & N. P. Balakrishnan (Eds), *Flora of India*. Vol. 2. Ed. Botanical Survey of India, Howrah. Pp 248 – 335.
135. REBAYA A., IGUELD BELGHITH S., BAGHDIKIAN B., MAHIOU LEDDET V., MABROUKI F., OLIVIER E., CHERIF J.K., TRABELSI

- AYADI M., 2015- Total Phenolic, Total Flavonoid, Tannin Content, and Antioxidant Capacity of *Halimium halimifolium* (Cistaceae). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. Vol. 5 (01): 052-057.
136. RIBEREAU-GAYON J., PEYNAUD E., 1968- Les composés phénoliques des végétaux. Ed. Édition Dunod, Paris. France. 254 p.
137. RICHTER G., 1993- Métabolisme des végétaux. *Physiologie et Biochimie*. Ed. Presses Polytechniques et Universitaire, Romandes. Suisse. 526 p.
138. RIOS J.L., RECIO M C., 2005- Medicinal plants and antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology*. Vol. (100): 80-84.
139. RIRA M., 2006- Effet des polyphénols et des tanins sur l'activité métabolique du microbiote ruminal d'ovins. Thèse de Magister en biochimie et microbiologie appliquées, Université Mentouri Constantine, Algérie. 94 p.
140. RIZK A.M., 1982- Constituents of plants growing in Qatar. *Fitoterrapia*, Elsevier B.V. Amsterdam 52 (2) : 35-42.
141. ROUX D., CATIER O., 2007- Botanique, pharmacognosie, phytothérapie. 3^{ème} édition. Ed. Wolters Kluwer, Dalian. China. 141 p.
142. RUFINI L., SAMPAOLO G., 1977- Plants Off. Aromi. Saponi., *Cosmétol. Aerosol*. Vol. (59):9-75.
143. SANTOS H.M., LODEIRO C., CAPELO-MARTINEZ J.L., 2009- The Power of Ultrasound. *Ultrasound in chemistry : Analytical Applications*. Edited by José-Luis Capelo-Martinez, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim. Germany. 32 p.
144. SAWA T., NAKAO M., ONO K. et MAEDA H., 1999- Alkylperoxyl radical-scavenging activity of various flavonoids and other phenolic compounds, implication for the antitumor promoter effect of vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. (47): 397-402.
145. SCALBERT A., WILLIAMSON G., 2000- Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *Journal of Nutrition*. Vol. (130): 2073-2085.
146. SCHAUENBERG P., PARIS F., 2005- Guide des plantes médicinales. Analyse, description et utilisation de 400 plantes. 2^{ème} édition. Ed. Delachaux et Niestlé, Neuchâtel. Suisse. 396 p.
147. SEAMAN F.C., 1982- Sesquiterpenes lactones as taxonomic characters in asteraceae. In the botanical review. *Botanical garden*. Vol. (48): 121-594.

148. SEENIVASAN P., 2006- In vitro antibacterial activity of some plant essential oils. *Journal of complementary and alternative medicine*. Vol. (9): 6-39.
149. SELLES C., 2012- Valorisation d'une plante médicinale à activité antidiabétique de la région de Tlemcen : *Anacyclus pyrethrum* L Application de l'extrait aqueux à l'inhibition de corrosion d'un acier doux dans H₂SO₄ 0.5M. Thèse de Doctorat en Sciences Physiques, Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen Algérie 219 p.
150. SHARAF M., MANSOUR R.M.A., SALEH N.A.M., 1992- Exudate flavonoids from aerial parts of four *Cleome* species. *Biochemical Systematics & Ecology*. Vol(20): 443-448.
151. SHARKEY T.D.H.E., 1991- Stomatal control of trace gas emissions. Trace gas emission by plants. Physiological ecology. A series of monographs, texts, and treatises. Ed. Ca, Academic press, San diego. USA. Pp 335-339.
152. SHORT P.S et COWIE I.D., 2011- Flora of the Darwin Region Volume 1 Capparaceae. Ed. Northern Territory Government, Canberra. Australia. 24 p.
153. SINGH N., LUTHRA R., SANGWAN R.S., THAKUR R.S., 1989- Metabolism of monoterpenoids in aromatic plants. *Curr. res. Med. Arom. Plants*. Vol. (11): 174-197.
154. SINGLETON V. L., ORTHOFER R., and LAMUELA-RAVENTOS R. M., 1999- Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods Enzymol.* 152-177.
155. SPERONI E., SCARTEZZINI P., 2000- Review on some plants of indian traditional medicine with antioxidant activity. *J. Ethnopharmacol.* Vol. (71): 23-43.
156. SPURGEON S.L., PORTER J.W., 1981- introduction in: biosynthesis of isoprenoid compounds. Ed. (J. W. porter, S. L. Spurgeon, eds.), John Wiley and Sons, New york- Chichester-Brisbane-Toronto. Pp 1-46.
157. STANKOVIĆ M. S., 2011- Total phenolic content, flavonoid concentration and antioxidant activity of *Marrubium peregrinum* L. extracts, *Kragujevac J. Sci.* Vol (33): 63-72.

158. STÖCKIGT J., SHELUDKO Y., UNGER M., GERASIMENKO I., WARZECHA H., STÖCKIGT D., 2002- High-performance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrophoretic–electrospray ionisation mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups Review. *Journal of Chromatography A*. Vol (967): 85–113.
159. SUSLICK K.S., 1998- Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology. 4^{ème} édition. Ed. J. Wiley & Sons, New York. USA. Pp 517-541.
160. TEIXEIRA DA SILVA J. A., 2004- Mining the essential oils of the *Anthemideae*. *Afr. J. Biotechnol.* Vol. (3): 706-720.
161. TIGRINE C., 2014- Effets anticancéreux et chimioprotecteur de l'extrait polyphénolique, riche en flavonoïdes, des feuilles de *Cleome arabica*. Thèse de Doctorat en Sciences. Université Ferhat Abbas, Sétif. Algérie. 132 p.
162. TIRICHINE H.S., 2010- Etude ethnobotanique, activité antioxydante et analyse phytochimique de quelques cultivars de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) du Sud-Est algérien. Thèse de Magister en Biologie. Université d'Oranes-Es Senia, Oran Algérie. 88 p.
163. TREASE E., EVANS W.C . 1987- Pharmacognosie, Billiaire Tindall. London 13 th Edition. P 61-62. In Karumi Y, Onyeyili PA et Ogugduaja VO, 2004. Identification des principes actifs de l'extrait de feuilles de *M. balsamia* (Baume du pommier). *Journal of Medicine and scintific*. Nigeria. Vol. 4(3): 179-182.
164. TREKI A.S., MERGHEM R., DEHIMAT L., 2009. Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une Labiée: *Thymus hirtus*. *Sciences & Technologie*. Vol. (29): 25-29.
165. ULANOWSKA K., TRACZYK A., KONOPA G., WEGRZYM G., 2006- Differential antibacterial activity of genistein arising from global inhibition of DND, RNA and protein synthesis in some bacterial strains. *Arch. Microbiol.* Vol 184 (5): 271-278.
166. UNESCO (U: United, N: Nations, E: Educational, S: Scientific ,and (C): Cultural, O: Organization) ., 1960- Les plantes médicinales des régions arides. Recherche sur les zones arides. Vol. 13, Paris, 99 p.

- 167.VEILLET S., TOMAO V., CHEMAT F., 2009. Ultrasound Assisted Extraction of aromas and antioxidants. Ed. F. Chemat, Essential oil and aromas green extractions and applications, Handbook New Delhi. Indie. 311p.
- 168.VERPOORTE R., ALFERMANN A.W., 2000- Metabolic Engineering of Plant Secondary Metabolism. Ed. Kluwer Academic, Dordrecht. Netherlands. 286 p.
- 169.VINATORU M., TOMA M., RADU O., FILIP P.I., 1997- The use of ultrasound for the extraction of bioactive principles from plant materials. *Ultrasonics Sonochemistry. T. J.* Vol. 4(2): 135-139.
- 170.VITTI D.M.S.S., ABDALLA A.L., BUENO I.C.S., SILVA FILHO J.C., COSTA C., BUENO M.S., NOZELLA E.F., LONGO C., VIEIRA E.Q., CABRAL FILHO S.L.S., GODOY P.B. and MUELLER-HARVEY I. 2005., Do all tannins have similar nutritional effects? A comparison of three Brazilian fodder legumes. *Anim. Feed. Sci. Technol.* Vol (119) : 345–361.
- 171.WALLACE R.J., 2004- Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. *Proceedings of nutrition society.* Vol. (63) : 621–629.
- 172.Wang L ., Weller C.L.,2006- Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology.* Vol. 17(6): 300-312.
- 173.WINK M., 2003. Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. *Phytochemistry.* Vol. (64): 3-19.
- 174.WOJDYLO A., OSZMIANSKI J., CZEMERYYS R.,2007- Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chem.* Vol (105): 940–949.
- 175.YAO L.H., JIANG Y.M., SHI J., TOMAS-BARBERAN F.A., DATTA N., SINGANUSONG R., Chen S.S., 2004- Flavonoids in Food and their health benefits. *Plant. Food Hum. Nutr.* Vol (59) : 113-122.
- 176.YOUNG A.J., Phillip D., Savill J., 1997- Carotenoids in higher plant photosynthesis. Ed. M. Pessaraki, Handbook of Photosynthesis, Marcel DekkerInc, New York. USA. Pp 575–596.

177. YU F.N.A., UTSUMI R., 2009- Diversity, regulation, and genetic manipulation of plant mono-and sesquiterpenoid biosynthesis. *Cell. mol. Life sci.* Vol. (66): 3043-3052.
178. ZIEGLER J., FACCHINI P.J., 2008- Alkaloid Biosynthesis: Metabolism and Trafficking. *Annu Rev Plant Biol.* Vol (59): 735 – 769.
- 179 . حليس ي.، 2007. الموسوعة النباتية لمنطقة واد سوف النباتات الصحراوية الشائعة في منطقة العرق الشرقي الكبير. دار الوليد للنشر والطباعة، الوادي. الجزائر. 248 ص

ANNEXES

ANNEXES



Annexe 01: *Cleome arabica* L pendant la période de séchage (originale).



Annexe 02: Rotavapor.



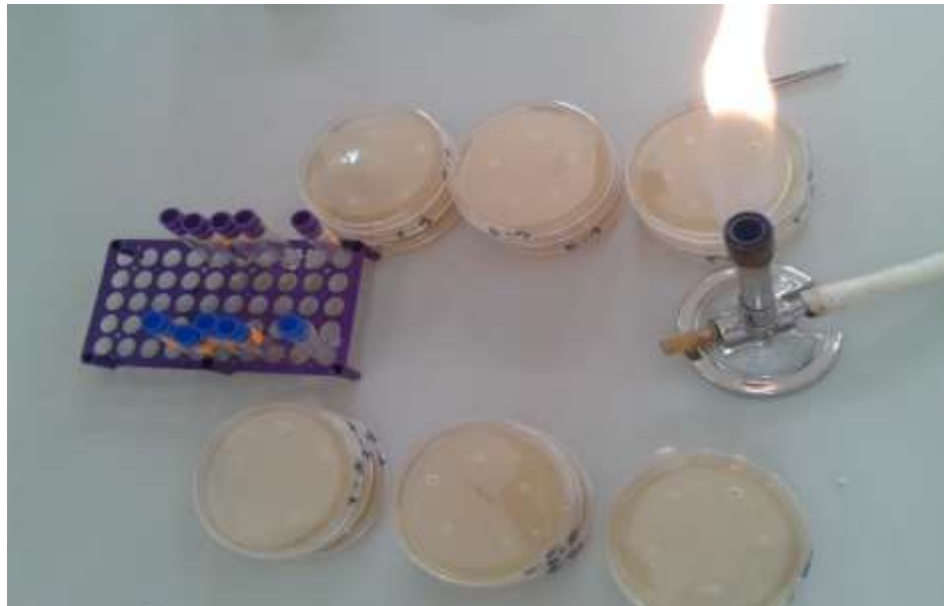
Annexe 03: L'extrait dans bain ultrasonique.



Annexe 04: Disques de wattmen.



Annexe 05: Autoclave pour stérilisation.



Annexe 06: Préparation de culture bactérienne



Annexe 07: Boîtes de pétrie dans l'étuve à 40°C.

Annexe 08: Diamètres d'inhibition en (mm) d'extrait de *C. arabica* L. due par macération et par ultrasons.

l'extrait méthanolique	Concentration (mg/ml)	Souches bactériennes testées	
		<i>Escherichia coli</i> (ATTC 25922)	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATTC25923)
EM (Extrait par macération)	C1:1mg/ml	12	11.5
	C2:0,75mg/ml	8	09.5
	C3:0,5mg/ml	9	8
	C4:0,25mg/ml	8	0
EU (Extrait par Ultrasons)	C1:1mg/ml	8	8
	C2:0,75mg/ml	0	13
	C3:0,5mg/ml	0	09.5
	C4:0,25mg/ml	0	9
ATB:Amoxiclav		44	45.5
Contrôle negative (disques vide et disques DMSO)		0	0