

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

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

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

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

THEME

**Contribution à la caractérisation biologique des
alcaloïdes de *Salvia chudaei* Batt. & Trab.**

Présenté par:

M^{elle} SAHRAOUI Samia.

M^{me} HENKA Asma.

Devant le jury composé de:

Président : M^r. ALIA Zaid

M.C.B., Université d'El-Oued.

Promoteur : M^r. TLILI Mohammed Laid

M.A.A., Université d'El-Oued.

Examinatrice : M^{me} MAHBOUB Nasma

M.C.B., Université d'El-Oued.

Année universitaire: 2018/2019

REMERCIEMENTS

Avant tout, nos remerciements infinis sont adressés à « Dieu le Tout Puissant de nous avoir donné le courage et la santé pour achever ce travail.

*Tout d'abord nous tenons surtout à adresser nos plus vifs remerciements à notre promoteur Monsieur **Tlili Mohammed Laid** Maître assistant à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'université Echahid Hamma Lakhdar El-Oued, qui nous ont fait l'honneur de réaliser ce travail sous sa direction, pour sa grande patience, pour sa disponibilité et ses conseils judicieux.*

*Mes vifs remerciements vont à Monsieur **Zaid Alia**, Maitre-assistant à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'université Echahid Hamma Lakhdar El-Oued, d'avoir accepté de présider le jury.*

*Nous remercions également Madame **Mahboub Nasma**, Maitre-assistant à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'université Echahid Hamma Lakhdar El-Oued, pour avoir accepté d'examiner ce travail et de faire partie du jury.*

Nous aimons également citer ici les personnes dont la collaboration a été précieuse pour quelques aspects de ce travail, ainsi que tout le personnel du laboratoire de Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'université Echahid Hamma Lakhdar El-Oued. Qu'ils trouvent ici l'expression de nos reconnaissances et nos profondes gratitude.

Nous ne saurais omettre d'adresser nos remerciements et nos reconnaissance à tous les enseignants de l'Université Echahid Hamma Lakhdar El-Oued, pour le soutien et la formation qu'ils nos ont prodigué tout au long de notre études, qu'ils trouvent ici l'expression de notre profond respect et grande considération.

Enfin, nous remercions nos parents. Merci à nos proches et amis (es) sans qui tout cela n'aurait été possible. Merci de nos avoir soutenu et supporté tout au long de notre formation.

Dédicace

A l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie,

j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma

vie ma mère qui ma apporté son appui durant toutes mes années

d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance,

courage et sécurité.

Amon cher père qui ma appris le sens de la persévérance tout au

long de mes études, pour son sacrifice et ses

encouragements.

A mon marie Azzeddine Pour sa compréhension et ces conseils et sa

grande confiance, je te remercie Azzeddine.

A més très chères sœurs et mes frères

A tous mes chère amies

A toute la famille Henka et Aliat

A mes chères collegues en master biochimie appliquée

Asma

Dédicace

قبل كل شيء، الشكر لله الذي أمدنا بالإرادة والقوة لإتمام هذا العمل المتواضع، فالحمد والشكر لله أولاً و آخراً على عونه وفضله.

À mes chers parents, mon père et ma mère qui n'ont jamais cessé

de me Soutenir et de m'encourager non seulement dans la réalisation de ce travail mais dans toute ma vie

À mes frères et mes sœurs

À toute la famille de Sahraoui

À tous les amis et collègues sans exception merci pour tous les moments qu'on a partagé ensemble, Merci d'être toujours là.

À tous ceux-là, Je dédie le fruit de ce modeste travail

Samia

Résumé

Le présent travail a pour objectif l'étude d'une des plantes d'intérêt médicinal dans la région de Tamanrasset, en l'occurrence *Salvia chudaei*. l'échantillon choisi est étudiés à travers leur contenant qualitatif en composés alcaloïdes, suivi d'une analyse par chromatographie sur couche mince et évaluation *in vitro* des activités antioxydant et antimicrobienne de ces composés. l'extraction des alcaloïdes a permis d'obtenir un rendement de l'ordre de 0,116%. l'analyse qualitative par CCM, après révélation et visualisation sous UV à 365 nm, a permis de mettre en évidence de nombreuses taches (spots) ont des Rf et des couleurs différents, ce qui indique que la plante *Salvia chudaei* est riche en plusieurs classes des alcaloïdes. l'évaluation de pouvoir antioxydant qui a été réalisée en utilisant la méthode de DPPH, a montré que l'extrait d'alcaloïde est un pouvoir antioxydant relativement modéré par rapport à celui de l'acide ascorbique. l'étude de l'activité antimicrobienne a été effectuée sur six souches par la méthode de diffusion sur disque. les résultats obtenus indiquent que l'extrait d'alcaloïdes de partie aérienne de *Salvia chudaei* sont révélés actif vis à vis les souches testées, et sont beaucoup plus actives sur la souche fongique.

Mots-clés: *Salvia chudaei*, alcaloïdes, CCM, activité antioxydant , activité antimicrobienne, Tamanrasset.

Contribution to the biological characterization of alkaloid de *Salvia chudaei* Batt. & Trab.

Abstract

The present work aims at the study of one of the plants of medicinal interest in the region of Tamanrasset, in this case *Salvia chudaei*. the selected sample is studied through their qualitative container of alkaloid compounds, followed by analysis by thin layer chromatography and *in vitro* evaluation of the antioxidant and antimicrobial activities of these compounds. the extraction of the alkaloids made it possible to obtain a yield of the order of 0.116%. the qualitative analysis by TLC, after revelation and visualization under UV at 365 nm, made it possible to highlight many spots (spots) of Rf and different colors, which indicates that the plant *Salvia chudaei* is rich in several classes of alkaloids The antioxidant evaluation, which was performed using the DPPH method, showed that the alkaloid extract is relatively mild antioxidant relative to that of ascorbic acid. the study of antimicrobial activity was performed on six strains by the method of diffusion on disk. the results obtained indicate that the extract of alkaloids from the aerial part of *Salvia chudaei* have proved to be actively inhibitory with respect to the strains tested, and are much more active on Fungal.

Key words: *Salvia chudaei*, alkaloid, TLC, antioxidant activity, antimicrobial activity, Tamanrasset.

المساهمة في التوصيف البيولوجي للقلويدية *Salvia chudaei* Batt. & Trab.

الملخص

يهدف هذا العمل إلى إجراء دراسة نباتية لأحد النباتات ذات الأهمية الطبية في منطقة تمنراست تسمى *Salvia chudaei* تتم دراسة العينة المختارة من خلال الإحتوائ النوعي على القلويدات ، و التي تم فصلها بواسطة الكوماتوغرافيا وتقييم نشاطها المضادة للأكسدة والمضاد للميكروبات . إستخلاص القلويدات مكننا من الحصول على عائد قدره 0.116%. التحليل النوعي بواسطة الكروماتوغرافيا CCM, بعد الوحي والتصور تحت الأشعة فوق البنفسجية في 365 نانومتر ، جعل من الممكن توضيح العديد من البقع مختلفة RF والألوان ، مما يدل على أن نبات *Salvia chudaei* غنية بالعدة أنواع من قلويدات. تقييم مضادات الأكسدة ، الذي أجري باستخدام طريقة إحتباس الجذر الحر DPPH ، أظهر أن المستخلص القلويد لديه إستجابة معتبرة مقارنة بحمض الأسكوربيك. تم إجراء دراسة نشاط مضادات الميكروبات على ست سلالات بطريقة الإنتشار على القرص. تشير النتائج التي تم الحصول عليها إلى أن مستخلص الجزء الجوي له فعالية ضد السلالات المجربة، وهي أكثر نشاطا على الفطريات.

الكلمات المفتاحية : *Salvia chudaei* , القلويدات , النشاطية المضادة للأكسدة , النشاطية المضاد للميكروبات ,منطقة تمنراست.

LISTE DES TABLEAUX

Numéro	Titre	Page
I	La taxonomie de <i>Salvia chudaei</i>	4
II	Description des différentes souches microbiennes testées.	18
III	Systèmes solvants utilisés pour la CCM de gel de silice.	22
IV	Résultats de CCM des alcaloïdes de <i>Salvia chudaei</i> par la Phase 1	27
V	Résultats de CCM des alcaloïdes de <i>S. chudaei</i> par Phase mobile 2	28

LISTE DES FIGURES

Numéro	Titre	Page
01	Morphologie de <i>S. chudaei</i>	5
02	Origine biosynthétique de différentes classes d'alcaloïdes	9
03	Principe de l'extraction des alcaloïdes en milieu alcalin	14
04	Principe de chromatographie sur couche mince	15
05	Extraction des alcaloïdes totaux à partir des parties aériennes <i>Salvia chudaei</i>	21
06	Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH	23
07	Résultat du pourcentage de l'inhibition de DPPH pour l'acide ascorbique	30
08	Résultat du pourcentage d'inhibitions de DPPH pour des alcaloïdes de <i>Salvia chudaei</i>	30
09	Histogramme des résultats de concentrations inhibitrices 50 % de DPPH d'extrait alcaloïde de <i>Salvia chudaei</i>	31
10	Résultats de l'effet antimicrobien des alcaloïdes de <i>S. chudaei</i> contre <i>Salmonella typhi</i>	32
11	Résultats de l'effet antimicrobien des alcaloïdes de <i>S. chudaei</i> contre <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	32
12	Résultats de l'effet antimicrobien des alcaloïdes de <i>S. chudaei</i> contre <i>Escherichia coli</i>	33
13	Résultats de l'effet antimicrobien des alcaloïdes de <i>S. chudaei</i> contre <i>Staphylococcus aureus</i>	34
14	Résultats de l'effet antimicrobien des alcaloïdes de <i>S. chudaei</i> contre <i>Listeria innocua</i>	34
15	Résultats de l'effet antifongique des alcaloïdes de <i>S. chudaei</i> contre <i>Fusarium culmorum</i>	35
16	Résultats de l'effet antimicrobien des alcaloïdes de <i>S. chudaei</i> contre les souches microbiennes testées	35

LISTE DES PHOTOS

Numéro	Titre	Page
1	L'espèce <i>Salvia chudaei</i> Battandier & Trabut	4
2	Chromatogramme d'extrait d'alcaloïde du <i>S. chudaei</i> de phase mobile 2 à 365 nm	29
3	Chromatogramme d'extrait d'alcaloïde du <i>S. chudaei</i> de phase mobile 1 à 254 nm	29
4	Chromatogramme d'extrait alcaloïde du <i>S. chudaei</i> de phase mobile 2 par observation visuel	29
5	Chromatogramme d'extrait alcaloïde du <i>S. chudaei</i> de phase mobile 1 par observation visuel	29

SOMMAIRE

Dédicaces

Remerciements

Résumés

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des photos

Introduction

PREMIER PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Présentation la plante étudiées

I.1. Présentation Genre <i>Salvia</i>	03
I .2. Espèce <i>Salvia chudaei</i> Battandier et Trabut.....	03
I .2.1. Position systématique.....	04
I .2.2. Description botanique	04
I.2.3. Répartition géographique	05
I.2.4. Utilisation traditionnelle.....	05
I.2.5.Travaux antérieurs.....	06
I.2.5.1.les activités antimicrobiennes.....	06
I.2.5.2. Activité antioxydante.....	07

Chapitre II : Généralités sur les alcaloïdes

II.1. Définition des Alcaloïdes.....	08
II.2. Classification des Alcaloïdes	08
II.2.1. Alcaloïdes vrais	09
II.2.2. Pseudo-alcaloïdes	09
II.2.3. Proto-alcaloïdes.....	09
II.3.Biosynthèse des Alcaloïdes	09

II.4. Propriétés physico-chimiques.....	10
II. 5.Distribution et Localisation des alcaloïdes.....	10
II.6. Intérêts des alcaloïdes.....	11
II.6.1. Fonctions au niveau du producteur	11
II.6.2. Actions pharmacologiques.....	11
II.7. Technique d' extraction des alcaloïdes.....	12
II.7.1. les méthodes générales.....	12
II.7.2. les méthodes spéciales	14
II.8. Technique d'analyse physico-chimiques des alcaloïdes.....	14
II.8.1. chromatographie sur couche mince (CCM)	14
II.8.2. Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS)	16

DEUXIEME PARTIE :PARTIE PRATIQUE

Chapitre I : Matériels et méthodes

I.1.Matériels	17
I.1.1.Matériels végétales.....	17
I.1.2.Matériels de Laboratoire	17
I.1.3.Réactifs chimiques et solvants	17
I.1.4. Souches microbiennes testées.....	18
I.1.5. Antibiotiques.....	19
I.1.6. Milieux de cultures.....	19
I.2. Méthodes.....	19
I.2.1.Extraction des alcaloïdes	19
I.2.1.1. Principe.....	19
I.2.1.2. Mode d' opération.....	20
I.2.1.3. Détermination de rendement.....	20
I.2.2. Analyse qualitative par chromatographie sur couche mince (CCM).....	22

I.2.3. Evaluations d'activités biologiques.....	22
I.2.3.1. Activité antioxydants (Test de piégeage du radical DPPH).....	22
I.2.3.2. Activité antimicrobienne.....	24
II.3. Analyses statistiques;.....	26
Chapitre II : Résultats et discussion	
II.1. Résultats.....	27
II.1.1. Rendement d'extraction.....	27
II.1.2. Analyse qualitative par chromatographie sur couche mince	27
II.1.3. Evaluation biologique.....	30
II.1.3.1. Activité antioxydante (Test de piégeage du radical DPPH).....	30
II.1.3.2. Activité antimicrobienne	31
II.2. Discussion	36
II.2.1. Rendement d' extraction.....	36
II.2.2. Analyse qualitative par chromatographie sur couche mince.....	36
II.2.3. Evaluation biologique.....	37
II.2.3.1. Activité antioxydante.....	37
II.2.3.2. Activité antimicrobienne.....	38
Conclusion.....	42
Références bibliographiques.....	43

LISTE DES ABREVIATIONS

ATCC	American Type Culture Collection
DMSO	Dimethylsulfoxyde
CCM	Chromatographie sur Couche Mince
DPPH	Diphényl picryl hydrazyl
ATB1	Imipenem 10ug
ATB2	Ciprofloxacine 5ug
DO	Densité optique
CLIP	Collaborateur Listeria Institut Pasteur
UV	Ultraviolet
Rf	Rapport frontal
LC-MS	Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse
HPLC	Chromatographie liquide haute performance
RMN	Résonance magnétique nucléaire
CMI	Concentrations minimales inhibitrices
CMB	Concentrations minimales Bactéricides
CMF	Concentrations minimales Fongicide
MS	Spectrométrie de masse
V/V	Volume par volume
C ⁰	Degré Celsius
NH ₄ OH	Ammoniaque.
I%	Pourcentage d'inhibition
ug	microgramme.
%	Pourcentage
Mm	Millimètre
mg	milligramme.
g	Gramme
μl	Microlitre

Introduction

Introduction

Le Sahara algérien est constituée de 500 espèces végétales, dont on dénombre 162 espèces endémiques dans le Sahara seul et à laquelle s'ajoute une tradition séculaire de pharmacopée traditionnelle. Plusieurs de ces espèces sont connues par leurs propriétés thérapeutiques remarquables (**Fellous, 2003**).

L'utilisation des plantes médicinales pour le traitement des maladies vient habituellement de la croyance qu'elles présentent une très faible toxicité du fait de leur origine naturelle. Selon l'organisation mondiale de la santé, autour de 80 % de la population du monde emploie la médecine traditionnelle pour le soin de santé. Ces études ont pour but d'une part, de confirmer les propriétés thérapeutiques et d'autre part l'identification des principes actifs à l'origine de vertus attribuées aux plantes (**Gomes et al., 2012**).

Le règne végétal représentant une source importante d'une grande variété de molécules bioactives, elles ont été mises à profit dans l'industrie alimentaire, en cosmétologie et en pharmacie. Parmi ces composés on retrouve, les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tanins, les terpènes et les flavonoïdes (**Bahorun et al., 1996**).

Les alcaloïdes constituent l'une des catégories les plus larges de produits naturels, étant synthétisé pratiquement par tous les organismes vivants (**Fattorusso et Tagliatela-Scafati, 2008**). Ce sont des molécules bioactives à faible poids moléculaire et trouvés dans environ 20 % des espèces de plantes (**Facchini, 2001**). Parmi leurs fonctions est d'intervenir dans les relations plantes prédateurs (protection) mais jusqu'à aujourd'hui, la détermination de la fonction des alcaloïdes dans la plante reste incomplète (**Bruneton, 2009**).

Les propriétés antioxydants des principes actifs des extraits provenant de diverses sources végétales continuent à avoir un très grand intérêt comme supplément en médecine complémentaire. La plupart de ces extraits contiennent des alcaloïdes qui sont d'ailleurs de plus en plus utilisés en thérapeutique, en tant que sources de médicaments, les plantes restent encore sous exploitées surtout dans le domaine de la microbiologie médicale (**Mohammedi, 2013**).

Les plantes constituent donc une source intéressante de nouveaux composés dans la recherche de molécules bioactives donc l'objectif de notre travail consiste à l'extraction des alcaloïdes de *Salvia chudaei* récoltée dans la région de sud Sahara d'Algérie

(Tamanrasset) et l'étude de leurs activités biologiques (l'activité antioxydant et antibactérienne).

On a s'envisagé cette étude en deux parties; Dans la première partie, nous présentons une synthèse bibliographique qui regroupe deux chapitres dont le premier est concerne une description détaillée de la plante étudiée. Le deuxième chapitre englobe les généralités sur les alcaloïdes.

La deuxième partie quant à lui, il est partie en deux chapitres. Le premier chapitre décrit le matériel et les méthodes utilisées dans ce travail qui porte sur :

- ✓ L'extraction des alcaloïdes.
- ✓ L'analyse de l'extrait par CCM.
- ✓ Une étude de l'activité antioxydante des par le piégeage du radical libre DPPH.
- ✓ Evaluation de l'activité antimicrobienne

Dans le dernier chapitre, nous présenterons les résultats obtenus, leur discussion et leur conclusion.

Première partie

Etude bibliographique

Chapitre I.

*Présentation de la
plante étudiée*

La famille des Lamiaceae (Labiatae) est composée de 236 genres et 7136 espèces. Cette famille est l'une des premières à être distinguées par les botanistes (**Pistrick, 2002 ; Alice et al., 2016 ; Hammoudi, 2015**) et ceci par la particularité de ses caractères. Ce sont généralement des plantes herbacées odorantes, à tige quadrangulaire et à inflorescences verticillées. Les feuilles sont généralement opposées ou verticillées, simples ; il n'y a pas de stipule. Les fleurs sont bisexuées et zygomorphes. Le calice est synsépale. Le fruit est une drupe avec 1 à 4 noyaux. On note le caractère aromatique des plantes de cette famille (**Guignard, 2001**).

Les plantes de cette famille sont surtout des plantes méditerranéennes (**Carrubba et al., 2006**), qui ne se rencontrent guère que dans la région présaharienne et dans l'étage supérieur du Hoggar (**Ozenda, 1977**).

I.1. Présentation de genre *Salvia*

Le genre *Salvia* est un membre de la famille des *Lamiaceae* (**Bahadori et al., 2015**) et contient plus de 959 espèces réparties à l'échelle mondiale (**Alice et al., 2016**), et qui manifeste des variations morphologiques et génétiques selon leurs origines géographiques (**Mirjalili et al., 2006**). L'Algérie compte 23 espèces (**Hammoudi, 2015**), dont certains sont économiquement importants car ils sont utilisés comme épice et aromatisant dans le domaine de la parfumerie et cosmétiques (**Miguel et al., 2011; Colmenares et al., 2006**).

Depuis l'antiquité, les espèces de *Salvia* ont été utilisées dans la médecine traditionnelle comme médicament contre les coliques, la diarrhée, fièvre, rhume, grippe, maladie du foie et problèmes abdominaux, et dans le traitement de la bronchite chronique, des attaques fébriles, rhumatisme, débilité sexuelle, ainsi que mentale et maladies nerveuses (**Miguel et al., 2011; Al-Jaber et al., 2012**).

I.2. Espèce *Salvia chudaei* Battandier et Trabut

- **Nom Tamahaq** : Awhihat.
- **Nom vernaculaire (Français)** : sauge sauvage (**Abeier, 2007**).
- **Nom arabe** : Tagroufte (**Hammiche et Maiza, 2006**).



Photo (01) : L'espèce *Salvia chudaei* Battandier & Trabut (**Hammoudi, 2015**).

I.2.1. Position systématique

Tableau (I) : La taxonomie de *Salvia chudaie* (**Quezel et Santa, 1963**)

Règne	Planta
Embranchement	Spermaphyte
Sous –Embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédone
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	Salvia
Espèce	<i>Salvia chudaei</i>

I.2.2. Description botanique

La plante *Salvia chudaie* est un arbrisseau vivace très rameux, de couleur gris bleuté. Elle a environ de 30 à 40 cm de haut et possède des tiges striés très feuilles. Les feuilles sont étroites et allongées, denticulées, au bord crénelé et crispé. A l'extrémité des tiges, les inflorescences en épis courts au sommet de rameaux très nombreux portent de longs poils laineux qui masquent les petites fleurs d'un bleu pâle. La plante entière dégage une forte odeur agréable, un peu camphrée (**Sahki et Sahki, 2004 ; Benchelah et al., 2011 ; Ozenda, 1977**).

Les parties aériennes de la plante sont utilisé localement en médecine traditionnelle pour le traitement de la dysménorrhée, douleurs abdominales, spasmes, insolation et gonorrhée (**Hammiche et Maiza.,2006**).



Figure (01): Morphologie de *S. chudaei* (**Battandier et Trabut 1907 ; Will *et al.*, 2015**)

I.2.3. Répartition géographique

Espèce caractéristique de la souche d'endémisme continentale insulaire des montagnes sahariennes, ces aires de répartition sont le Hoggar, Tassili, Tibesti, assez commune dans le secteur du Sahara central et dans les Oueds rocailleux (**Jean-pierre, 2001**) ou dans d'autres régions à sables grossiers. On la rencontre par petites colonies aussi bien en altitude, à Didier ou dans les oueds de l'ouest, qu'au pied du plateau (**Hammoudi, 2015**). (**Sahki et Sahki, 2004 ; Benchelah *et al.*, 2011**).

I.2.4. Utilisation traditionnelle

C'est une plante qui dégage une odeur agréable. Elle a des usages médicaux et culinaires multiples. (**Maiza *et al.*, 1993 ; Hammiche et Maiza, 2006**), contre les maladies vénériennes, les rhumatismes. Elle a une utilisation pour soulager les maux d'estomac et également utilisée dans l'alimentation (les sauces, les condiments, les épices, les arômes et aussi pour parfume le thé des Touaregs et aux plats) et dans l'agri-horticulture (fourrage) (**Burkill, 1985 ; Ozenda, 1977; Sahki et Sahki, 2004; Benchelah *et al.*,2011 ; Hammoudi, 2015**). En cuisine, on l'ajoute à certains plats en condiment, à la viande ou

aux bouillies de mil. Il s'agit aussi d'un pâturage possible (Ozenda, 1977; Sahki et Sahki, 2004; Benchelah *et al.*, 2011).

I.2.5.Travaux antérieurs

D'après la littérature consultée, il ya deux études sur la plante de *Salvia chudaei* dans l'Algérie

I.2.5.1. Activité antimicrobienne

Dans ce travail montre que l'huile essentielle a été testée contre les agents pathogènes microbes dont les bactéries : quatre Gram positif [*Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Staphylococcus aureus* (CIP 7625), *Staphylococcus epidermidis* (CLM), *Listeria monocytogenes* (CIP 82110)], trois Gram négatif [*Escherichia coli* (ATCC 10536), *Pseudomonas aeruginosa* (CIP A22), *Salmonella enterica* (CIP 81.3)] et une levure [*Candida albicans* (IPA 200)]. Des souches bactériennes ont été cultivées dans la gélose Muller – Hinton (Institut Pasteur, Algérie) et des levures ont été cultivées dans Gélose Sabouraud dextrose (Institut Pasteur, Algérie). Tout les souches microbiennes ont été incubées pendant 24 heures à 37°C (Kunduhoglu *et al.*, 2011).

À partir de cette travail conclure que l'effet de l'huile essentielle est limité à Gram positif bactéries et il est inactif contre les bactéries à Gram négatif. Le meilleur effet inhibiteur a été détecté contre *S. epidermidis* et *C. albicans*, suivis des effets contre *B. subtilis*, *S. aureus* et *L. monocytogenes*. Aussi l'huile essentielle de *S. chudaei* pourrait être utilisée pour la prévention ou le traitement des maladies graves de la peau causées par *S. epidermidis* et *C. albicans*. En outre, il pourrait convenir à la inhibition de la croissance de la détérioration des aliments et d'origine alimentaire pathogènes causés par *B. subtilis*, *S. aureus* et *L. monocytogenes*. (Tenore *et al.*, 2011; Tepe *et al.*, 2005).

Dans autre travail les tests biologiques effectués un effet antimicrobien remarquable sur les différentes souches microbiennes testées : *Staphylococcus aureus* ATCC 27923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Proteus mirabilis* ATCC 39452, *Enterobacter cloacae* ATCC 13047, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 et *Candida albicans*. (Hammoudi, 2015).

I.2.5.2. Activité antioxydante

Le potentiel antiradicalaire des extraits a été déterminé par quatre méthodes différentes : le test de DPPH, le FRAP, l'ABTS et le test de Phosphomolybdate (**Hammoudi, 2015**).

A partir de ce travail lorsqu'il est testé par DPPH et / ou tests β -carotène / acide linoléique (**Tepe et al., 2004; Ebrahimabadi et al., 2010; Tel et al., 2010; Yumrutas et al., 2012**), tandis que d'autres rapportent un antioxydant modéré à bon potentiels de plusieurs espèces de Salvia (**Tenore et al., 2011; Fella et al., 2006; Tepe et al., 2005; Liand., 2009**). Leur obtenir les différents résultats peuvent être expliqués par la variation dans leur composition chimique. Composantes majeures présentées dans l'huile essentielle de *S. chudaei* analysée dans cette étude ont été signalés pour posséder une faible activité antioxydante (**Ruberto et. Baratta., 2000**).

Chapitre II.

*Généralités sur les
alcaloïdes*

Les métabolites secondaires sont des produits à structure chimique souvent complexe, on recense plusieurs milliers de métabolites (au moins 30000 structures caractérisées) et sont classées selon leur appartenance chimique (**Judd, 2002**). Parmi ces substances, on trouve les composés phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les saponosides, les terpénoïdes et stéroïdes et les alcaloïdes qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique (**Iserin, 2001**). Ces derniers constituent un des plus grand groupes de métabolites secondaires avec près de 10000 à 12000 différentes structures qui représentent un groupe fascinant de produits naturels (**Roberts et Wink, 1999 ; Stockigt et al., 2002**).

II.1. Définition des Alcaloïdes

Le terme alcaloïde a été introduit par W. Meissner au début de XIX^e siècle pour désigner des substances naturelles réagissant comme des bases, comme des alcalis (de l'arabe *al-qali*, la soude et du grec *eidōs*, l'aspect). Plus de 15000 alcaloïdes ont été isolés (**Dunet, 2009**) depuis la découverte de la morphine (**Croteau et al., 2000**).

Les alcaloïdes sont des substances organiques naturelles composés de carbone, d'hydrogène, d'oxygène et d'azote (**Schauenberg 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 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**).

II.2. Classification des Alcaloïdes

La classification des alcaloïdes la plus utilisée est celle se basant sur la structure chimique de ces composés et leurs précurseurs moléculaires, ainsi les alcaloïdes sont classés en trois grands types : les alcaloïdes vrai, les pseudo- alcaloïdes et les proto-alcaloïdes (**Aniszewski, 2007**).

II.2.1. Alcaloïdes vrais

Ils dérivent d'acides aminés et comportent un atome d'azote dans un système hétérocyclique. Ce sont des substances douées d'une grande activité biologique, même à faibles doses. Ils apparaissent dans les plantes, soit sous forme libre, soit sous forme d'un sel, soit comme N-Oxide (Milcent et Chau, 2003).

II.2.2. Pseudo-alcaloïdes

Ne sont pas dérivés aminés. Ils peuvent cependant être à la voie des acides aminés l'intermédiaire d'un de leurs précurseurs, ou d'un de leurs postcurseurs (dérivés) ils peuvent aussi résulter d'animation, ou les postcurseurs d'acides aminés (Aniszewski, 2007).

II.2.3. Proto-alcaloïdes

Ce sont des amines simples, dont l'azote n'est pas inclus dans un hétérocycle. Ils dérivent aussi d'acides aminés (Milcent et Chau, 2003).

II.3. Biosynthèse des Alcaloïdes

Contrairement à la plupart des autres types de métabolites secondaires, les nombreuses classes d'alcaloïdes ont des origines biosynthétiques unique (Figure 04) (Ziegler et Facchini, 2008). Les noyaux de base de ces différents alcaloïdes dérivent des acides aminés du métabolisme primaire (Nacoulma, 2013).

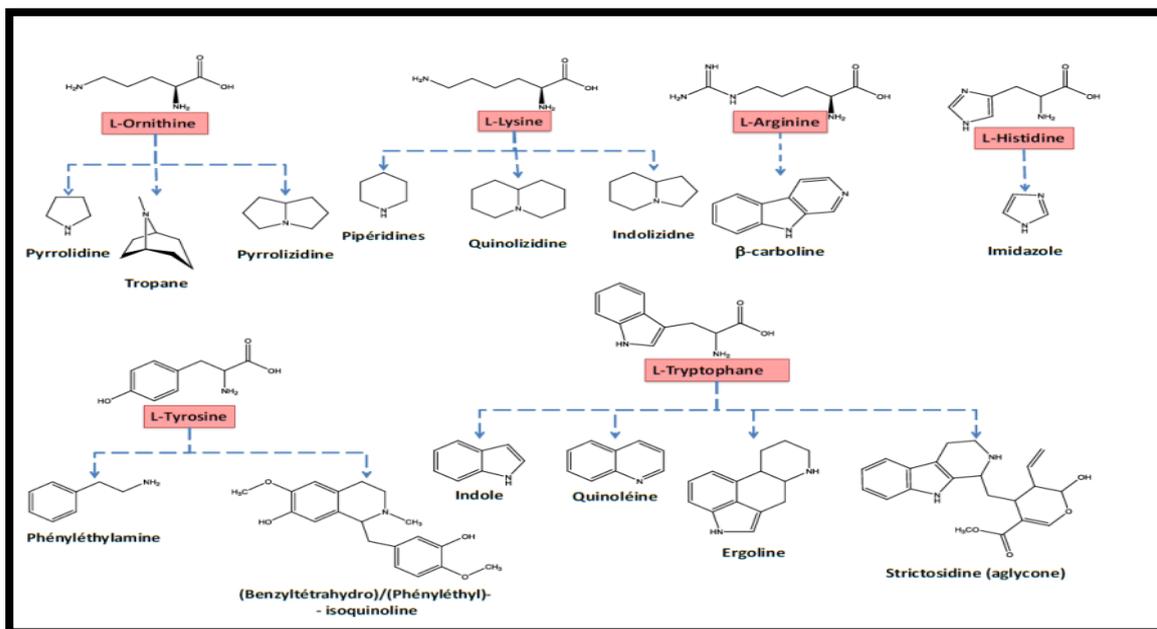


Figure (02) : Origine biosynthétique de différentes classes d'alcaloïdes (Nacoulma, 2013).

II.4. Propriétés physico-chimiques

- Ils ont des masses molaires variant de 100 à 900 daltons ;
- Sont plus souvent des solides cristallisables ;
- Quelques-uns sont liquides à la température ordinaire (alcaloïdes généralement non oxygénés) ;
- Ils sont rarement colorés ;
- Ils sont presque toujours capables de dévier la lumière polarisée ;
- Ils sont des composés à caractère basique ;
- ils donnent des sels avec les acides minéraux (Chlorhydrates, sulfates, nitrates,...etc) ou organiques (tartrates, sulfamates, maléates,...etc)
- Les bases sont très peu ou insolubles dans l'eau, solubles dans les solvants organiques apolaires et dans les alcools à titre élevé.
- La basicité des alcaloïdes est très variable, elle est en fonction de la disponibilité du doublet libre de l'azote. Des groupements électro-attracteurs adjacents à l'atome d'azote diminuent la basicité alors que des groupements électro-donneurs l'exaltent.
- La basicité est un facteur d'instabilité pour ses molécules qui, à l'état de base et en solution, sont sensibles à la chaleur, à la lumière et à l'oxygène.
- Grâce à la capacité qu'ont les alcaloïdes de se combiner avec des métaux et des métalloïdes, la caractérisation des alcaloïdes est possible avec des réactions de précipitation par des réactifs généraux des alcaloïdes (**Bruneton, 2009**).

II.5. Distribution et Localisation des alcaloïdes

Les alcaloïdes sont principalement présents dans le règne végétal chez les Angiospermes qui en contiennent 10 à 15 %, sont rares chez les bactéries (pyocyanine de *Pseudomonas aeruginosa*) et les champignons (psilocine). Ces composés sont également présents chez les animaux (flustramine, saxitoxin, samandarine,...etc.) (**Singla et al., 2010**). Les alcaloïdes chez les végétaux sont souvent localisés dans les tissus périphériques (assises externes des écorces de tiges et de racines, téguments des racines,...ect). Ils sont stockés dans des vacuoles cellulaires, leurs synthèse se fait souvent dans des sites précis : racines en croissance, cellules spécialisées de laticifères, chloroplastes, avant d'être transportés dans leurs sites de stockage (**Krief, 2003**). Les végétaux contenant plus de 0,01 % d'alcaloïdes sont qualifiés d'espèce « alcaloïdifère ». Les alcaloïdes interviennent dans la protection de la plante contre les agents pathogènes (**Singla et al., 2010**).

II.6. Intérêts des alcaloïdes

II.6.1. Fonctions au niveau du producteur

Comme pour beaucoup d'autres métabolites secondaires, on ne sait pratiquement rien du rôle des alcaloïdes dans les végétaux. La toxicité de certaines, laisse supposer des rôles de protection contre les prédateurs (**Krief, 2003**). Certains auteurs estiment que ce sont des métabolites terminaux «déchets inutiles». D'autres les désignent comme des métabolites intermédiaires (**Bruneton, 2009**).

II.6.2. Actions pharmacologiques

Les alcaloïdes présentent fréquemment de propriétés pharmacologiques marquées et ont de nombreuses utilisations en thérapeutique, notamment au niveau du système nerveux central, du système nerveux autonome et du système cardiovasculaire. Autres effets pharmacologiques sont attribués également aux alcaloïdes telles que l'effet analgésique (cocaïne), anti-cholinergique (atropine), anti-malaria (quinine), anti-hypertensive (réserpine), antitussive (codéine), stimulant central (caféine), dépressant cardiaque, diurétique narcotique (morphine) et sympathomimétique (éphédrine) (**Badiaga, 2011**).

On notera aussi l'existence d'anti-tumoraux, d'antiparasitaires, 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 (**Gazengel et Orecchioni, 2013**).

a. Action cardiovasculaire

L'effet de l'alcaloïde se traduit par une modification du rythme cardiaque:

- Un ralentissement par stimulation du centre cardio-modérateur.
- Une tachycardie sinusale.
- Supprimer le tonus vagal (**Allouni, 2011**).

b. Action sur le système nerveux central

L'atropine a été pendant longtemps le seul médicament à avoir une efficacité dans la maladie de Parkinson. Elle a une action dépressive, hypnotique et amnésiante qui

entraîne à forte dose des troubles de la locomotion ainsi que des troubles de l'élocution et une diminution de la faculté intellectuelle chez l'homme (Allouni, 2011).

c. Action sur la pression artérielle

Une chute de la pression artérielle par dépression des centres vasomoteurs et par vasodilatation cutanée (Allouni, 2011).

d. Action sur l'œil

Dilatation de la pupille par mydriase avec augmentation du diamètre de l'Iris ce qui donne une tendance à l'augmentation de la pression intraoculaire (Allouni, 2011).

II.7. Techniques d'extraction des alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances organiques azotées généralement d'origine végétale, présentant du point de vue chimique un caractère basique plus ou moins prononcé et donnant des réactions générales de formation de composés insolubles ou de formation de substances colorées. Ils sont présents dans les végétaux sous forme de combinaisons généralement avec des acides. La technique classique de leur extraction comporte trois étapes: la pulvérisation de la matière végétale, l'épuisement de la poudre au moyen de solvants appropriés et enfin la purification des produits bruts (Hayouni *et al*., 2007; lobstein, 2010).

Les particularités de l'extraction sont basées sur des principes généraux simples se prêtant à de très nombreuses modalités d'application en fonction des conditions de travail notamment : équipement, solvants, quantités de matière première. Aussi la plupart des alcaloïdes sont extraits en utilisant les caractères de solubilité :

- D'une part la solubilité des alcaloïdes libres dans les solvants organiques non miscibles à l'eau.
- D'autre part la solubilité des sels d'alcaloïdes dans les solvants polaires comme l'eau, l'alcool éthylique.

A partir de ces principes généraux, nous avons retenu deux grands types de méthodes : les méthodes générales et les méthodes spéciales (Bruneton, 2009).

II.7.1. Les méthodes générales

- La première méthode générale d'extraction consiste à traiter directement la poudre végétale par une base qui libère les alcaloïdes présents. Ensuite, par épuisement du

milieu au moyen d'un solvant organique approprié, l'on obtient un extrait qui, après évaporation du solvant donne l'alcaloïde brut. Ce dernier sera soumis enfin à différentes techniques de purification ou de fractionnement quand il s'agit d'un bloc alcaloïdique. Les techniques de purification réalisent de nouveau formation de sels solubles dans l'eau, elles mettent à profit des caractères différentiels de solubilité des divers sels. L'opération finale est la libération de l'alcaloïde par une base (**Hayouni et al.,2007; Lobstein , 2010**).

- La deuxième méthode générale d'extraction traite la poudre végétale directement par de l'eau ou de l'alcool acidulé. Les alcaloïdes vont passer alors dans le solvant sous forme de solution de sels d'alcaloïdes par concentration de la solution, l'on obtient un extrait qui pourra être soumis à plusieurs types de traitement. Un premier type de traitement est la libération de l'alcaloïde par un alcali, suivie de l'épuisement par un solvant organique (**Hayouni et al .,2007 ; Lobstein, 2010**). Un deuxième type de traitement est la précipitation directe de l'alcaloïde à partir de la solution de sel par l'action d'une base, suivie de la séparation par filtration et de la dessiccation du précipité d'alcaloïde ;
- Le troisième type de traitement est la séparation de l'alcaloïde par chromatographie sur colonne : cette séparation réalise dans un premier temps le passage de la solution sur une résine échangeuse d'ions (résine anionique) qui fixe la base. Dans un deuxième temps l'alcalinisation de la résine libère l'alcaloïde qui sera déplacé par un solvant organique approprié. Dans le cas de blocs alcaloïdiques, l'élution à des pH variables permet un fractionnement des différents constituants. Il Convient de signaler aussi que autres traitements comme la précipitation sous forme de complexes métalliques permet tout l'isolement des alcaloïdes (**Hayouni et al., 2007 ; Lobstein, 2010**).

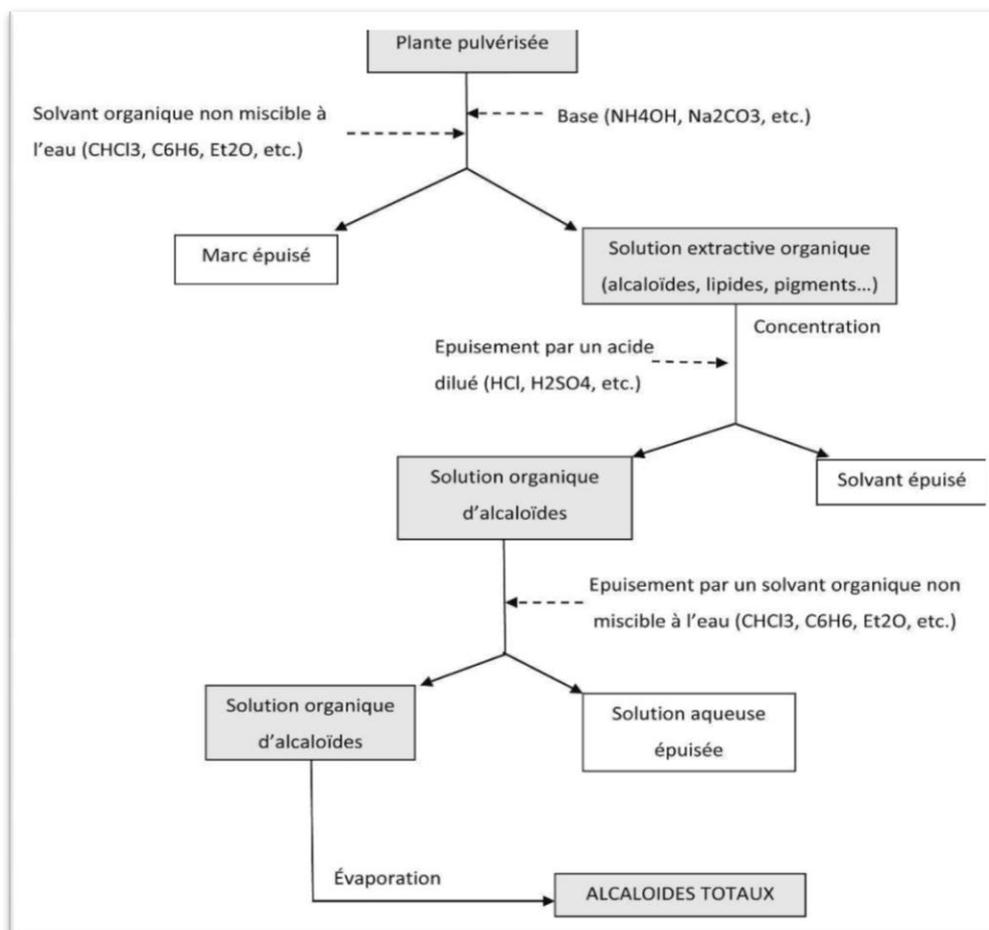


Figure (03) : Principe de l'extraction des alcaloïdes en milieu alcalin (Bruneton,2009).

II.7.2. Les méthodes spéciales

- Pour les alcaloïdes volatils l'extraction est réalisée par traitement de la poudre végétale par de la soude en présence d'éther. L'élimination de l'éther par évaporation à basse température donne un extracteur qui est soumis à la distillation à la vapeur ; l'alcaloïde volatil, comme dans le cas de la nicotine, est alors entraîné par la vapeur (Lobstein ,2010).
- Pour les alcaloïdes donnant des combinaisons avec les bases fixes en raison de la présence d'une fonction phénol, il ne se produit pas de précipitation avec les bases : les phénolates restent solubles dans l'eau (Lobstein, 2010).

II.8. Techniques d'analyse physico-chimiques des alcaloïdes

II.8.1. Chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince est une technique analytique rapide, simple et peu coûteuse, utilisée pour la séparation et parfois l'identification des métabolites. Elle repose principalement sur le phénomène d'adsorption (Diallo *et al.*, 2004).

Elle consiste à placer sur une feuille (papier, silice ou autre) une tache et la laisser élué en la trempant dans un solvant ou un mélange de solvant (appelé éluant) qui diffuse le long du support. La tache migre sur la plaque plus ou moins vite selon la nature des interactions qu'elle subit de la part du support (phase stationnaire) et de l'éluant (phase mobile). Elle est basée sur une interaction de type électrostatique /liaison hydrogène. Le principe du « qui se rassemble s'assemble », souvent rencontré en chimie permet encore d'expliquer ici la nature des phénomènes impliqués. Il n'existe pas de théorie pour la CCM permettant de choisir le bon éluant (c'est lui le plus dur à trouver). La CCM se déroule en trois étapes, préparation de la cuve, préparation de la plaque et l'éluant. Une cuve de chromatographie se compose de la cuve et d'un couvercle. Le couvercle sert d'une part à éviter l'évaporation du solvant mais surtout à réaliser la CCM en atmosphère saturée (Touami., 2017).

Les chromatogrammes sur couche mince (CCM) permettent de vérifier la présence et l'état de pureté des produits suivis. Elles sont composées d'un support en aluminium ou en verre sur lequel a été étendue une fine couche d'un milieu de sorption (par exemple la silice SiO₂) comme phase stationnaire. Ces plaques sont plongées d'environ 0,5 cm dans une phase mobile. Cette dernière est généralement un mélange binaire ou ternaire de solvants, adapté au type de séparation recherchée. Les composés déposés à environ 1 cm du bas de la plaque sont alors humectés et dissous par la phase mobile qui progresse par capillarité le long de la phase stationnaire. Selon la nature des phases mobiles et stationnaires, chaque constituant du mélange à analyser migre d'une certaine hauteur (Milcard, 2013).

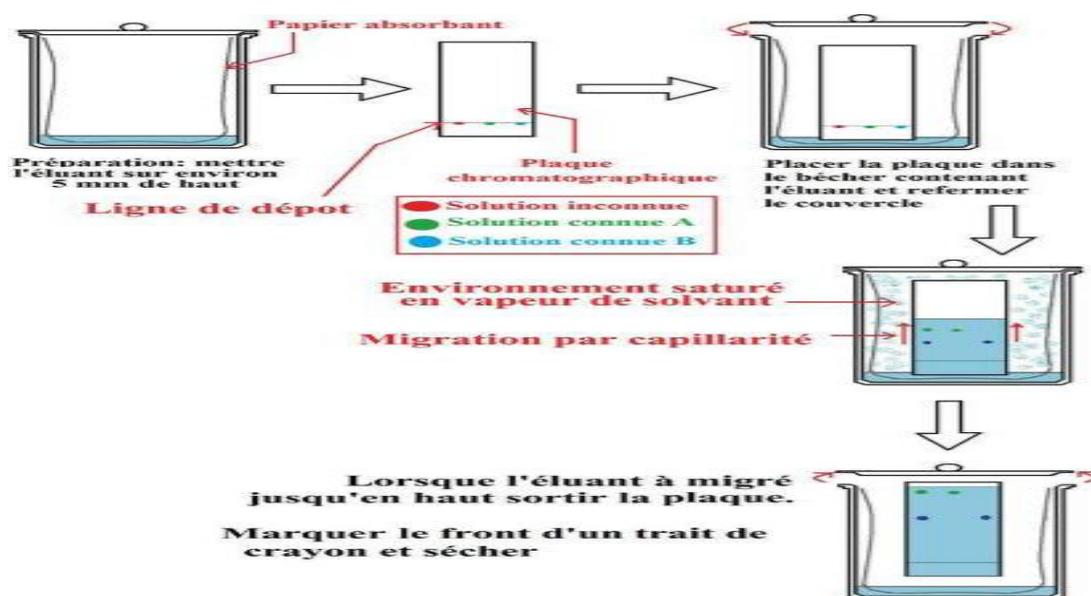


Figure (04) : Principe de chromatographie sur couche mince (Roussac et Roussac ,2016).

Le développement des plaques s'effectue dans des cuves en verre saturées avec l'éluant approprié. Les systèmes de solvants les plus couramment employés sont les suivants (les proportions sont données en volume et ils sont classés par polarité croissante):

- ✓ Toluène/ Méthanol (95:5) + 200 µL de NH₄OH.
- ✓ Dichlorométhane / Méthanol (90:10) + 200 µL de NH₄OH.
- ✓ Butanol/ acide acétique/ eau (4/1/5).
- ✓ Chloroforme/ ammoniaque/ méthanol (8/1.5/0.5).

Ces compositions ne sont bien sûr qu'indicatives et sont souvent adaptées aux besoins spécifiques d'une analyse (Milcard, 2013).

L'observation des CCM s'effectue en lumière visible et sous UV (254 et 365 nm), avant révélation (par le révélateur des alcaloïdes) au réactif de DRAGENDORFF. L'utilisation du réactif de DRAGENDORFF permet également de rassembler judicieusement les fractions récoltées suite aux différentes chromatographies (Milcard, 2013).

II.8.2. Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS)

La chromatographie liquide à haute performance (HPLC) couplée à la spectrométrie de masse (MS) combine les avantages de ces deux techniques, à savoir :

- ✓ **HPLC (High Performance Liquid Chromatography):** haute sélectivité et efficacité de séparation est une forme moderne des méthodes chromatographie dont les institués sont rassemblés sous le vocable général de chromatographie liquide sur colonne, la différence est que la phase mobile est poussée sous haute pression. La HPLC en phase normal : les colonnes dont la phase stationnaire est polaire, la phase mobile est apolaire. Et en phase inverse : la phase stationnaire est apolaire et la phase mobile est polaire (Benmabrouk, 2018).
- ✓ **MS (Mass Spectroscopy):** informations structurales et sélectivité encore augmentée (Milcard, 2013).

Deuxième partie

Partie Pratique

Chapitre I.

Matériel et Méthodes

I.1. Matériels

I.1.1. Matériels végétales

Le matériel végétal utilisé correspond à la partie aérienne composée des tiges et des feuilles de l'espèce *Salvia chudaei* Batt. et Trab. La récolte s'est effectuée à Tamanrasset (Hoggar centre) au printemps 2017

Le séchage s'est fait à la température ambiante, à l'abri de la lumière et de l'humidité afin d'éviter la dégradation des principes actifs et le développement des moisissures (Catier et Roux, 2007). Après séchage, les deux parties de la plante ont été broyées séparément et stockées soigneusement dans un endroit sec en vue de leurs analyses.

I.1.2. Matériels de Laboratoire

Entonnoire	Boîtes de pétrie	Ecouvillon stérile
Spatule	Bec Benzène	Agitateur
Balance électronique	Pipette de Pasteur	Spectrophotométrie UV-Visible
Becher	Pince stérilisée	Tubes sec
Papier filtre	Papier Wattmen	Cuves
Balance analytique	Support	Plaquette de silice
Papier d'aluminium	Tube à essai	Flacon
Appareil de Soxhlet	Autoclave (TIMO)	Appareil de rotavapeur Buchi R-200
ampoule deux cotes	Etuve (Memmert et LABTECH LTB-060M)	Réfrigérateur
Appareil de PH mètre	Micropipette	

I.1.3. Réactifs chimiques et solvants

Dans cette étude nous avons utilisé : Ether de pétrole ; Ammoniaque ; Acide sulfurique ; Dichlorométhane ; chloroforme ; Méthanol ; Butanol ; Acide Acétique et les réactifs chimiques : diméthyle sulfoxyde (DMSO); L'eau physiologique ; Eau distillée ; Réactif de Dragendorff, 2,2'-diphényle -1-picrylhydrazyl (DPPH) ; Vitamine C (Acide ascorbique).

I.1.4. Souches microbiennes testées

L'extrait d' alcaloïde a été testée contre les agents pathogène microbes dont les bactéries : Deux bactéries à Gram-positif (*Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) et *Listeria innocua* (CLIP 74915) et Trois bactéries à Gram-négatif (*Escherichia coli* (ATCC 8737) , *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027) , *Salmonella typhi* (ATCC 14028) et une levure (*Fusarium culmorum*) seront utilisées pour étudier l'activité antimicrobienne d' extrait de plante . cinq souches bactéries obtenues au laboratoire de Pasteur en Algérie et laboratoire des Produits Bioactifs et la Valorisation de la Biomasse de l'ENS Alger ont été testées pour fongique, ils sont conservés dans réfrigérateur contenant milieu nutritive jusqu'à l'utilisation, le **Tableau (II)** représente des caractéristiques des souches microbiennes testées.

Tableau (II) : Description des différentes souches microbiennes testées.

Espèce microbienne	Caractéristiques
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8737	Bacilles à gram négatifs asporules, la famille des entérobactéries, fermentent le lactose et le glucose, responsables des infections urinaires, septicémie méningite du nourrisson, de plaies opératoires et gastro-entérites (Hammoudi, 2015).
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	Bacille aérobie, Gram négatif et très mobile grâce à un flagelle polaire. C'est l'une des bactéries les plus difficiles à traiter cliniquement Il est de plus en plus souvent responsable d'infections nosocomiales (Attia et al., 2015).
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	Bactérie cocci à Gram positif, la famille de <i>Micrococcaceae</i> , immobiles et disposées en amas. espèce saprophyte, responsables d'infections graves communautaires et nosocomiales, d'infections des plaies, de la peau et du sang, des abcès, ostéites, otites, infections urinaires, endocardites, gastro-entérites et infection pulmonaires. acquiert facilement des résistances aux antibiotiques et en particulier à la pénicilline, à la méthicilline1 (MRSA), et aux fluoroquinolones mais sensible au B lactamines (Hart et Shears, 2002; Perry et al., 2004).
<i>Salmonella typhi</i> ATCC 14028	Gram négatif causée une toxi-infection alimentaire (fièvre typhoïde) grave et présente dans l'eau et les aliments contaminés par des matières fécales (Bolou et al., 2011).

<p><i>Listeria innocua</i> CLIP 74915</p>	<p>Petits bacilles à Gram positifs, mobiles à 20-25°C, à extrémités arrondies, elle responsable a Listériose de l'adulte et de l'enfant, Listériose de la femme enceinte et Listériose néonatale (Belila et Ounis, 2018).</p>
<p><i>Fusarium culmorum</i></p>	<p>Le principal caractère morphologique des <i>Fusarium</i> est la présence de macroconidies fusiformes et cloisonnées. Sur milieux usuels le thalle, il donne un mycélium plus ou moins aérien. De couleur rarement blanche ou crème, il peut être ochracé ou plus souvent de colorations vives : rose, rouge ou violet (Aoki et Donnel, 1999). La fusariose est une maladie fongique causée par le <i>F. culmorum</i> qui est incriminées dans l'infection de l'épi (Benattous et Zitouni, 2018). .</p>

I.1.5. Antibiotiques

Pour valoriser l'activité antimicrobienne on utilise les deux antibiotiques de références Ciprofloxacine (5ug /disque) et Imipenem (10 ug/disque).

I.1.6. Milieux de cultures

Nous avons utilisé la gélose nutritive Muller Hinton pour l'étude de la sensibilité des souches bactériennes et la levure a été utilisée dans gélose Sabouraud aux différentes concentrations d'extrait alcaloïdique.

I.2. Méthodes

I.2.1. Extraction des alcaloïdes

Dans notre étude l'extraction est effectuée par l'utilisation d'une méthode générale par un premier type de traitement est la libération de l'alcaloïde par alcalin, suivie de l'épuisement par un solvant organique (**Hayouni et al ., 2007 ; Lobstein, 2010**).

I.2.1.1. Principe

L'extraction des alcaloïdes totaux à partir la partie aérienne (tige + feuillet) de *Salvia chudaei* est basée sur la différence de solubilité des alcaloïdes en milieu acide et alcalin dans l'eau d'une part et d'autre part dans les solvants organiques **Mamadou (2011)**.

I.2.1.2. Mode d'opération

- 100 g de la poudre végétale sont dégraissées par 375 ml d'éther de pétrole par macération et sous agitation mécanique à température ambiante pendant 3 à 4 heures. Après filtration, le marc est alcalinisé par une solution 30 ml d'ammoniaque (0.5N) pendant au moins 24 heures à température ambiante permettant ainsi aux alcaloïdes de passer de la forme sel à la forme organique.
- Les alcaloïdes totaux sont extraits par l'extracteur Soxhlet en utilisant 500 ml de Dichlorométhane. Au moins 5 cycles sont nécessaires pour un épuisement total des graines.
- A l'issue de cette opération, l'extrait brut est lavé trois fois successif par une solution de 150 ml d'acide sulfurique (0.5N) pour chaque volume, les trois fractions sont reprises dans une ampoule à décantation, alcalinisées jusqu'à pH 9 par l'ajout de quelques ml d'ammoniaque (0.5N).
- Nous épuisons ensuite trois fois la solution par 150 ml de chloroforme, en agitant doucement l'ampoule à chaque fois.
- L'extrait recueilli dans un bêcher taré est évaporé à sec sur rotavapeur . Après refroidissement, nous pesons à nouveau le bêcher. Après quelque jours, on obtenir d'extrait sous forme de pâte.
- Le résidu sec représente les alcaloïdes totaux (**figure 06**). Selon **Mamadou (2011)**.

I.2.1.3. Détermination de rendement

Nous pouvons déterminer le rendement des extraits alcaloïdes secs des parties aériennes de *Salvia chudaei* en calculant le rapport suivant (**Mamadou, 2011**) :

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{P1-P2}{P3} \times 100$$

- P1: poids du ballon après évaporation;
- P2: poids du ballon vide;
- P3: poids de la matière végétale de départ.

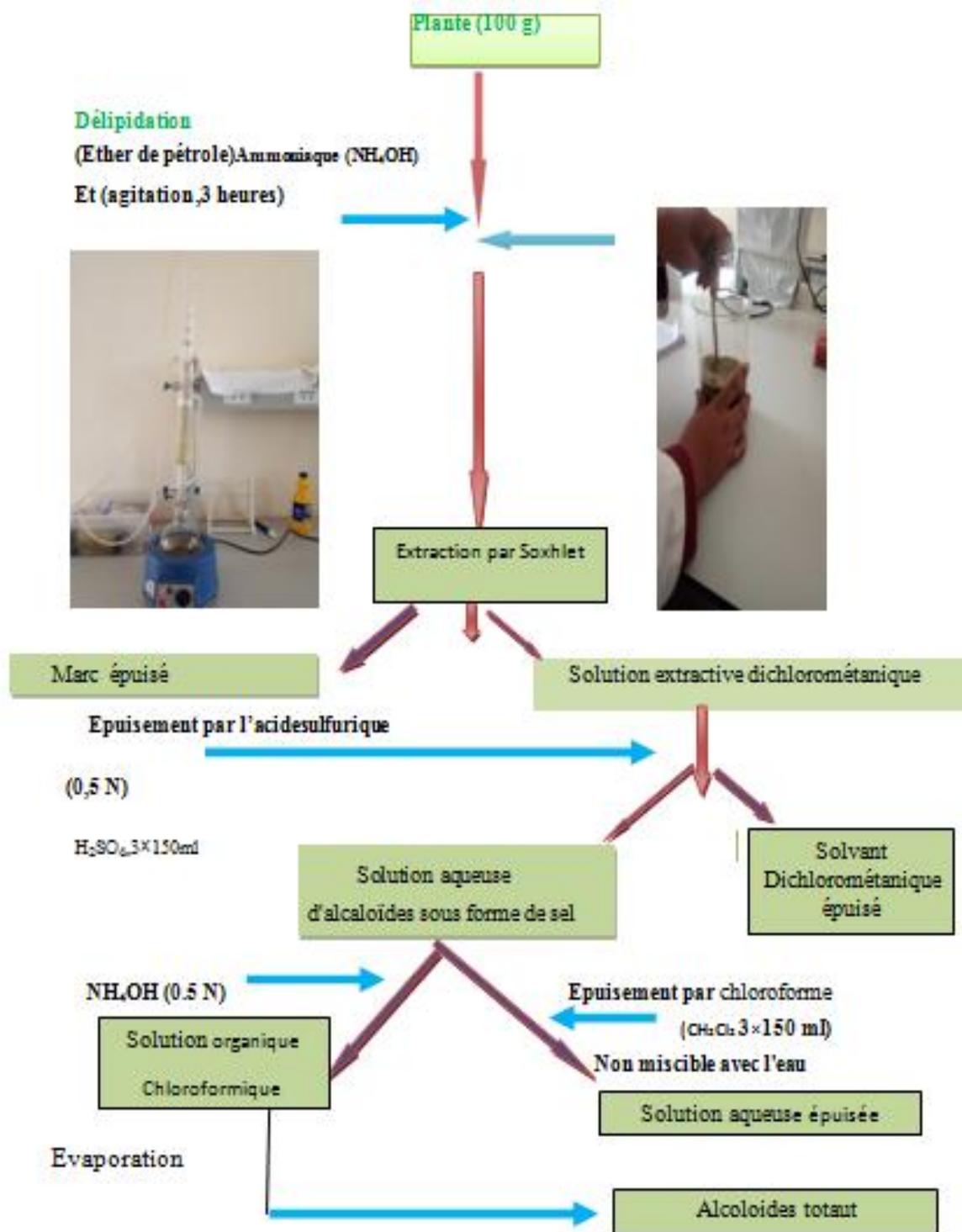


Figure (05) : Extraction des alcaloïdes totaux à partir des parties aériennes *Salvia chudaei* (Mamadou, 2011).

I.2.2. Analyse qualitative par chromatographie sur couche mince (CCM)

Les analyses sont effectuées en phase normale, avec des plaques de silice (Silica gel 60 F-254, de 0,25 mm d'épaisseur) déposées sur des feuilles d'aluminium, ce qui constitue la phase stationnaire. Sur les plaques commercialisées, on a déposé 10 µL de l'extrait (2.5 mg/ml dans le méthanol) et ensuite introduits dans des cuves conventionnelles en verre préalablement saturée par les phases mobile, qui est un mélange ternaire de solvants, selon le type de séparation recherchée (**Diallo et al., 2004**). Dans notre étude, deux systèmes de solvants ont été utilisés **Tableau (III)** (**Bouzidi et al., 2011; Tili, 2015**).

Tableau (III) : Systèmes solvants utilisés pour la CCM de gel de silice.

Phase mobile	Solvants	Proportions
1	Méthanol /chloroforme / ammoniacque	(7,9/2/0,1) (V/V/V))
2	Butanol/acide acétique/eau	(4/1/5) (V/V/V)

Après développement, les plaques CCM sont séchées, observées sous lampe UV à 254 nm et 365 nm, puis pulvérisées par le révélateur (Dragendorff) et ré-observées sous lampe UV à 254 nm et 365 nm.

La valeur du **Rf** est définie comme suit : (**Tidjani., 2016**)

$$Rf = \frac{\text{La distance entre l'origine et la tache du produit.}}{\text{La distance entre l'origine et le front du solvant.}}$$

I.2.3. Evaluations Activités biologiques

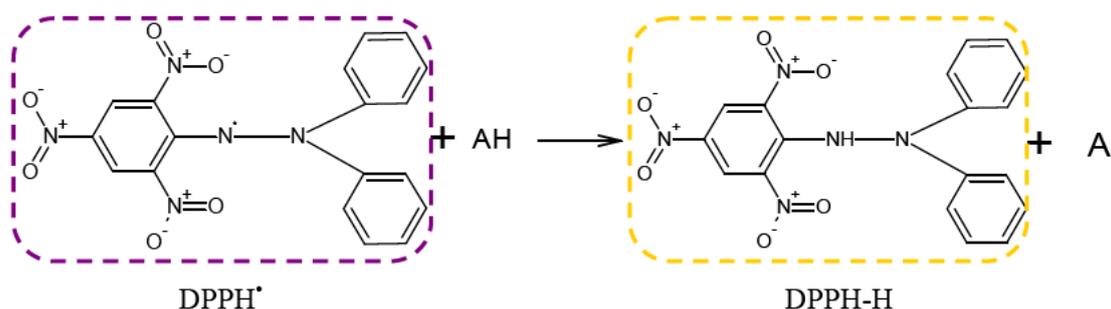
I.2.3.1. Activité antioxydants (Test de piégeage du radical DPPH)

Afin d'étudier l'activité antiradicalaire des différents extraits de *Salvia chudaei* à été évaluée .in vitro, par test de DPPH, nous avons utilisé la méthode basée sur le DPPH' (diphénylpierylhydrazyl) comme radical relativement stable, selon le protocole décrit par **Ladoh et al., (2018)**.

Dans ce test, les antioxydants réduisent le diphényl picryl-hydrayl ayant une couleur violette en un composé jaune, le diphényl picryl-hydrazine (**Sanchez-Moreno,2002**), dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité

des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons. Ainsi plus la perte de couleur est rapide plus le donneur d'hydrogène est considéré comme un antioxydant fort (Mansouri *et al.*, 2005).

Le DPPH est caractérisé par son adaptation à plusieurs échantillons dans une courte durée, aussi il est assez sensible pour détecter les ingrédients actifs à des basses concentrations, à cet effet, il a été employé pour le criblage des activités antiradicalaire des extraits végétaux (Yi *et al.*, 2008).



AH = l'antioxydant DPPH• = 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl

Figure (06) : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH (Michel, 2011).

Le test de piégeage du radical libre DPPH est réalisé sur la partie arienne de *Salvia chudaei*. Un volume de 50 µl de l'échantillon à différentes concentrations (0.5, 1, 2.5 et 5 mg/ml) est ajouté à 1.95 ml de la solution du DPPH (2 mg dans 100 ml méthanol). Parallèlement, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 50 µl de méthanol avec 1.95 ml de la solution de DPPH. La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé pour chaque concentration à 517 nm après 30 min d'incubation à l'obscurité. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard qui est l'acide ascorbique (Vitamine C) est comprises entre (0,04, 0,06, 0,08, 0,1 et 0,12 mg/ml) dont l'absorbance est mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration, le test est répété 3 fois. (Gheffour *et al.*, 2015).

L'inhibition du radical libre de DPPH en pourcentage (I%) a été calculé de la manière suivante (Ladoh *et al.*, 2018):

$$I \% = [(Abs\ contrôle - Abs\ extrait) / Abs\ contrôle] \times 100$$

- **Abs contrôle :** absorbance du contrôle (solution du DPPH sans extrait).

- **Abs extrait:** absorbance en présence d'extrait.

Une courbe des concentrations de l'extrait en fonction du pourcentage d'inhibition a été tracée afin d'obtenir l'index IC₅₀. CE paramètre est défini comme la concentration en composés (mg/ml) requise pour diminuer la concentration du DPPH initiale de 50% (Etame *et al.*, 2018). Plus la valeur d'IC₅₀ est petite, plus l'activité de l'extrait testé est grande (Pokorny *et al.*, 2001).

I.2.3.2. Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne des alcaloïdes de *Salvia chudaei* a été testée à différentes concentrations vis-à-vis de quelques microorganismes (Bactéries, Levure).

a. Détermination de diamètre de zone d'inhibition

Evaluation l'activité antimicrobienne de différentes concentrations (0,5 mg/ml ; 1 mg/ml ; 2,5 mg/ml ; 5 mg/ml) d'extrait d'alcaloïde réalisée par la méthode de diffusion en milieu gélose (Treki *et al.*, 2009) . Cette technique est repose sur l'apparition d'un zone d'inhibition de la croissance bactérienne et fongique autour les six souches ciblés : *Escherichia coli* ; *Pseudomonas aeruginosa* ; *Staphylococcus aureus* ; *Salmonella typhi* ; *Listeria innocua* ; *Fusarium culmorum*. autour du disque contenant extrait de la plante (Bssaibis *et al.*, 2009).

b. Préparation des extraits

La différent concentration (0.5mg/ml ; 1mg/ml; 2.5mg/ml ;5mg/ml) de l' extrait alcaloïde de *Salvia chudaei* ont été prépare par DMSO (diméthylsulfoxyde) (Meddour *et al.*, 2013).

c. Préparation des disques

Les disques sont préparés à partir de papier de wattman N°3, avec un diamètre de 6 mm. Ensuite ils sont mis dans un tube à essai, et stérilisés à l'autoclave et conserve jusqu' à l'utilisation.

d. Préparation le milieu de culture

On met le milieu de culture (Muller Hinton ; Sabouraud) dans l'autoclave pendant 15 min pour soluté et stérile, puis verser dans les boîtes de Petrie à peu 4 mm de hauteur et laisser quelques minutes jusqu'à sécher (**Harrar, 2012**).

e. Préparation d'Inoculum

- ❖ Les souches microbiennes ont été ensemencées par stries sur milieu à base de gélose nutritive (Gélose Mueller Hinton, Gélose Sabouraud) ; après incubation 18 heures à 37C⁰ (**Bendahou et al., 2007**) racler Par d'une pipette de pasteur , quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques (**Daouadji, 2010**).
- ❖ Décharger pipette pasteur dans 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9%, bien homogénéiser et l'opacité de la suspension microbienne ainsi obtenue doit être équivalente à une DO de 0.15 à une longueur d'onde de 600 nm (concentration de 10⁷ à 10⁸ germes /ml) (**Reghioua et al., 2006 ; Hellah, 2011**).
- ❖ L'ensemencement doit se faire en moins de quelque min après la préparation de l'inoculum (**Daouadji, 2010**).

f. Ensemencement

- ❖ La culture se fait dans un milieu stérile en présence de bec benzène;
- ❖ 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 le tournant sur la paroi interne du tube, afin de la décharger au maximum ;
- ❖ Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas ;
- ❖ Répéter l'opération trois fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même .Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose ;
- ❖ Les disques sont disposés sur la surface de la gélose à l'aide d'une pince stérilisée au bec benzène (4 disque de l'extrait) (**Daouadji , 2010**));
- ❖ Comme référence on pose dans une boîte 2 disques d'antibiotique et 1 disque DMSO comme témoin sur chacune des souches microbiennes utilisées.

g. Incubation et Lecture

A la fin de la durée d'incubation (18-24h) heures à 37C⁰ pour les souches bactériennes (Choi *et al.*, 2006). et 48h pour la levure à 30C⁰ de dispose les boites dans l'étuve Chaque expérience est répétée trois fois, en même temps et au même endroit (Yamaç et Bilgili, 2006).

Toute Activité antimicrobienne se manifesterait par la formation d'un halo d'inhibition autour du disque où la culture est absente ; c'est ce qu' on appelle diamètre d'inhibition qui sera alors mesuré en millimètres et comparé avec des diamètre de référence relatifs aux antibiotiques utilisés (Rahal, 2005).

II.3. Analyse statistique

Les analyses de la variance ont été réalisées par le logiciel Excel 2007. Toutes les expériences ont été faites en triple, les résultats ont été présentés par la moyenne avec son écart type.

Chapitre II.

Résultats et Discussion

II.1. Résultats

II.1.1. Rendement d'extraction

Le plante *Salvia chudaei* a été soumise à l'extraction par Soxhlet des alcaloïdes totaux à partir des parties aériennes, nous a permis d'obtenir un extrait de couleur vert-brune et d'une odeur puissante avec un rendement d'extraction de 0,116 %. Cette valeur est similaire du rendement des alcaloïdes de même espèce trouvé par (Benattous et Zitouni, 2018).

II.1.2. Analyse qualitative par chromatographie sur couche mince (CCM)

Pour une caractérisation physico-chimique partielle d'extrait des alcaloïdes du *Salvia chudaei*, une analyse par chromatographie sur couche mince a été réalisée.

Les systèmes de migration utilisés sont :

- ✓ Phase 1: Méthanol / chloroforme / ammoniacque (7,9, 2, 0,1)
- ✓ Phase 2: Butanol / acide acétique / eau (4, 1, 5).

Le tableau (IV) représente les différentes valeurs des facteurs de rétention (Rf) et les couleurs caractéristiques des composés séparés à partir de partie aérienne de *S. chudaei* sous la Phase mobile 1.

Tableau (IV) : Résultats de CCM des alcaloïdes de *Salvia chudaei* par la Phase 1

Phase mobile 1 : Méthanol /chloroforme / ammoniacque (7,9 / 2 / 0,1)				
Rf	Observation Visuel	Fluorescence à 254 nm	Fluorescence à 365 nm	Dragendorff
0,61	Jaune	-	-	-
0,62	-	-	Bleu	-
0,66	Brune clair	-	-	-
0,69	-	bleu	-	-
0,72	-	-	Bleu	-
0,76	-	Violet	-	-
0,77	-	-	Bleu	-
0,88	Jaune	-	-	-

Les rapports frontaux (Rf) des différents composés de plante étudiée dans la phase mobile 2 sont représentés dans le tableau (V).

Tableau (V) : Résultats de CCM des alcaloïdes de *S. chudaei* par Phase mobile 2

Phase mobile 2 : Butanol / acide acétique / eau (4 / 1 / 5)				
Rf	Observation Visuel	Fluorescence à 254 nm	Fluorescence à 365 nm	Dragendorff
0,38	-	-	Vert	-
0,41	-	Bleu	-	-
0,48	Jaune	-	-	-
0,5	-	-	Bleu	-
0,51	-	-	Bleu	-
0,6	jaune	-	-	-
0,64	Jaune foncé	-	-	-
0,68	Brune	-	-	-
0,72	Jaune clair	-	-	-
0,75	-	Bleu	-	-
0,81	Jaune clair	-	-	-
0,82	-	-	Violet	-
0,88	-	-	Vert	-

Les résultats de l'analyse chromatographique ont permis de mettre en évidence la présence des alcaloïdes. L'extrait de *S. chudaei* semble avoir des différents types des alcaloïdes, mais avec des concentrations différentes selon l'intensité des tâches obtenues. Ce qui confirme la richesse d'extrait en ce métabolite secondaire.

La plaque de CCM de système de butanol / Acide acétique / eau (**photo 02**) révèle 13 tâches différentes, alors que le système de méthanol / chloroforme / ammoniacal (**photo 03**) montre seulement 8 tâches.

La phase mobile 2 nous a permis d'avoir une bonne séparation chromatographique et une visibilité acceptable des spots.

Les tâches qui sont apparues sous forme de spots colorés sous la lampe UV 365 nm laissent suggérer que les spots de couleur bleu, bleu-vert ou violet fluorescent sont : Ajmaline, Raubasine et Réserpine (**Galand et al., 2002**).



Photo (02) : chromatogramme d'extrait d'alkaloïde du *S. chudaei* de phase mobile 2 à 365 nm

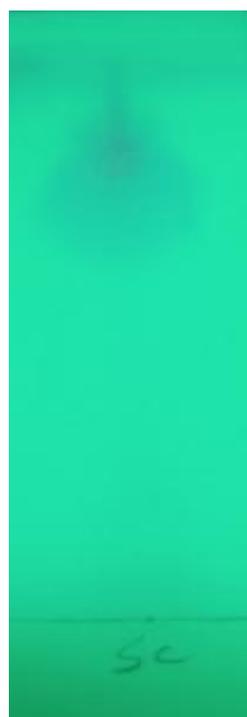


Photo (03) : chromatogramme d'extrait d'alkaloïde du *S. chudaei* de phase mobile 1 à 254 nm



photo (04) : chromatogramme d'extrait alcaloïde du *S. chudaei* de phase mobile 2 par observation visuel



photo (05) : chromatogramme d'extrait alcaloïde du *S. chudaei* de phase mobile 1 par observation visuel

II.1.3. Evaluation biologique

II.1.3.1. Activité antioxydante (Test de piégeage du radical DPPH)

L'activité antioxydante de notre extrait a été évaluée par le 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 alcaloïdes. Dans ce test on utilise l'acide ascorbique comme standard, les résultats des pourcentages d'inhibitions (I %) de standard et de l'extrait sont représentés dans **la figure (08 et 09)** respectivement.

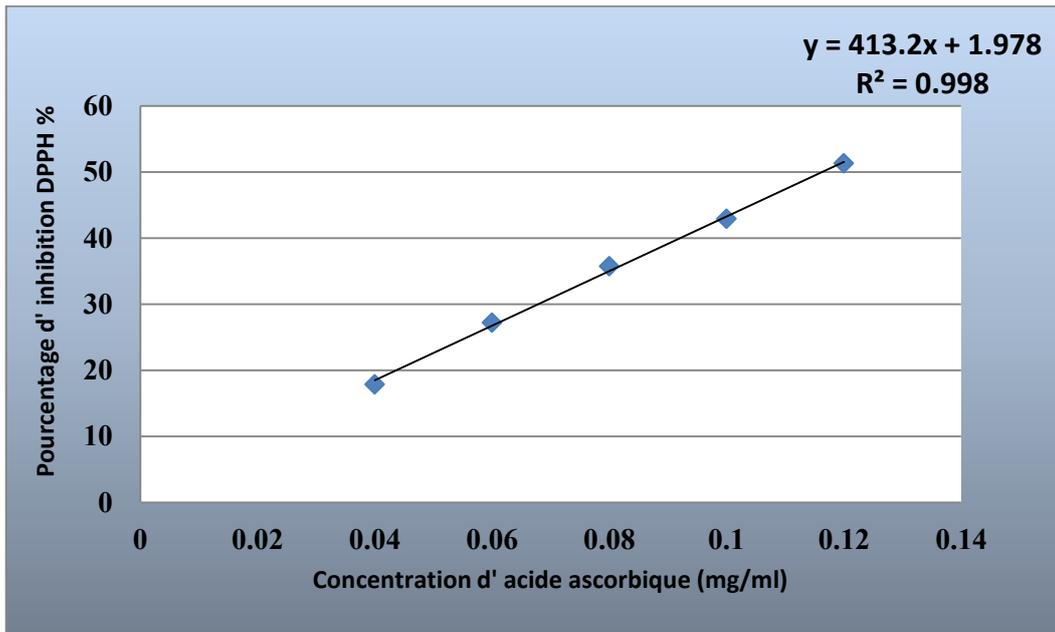


Figure (07) : Résultat du pourcentage de l'inhibition de DPPH pour l'acide ascorbique

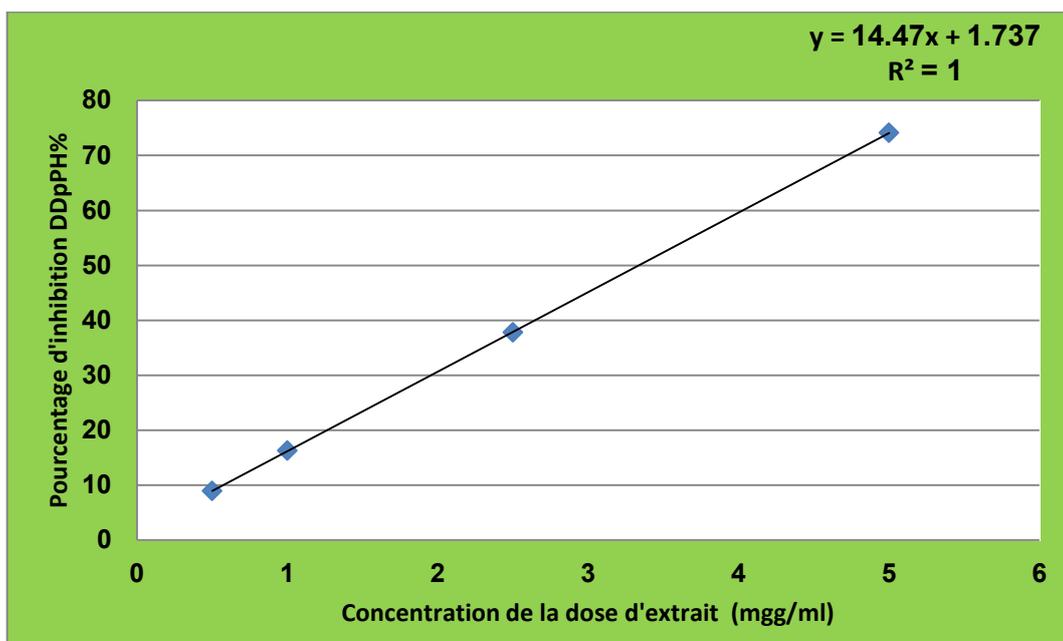


Figure (08) : Résultat du pourcentage d'inhibitions de DPPH pour des alcaloïdes de *Salvia chudaei*

D'après le figure dissous de l'acide ascorbique et de l'extrait alcaloïde de *Salvia chudaei*, nous avons calculé les moyennes de concentration d'inhibitrice IC₅₀ et l'écart type de trois répétitions sont représenté dans **la figure (10)**.

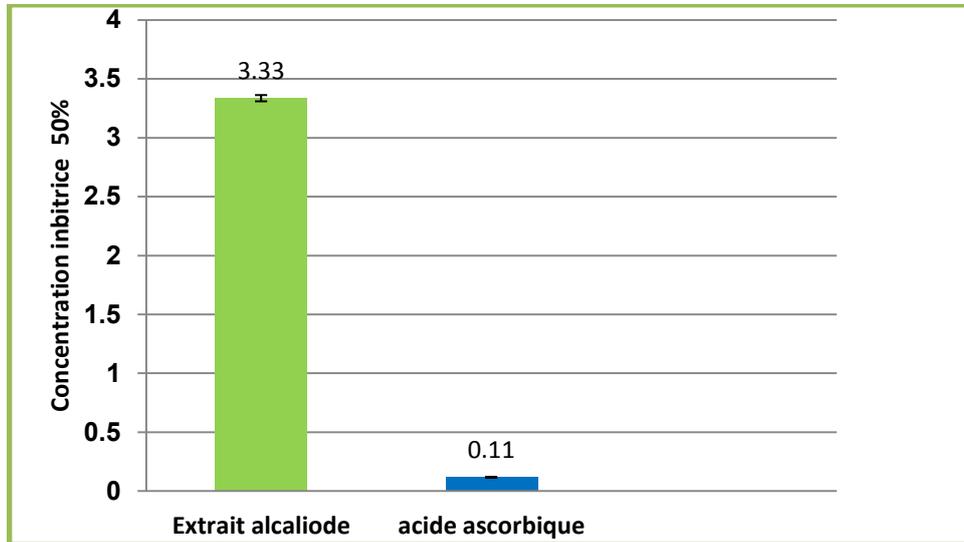


Figure (09) : Histogramme des résultats de concentrations inhibitrices 50 % de DPPH d'extrait alcaloïde de *Salvia chudaei*

Les résultats de concentrations inhibitrices de 50 % de DPPH, révèle que le pouvoir antiradicalaire de l'extrait d'alcaloïde de *Salvia chudaei* est modère ($3,33 \pm 0,026$) par rapport l'acide ascorbique ($0,11 \pm 0,0013$) qui montre une activité très puissant.

II.1.3.2. Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne de l'extrait alcaloïdique de *Salvia chudaei* est testée vis-à-vis de cinq souches bactériennes et une souche fongique via la méthode de diffusion sur disque.

a. L'effet des alcaloïdes de *S. chudaei* contre *Salmonella typhi*

D'après de **la figure (11)**, la bactérie *Salmonella typhi* (Gram négatif) est sensible d'extrait d'alcaloïde de *Salvia chudaei* de la dose (5mg/ml) dont le diamètre de zone d'inhibition ($11 \pm 0,66$) et les antibiotiques possède un effet considérable Ciprofloxacine 5ug (**ATB2**) ($31 \pm 0,66$) et Imipenem 10ug (**ATB1**) ($38,66 \pm 0,22$). Nous remarquons que l'extrait d'alcaloïde exerce un effet remarquable sur la souche testée.

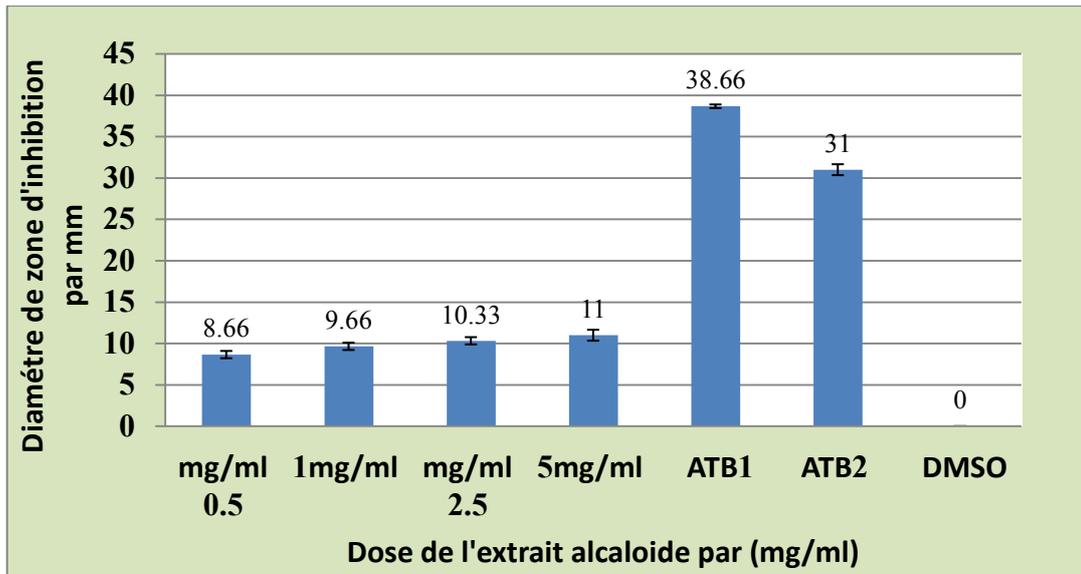


Figure (10) : Résultats de l'effet antimicrobien des alcaloïdes de *S. chudaei* contre *Salmonella typhi*

b. L'effet des alcaloïdes de *S. chudaei* contre *Pseudomonas aeruginosa*

Le résultat de la figure (12) révèle que l'extrait d'alcaloïde de *Salvia chudaei* dans la dose (5mg/ml) présente un grand diamètre de zone d'inhibition (10,33 ± 0,44 mm), par contre les antibiotiques donnent un effet remarquable, dont Ciprofloxacine 5ug (ATB2) (35,66± 0,88) et Imipenem 10ug (ATB1) (36,66 ± 0,88). Ceci peut s'expliquer l'effet antimicrobienne de l'alcaloïde modéré par rapport les antibiotiques utilisées.

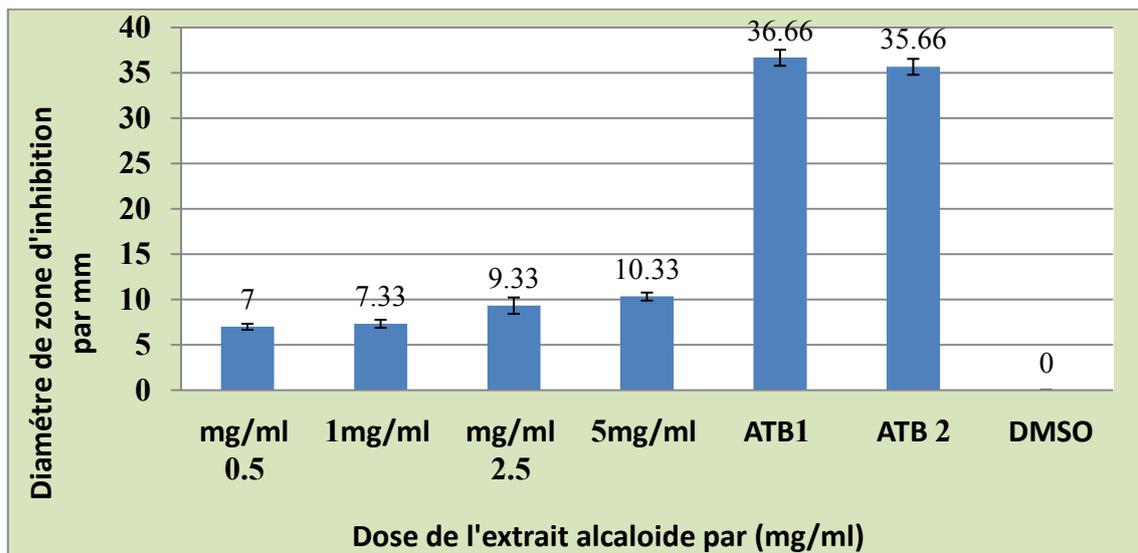


Figure (11) : Résultats de l'effet antimicrobien des alcaloïdes de *S. chudaei* contre *Pseudomonas aeruginosa*

c. L'effet des alcaloïdes de *S. chudaei* contre *E. coli*

D'après la **figure (13)**, le diamètre de zone d'inhibition d'extrait d'alcaloïde de *Salvia chudaei* est d'ordre de $10,66 \pm 0,44$ mm, alors que les antibiotiques possèdent un effet considérable Ciprofloxacine 5ug (**ATB2**) ($36,33 \pm 1,77$ mm) et Imipenem 10ug (**ATB1**) ($40,33 \pm 0,11$ mm). Nous remarquons que l'extrait d'alcaloïde exerce un effet modéré sur la souche testée par rapport aux antibiotiques référencés.

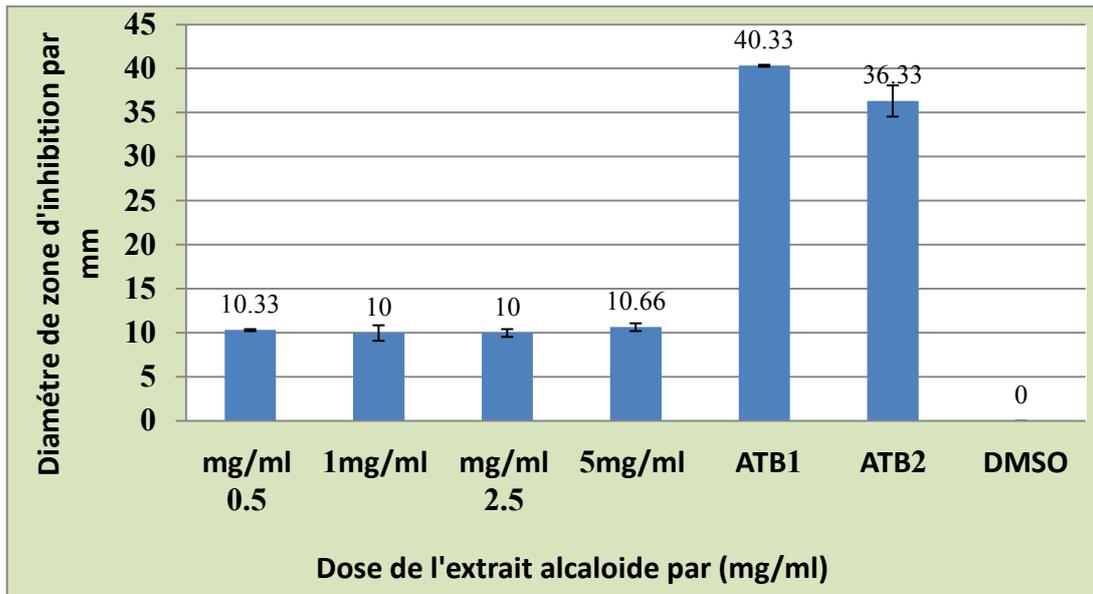


Figure (12) : Résultats de l'effet antimicrobien des alcaloïdes de *S. chudaei* contre *Escherichia coli*

d. L'effet des alcaloïdes de *S. chudaei* contre *Staphylococcus aureus*

Nos résultats illustrés par la **figure (14)** représentent que l'extrait d'alcaloïde de *Salvia chudaei* possède une activité similaire pour les différentes doses testées (5 mg/ml, 2,5 mg/ml et 1 mg/ml) avec un diamètre de la zone d'inhibition de l'ordre de $7 \pm 0,33$ mm. Cette extrait de l'alcaloïde possède l'effet antimicrobienne moyenne par rapport aux antibiotiques référencés dont Ciprofloxacine 5ug (**ATB2**) ($35,33 \pm 0,44$ mm) et Imipenem 10 ug (**ATB1**) ($39,66 \pm 0,88$).

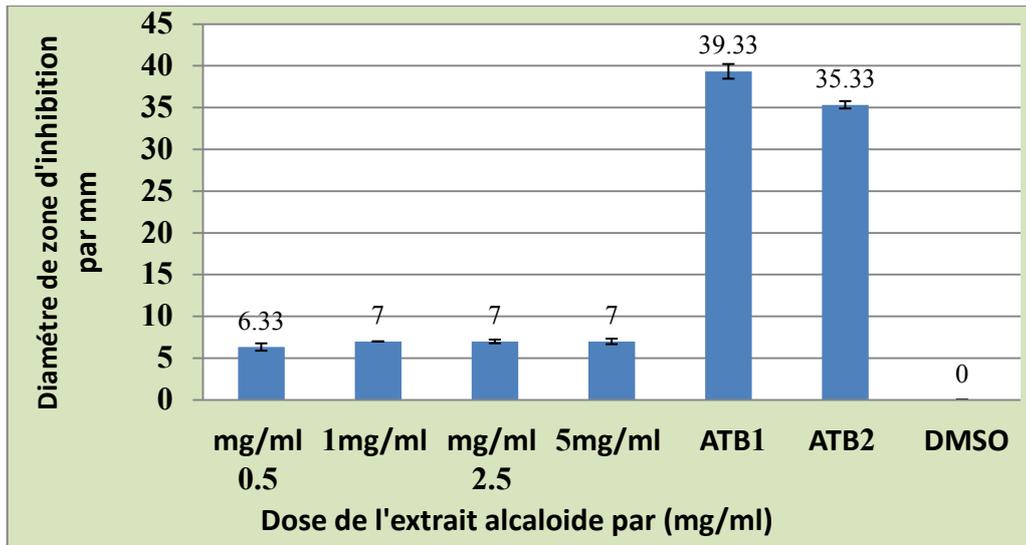


Figure (13) : Résultats de l'effet antimicrobien des alcaloïdes de *S. chudaei* contre *Staphylococcus aureus*

e. L'effet des alcaloïdes de *S. chudaei* *Listeria innocua*

Le résultat de la **figure (15)** révèle que l'effet antimicrobienne d'extrait d'alcaloïde de *Salvia chudaei* est dose-dépendant, nous avons observé le maximum d'activité est de l'ordre de $10,66 \pm 0,77$ mm (5mg/ml).

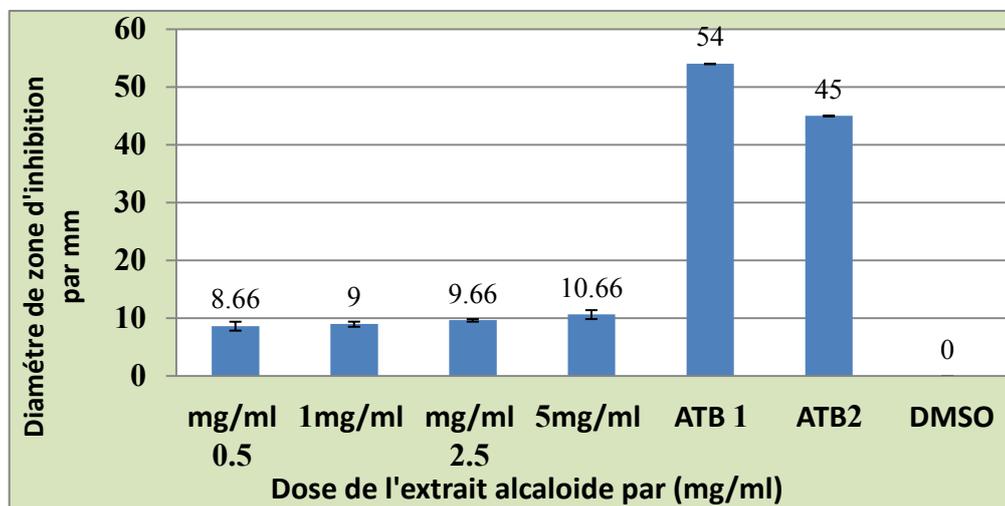


Figure (14) : Résultats de l'effet antimicrobien des alcaloïdes de *S. chudaei* contre *Listeria innocua*

f. L'effet des alcaloïdes de *S. chudaei* contre *Fusarium culmorum*

Nos résultats illustrés par la **figure (16)**, représentent que le *Fusarium culmorum* possède un effet puissante pour cette l'extrait ($12 \pm 0,33$ mm) de la dose 5 mg/ml. Nous

remarquons que l'extrait d'alcaloïde exerce un effet remarquable sur la levure testée par rapport les antibiotiques Ciprofloxacine 5ug (ATB2) ($39 \pm 0,33$ mm) et Imipenem 10ug (ATB1) ($51,66 \pm 0,44$ mm).

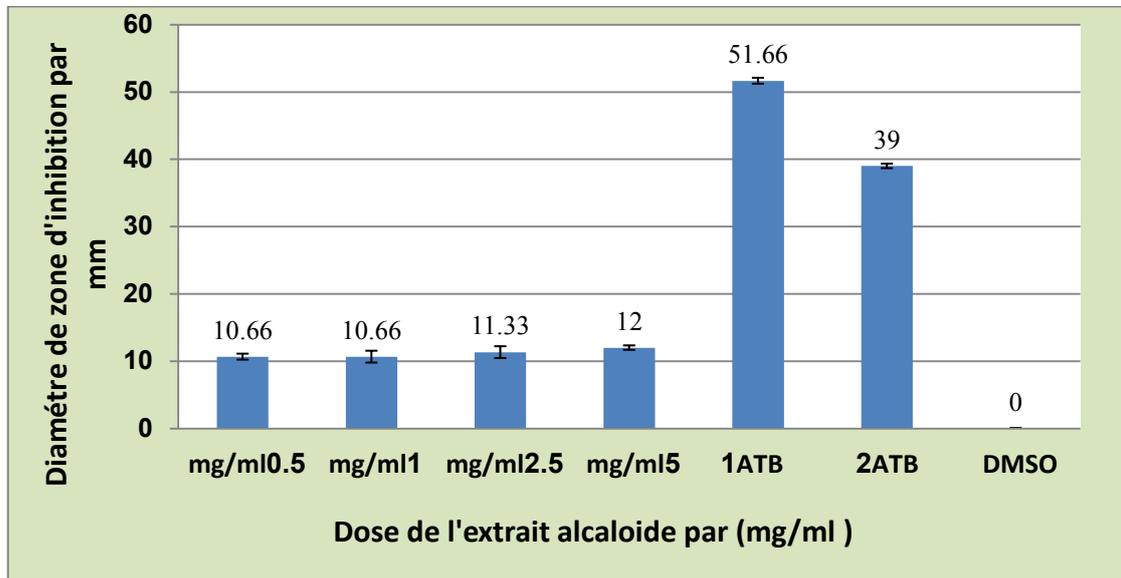


Figure (15) : Résultats de l'effet antifongique des alcaloïdes de *S. chudaei* contre *Fusarium culmorum*

g. Etude comparative des pouvoir antimicrobienne sur différents souches

Résultats de la figure (17) nous avons comparée sensibilité de les souches microbiens testés en fonction de la dose 5 mg/ml d'extrait alcaloïde de *Salvia chudaei*.

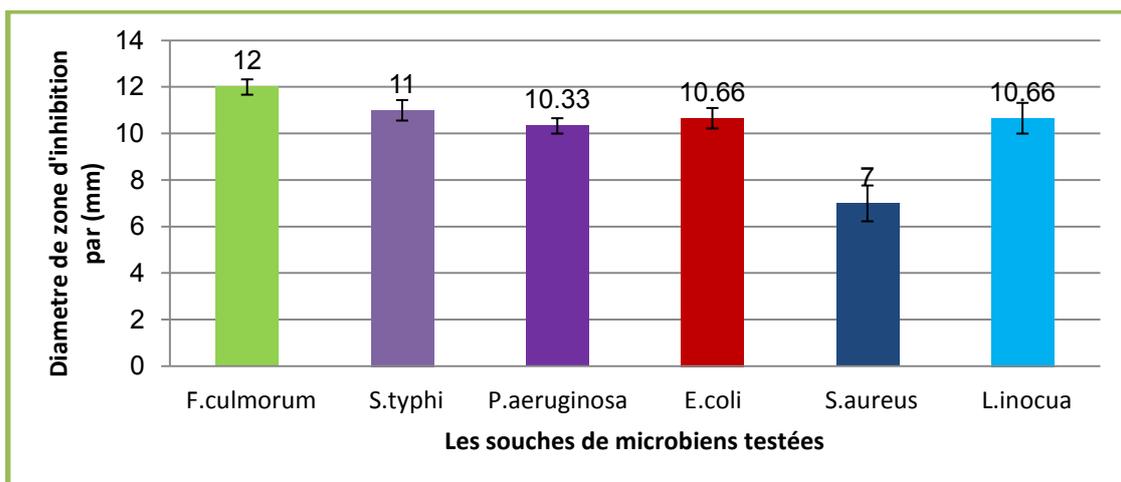


Figure (16) : Résultats de l'effet antimicrobien des alcaloïdes de *S. chudaei* contre les souches microbiennes testées.

Ces résultats révèlent que l'extrait alcaloïde de partie aérienne du *S. chudaei* possède des propriétés antimicrobiennes importantes, et la souche *F. culmorum* est la plus sensible de diamètre de zone de $12 \pm 0,33$ mm, par contre la souche la plus résistante est *S. aureus* d'un diamètre de l'ordre $7 \pm 0,33$ mm du zone d'inhibition.

II.2. Discussion

II.2.1. Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction alcaloïdique de partie aérienne de *S. chudaei* est de 0,116 %. C'est un rendement inférieur à celui obtenu par **Andersen et Markham (2018)** de l'extraction à froid par simple macération des alcaloïdes de *Ruta montana* 0,27 %, et moins important par rapport aux valeurs trouvées par **Benkiki (2006)** sur la partie aérienne de *Ruta montana* est de 3,4 %.

Nos résultats sont similaires avec les travaux **Allouni (2011)** qui trouve un taux d'alcaloïde de 0,1 % à partir des graines de *Datura stramonium*.

D'une manière générale, le rendement de l'extraction varie en fonction de l'espèce végétale, l'organe utilisé dans l'extraction, les conditions de séchage, le contenu de chaque espèce en métabolites (de son métabolisme) (**Mohammedi, 2012**).

La méthode d'extraction adoptée et les réactifs spécifiques utilisés pouvant agir sur le rendement total d'alcaloïdes (**Bougoffa, 2006**), et le stade de croissance de la plante, les conditions pédoclimatiques et édaphiques de la région, la température et la durée de séchage (**Allouni, 2018**).

L'utilisation de Soxhlet à la température pendant plusieurs heures qui peut dégrader certains constituants sensibles et de la nature du solvant utilisé dans l'extraction ou fractionnement et de sa polarité et la taille des particules et coefficient de diffusion de solvant (**Andersen et Markham, 2006**).

II.2.2. Analyse qualitative par chromatographie sur couche mince

L'analyse physico-chimique par chromatographie sur couche mince de l'extrait alcaloïde a été réalisée sur deux phases mobiles différentes.

Les résultats montrent que la présence de 13 taches pour la phase 2 et 8 taches pour la phase 1, ce qui montre la richesse de l'extrait en compositions d'alcaloïdes.

Des travaux antérieurs sur la même plante (**Benattous et Zitouni, 2018**), qui trouvent deux taches de l'extrait de *Salvia chudaei* donnent une coloration rouge et une R_f (0,5) et (0,63) respectivement, sous UV 365 nm, par contre nous avons remarqué que notre extrait présente cinq composés de différentes colorations dont le premier composé donne une

coloration vert et une Rf (0.38) et les C2 et C3 et C4 possèdent une coloration bleu ,bleu et violet respectivement et une Rf (0,5), (0,51) et (0,82) respectivement comme : Ajmaline, Raubasine et Réserpine. (**Galand et al., 2002**). Et le C5 a une coloration verte et un Rf (0,88).

Donc on peut conclure que les alcaloïdes présents dans notre extrait est : Ajmaline, Raubasine et Réserpine (**Benattous et Zitouni, 2018**).

Il n'est pas possible de comparer un Rf obtenu avec les valeurs signalées dans la littérature car les valeurs de Rf observées sont difficilement reproductibles, elles sont influencées par de nombreux facteurs (température, humidité, La phase stationnaire, et la phase mobile...) difficiles à contrôler (**Benattous et Zitouni, 2018**).

Par comparaison avec d'autre espèce de famille (Asclepiadaceae), **Madiélé et al., (2014)** montre que la chromatogramme d'extrait d'alcaloïde de *Enantia chlorantha* fait ressortir sept taches à différents couleurs, alors que **Sanogo et al. (2014)** trouve seulement quatre taches au niveau de chromatogramme d'extrait d'alcaloïde de *Argemone mexicana L.* dans le phase mobile BAW (*n*Butanol, Acide acétique, Eau) (40, 10, 50).

En général, les constituants chimiques diffèrent selon la partie de plante aussi d'une espèce à l'autre (**Bougar et Belkacem kourmi, 2016**). Les différences de nombre des taches et leurs couleurs peut expliquer par la variabilité de solubilité des alcaloïdes dans les différents systèmes des phases mobiles (**Dehak, 2013**). Les alcaloïdes en générale sont solubles dans les solvants organiques par un ordre de solubilité chloroforme >acétone > éthanol > méthanol > éthyl acétate >éther > n-hexane, alors que Les sels d'alcaloïdes sont généralement solubles dans l'eau et les alcools dilués, ils sont insolubles dans les solvants organiques apolaires, sauf rares exception (**Afoun et Ammour, 2017**).

Les analyses qualitatives par chromatographie sur couche mince (CCM) seulement est insuffisante pour identifier exactement les différents types des alcaloïdes constituent dans notre extrait, pour bonne identification il faut ajouter des analyses par des techniques plus développé tell que HPLC et RMN.

II.2.3. Evaluation biologique

II.2.3.1. Activité antioxydante

Dans ce test les antioxydants réduits décolorent le radical DPPH, en le transformant en un composé jaune le diphenyl picryl hydrazine. L'ampleur de la réaction dépendra de la capacité des antioxydants à donner l'hydrogène (**Ardestani et**

Yazdanparast, 2007). L'activité antioxydante de l'extrait alcaloïdes isolées de partie aérienne de *Salvia chudaei* et l'acide ascorbique (standards) est évalué par l'IC₅₀.

L'IC₅₀ est le pouvoir antioxydant de l'extrait testé sont inversement proportionnelles. La valeur d'IC₅₀ de l'acide ascorbique est proche de celle trouvée par **Tlili (2015)** qui est de l'ordre de $0,079 \pm 0,0008$ mg/ml.

En comparant les IC₅₀ d'extrait de partie aérienne de *Salvia chudaei* par rapport à celle de l'acide ascorbique, nous remarquons que l'activité antiradicalaire de notre extrait est moyenne à la capacité du piégeage du radical DPPH^{*} de la substance de référence.

Selon **Benhammou et al (2009)** *Atriplex halimus* (chénopodiacées) de la région du Sahara algérien, qui trouve l'IC₅₀ de l'extrait alcaloïdes de la partie aérienne est de l'ordre de $9,06 \pm 0,45$ mg/ml, ce qui montre une valeur supérieure à celle de notre extrait et une faible capacité antiradicalaire.

Si nous comparons nos résultats avec un autre plante *Brunfelsia americana*, on trouve que l'IC₅₀ de l'extrait alcaloïdique des racines est de 0,310 mg/mL (**Thiesen et al., 2018**), ce qui révèle une valeur inférieure à celle de notre extrait. *Brunfelsia americana* présente donc une forte activité par rapport à notre de l'extrait.

La variabilité de le pouvoir antiradicalaire peut s'expliquer par plusieurs facteurs influencés on peut citer diverses régions de la plante étudiée, différent entre les espèces des plantes végétale (**Tlili, 2015**), de l'organe végétal à tester, le période de récolte (**Bettaieb et al., 2017**) et les conditions expérimentales différent solvants (**Benhammou et al., 2009**).

Selon **Iwasa** et ses collaborateurs (**2001**), qui ont démontré que la capacité à réduire le radical DPPH par trois groupes d'alcaloïdes isoquinoléiques.

Donc, il peut conclue que plusieurs facteurs dans la molécule antioxydante influencent l'activité antiradicalaire. Au niveau des alcaloïdes une N-méthylation, une méthylation des groupements « OH » en positions C₆ et C₇ ou une oxydation réduit ou détruit l'activité antiradicalaire de la molécule (**Rackovà et al., 2004**)

II.2.3.2. Activité antimicrobienne

Nous avons étudié *in vitro* le pouvoir antimicrobien d'extrait isolés de *Salvia chudaei* par méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé solide, Mueller- Hinton pour les bactéries et Sabouraud pour la levure.

L'activité antimicrobienne des extraits a été estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les différents doses d'extrait à tester vis-à-

vis de six germes pathogènes qui sont : *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *L. innocua*, *S. typhi* et *F. culmorum*.

Les résultats montrent que le solvant (DMSO) est approprié et ne présente aucun effet sur la croissance normale des souches microbiennes.

Les souches testées ont montré des sensibilités différentes aux antibiotiques standards utilisés : Ciprofloxacine 5ug/ml et Imipenem 10ug/ml.

La plante *Salvia chudaei* a des actions inhibitrices sur toutes les souches bactériennes et fongiques. L'activité antimicrobienne d'extrait alcaloïde dépend de deux paramètres essentiels, le premier paramètre est la nature et la composition de l'extrait, le second paramètre est le génotype de la souche microbienne (**Behidj-Benyounes et Dahmenet, 2013**).

L'effet antimicrobien d'une substance est dû à la présence de certaines molécules dotées de ce pouvoir. En réalité, la plante de *S. chudaei* est riche en alcaloïde renfermant un effet détoxifiant, possède une très bonne activité antifongique et qui sont des composés reconnus pour leurs propriétés antimicrobiennes (**Zee, 1997 , Irobi et Daranola, 1994; Brantner et al., 1996; Milcent et Chau, 2003; Moroh et al., 2008; Yan et al., 2008; Tene et al., 2009; Daniyan et Alabaka , 2012**).

L'activité antibactérienne dépend de plusieurs facteurs à savoir : l'espèce de la plante, la préparation de l'extrait, le solvant utilisé, et la sensibilité des bactéries **Boussoualim (2014)**, la variation de l'activité de cet extrait trouverait une justification sur la partie de la plante utilisée. Manifestement, il a été prouvé que la composition et l'activité de l'extrait varie selon que l'on travaille avec les feuilles, la tige ou les racines de la plante (**Yala et al., 2016**), De plus, le solvant utilisé dans l'extraction affecte considérablement l'activité antimicrobienne (**Adejare et al. 2013**).

Les travaux de **Soundararajan et al., (2012)**, montrent que les extraits d'*Elaeis guineensis* présentaient une meilleure activité sur les bactéries Gram+ que sur les Gram- . Selon plusieurs études, cette différence d'activité pourrait s'expliquer par la différence de la composition pariétale des deux types de bactéries. Effectivement, les bactéries Gram+ composée d'une paroi exclusivement de peptidoglycane épais semblent être plus favorables à la pénétration des phytomolécules qui atteindraient facilement leurs cibles intracellulaires. A l'opposé, les bactéries Gram- avec leur membrane externe composée des phospholipides qui interfèrerait avec les molécules, rend leur passage à travers la paroi difficile surtout les composé hydrophobes (**Tian et al. 2009; Soundararajan et al., 2012**).

Le test antifongique réalisé sur *Salvia chudaei* Batt. & Trab. a révélé que les l'extrait de l'alcaloïde a un effet antifongique remarquable sur la souche testé.

Selon **Abad et al., (2007)**, ont cité sur le pouvoir antifongique des extraits végétaux, que la souche *Candida albicans*, le genre *Aspergillus* et le genre *Fusarium* ont montré une sensibilité vis-à-vis des extraits de plusieurs familles de plantes parmi elles, la famille des *Apiaceae*, la famille des *Lamiaceae*. C'est ce qui explique dans notre cas l'activité enregistrée d'extrait sur la souche étudiée y compris *F. culmorum*.

Les auteurs suggèrent que la berbérine, un alcaloïde isoquinoléinique, est responsable de l'effet antifongique (**Kosalec et al., 2009**). Cela est confirmé par une autre étude qui a montré que le chlorure de berbérine a une bonne activité antifongique (**Iauk et al., 2007**).

Cette inhibition remarquée pourrait s'expliquer par le fait que le souche a développé des mécanismes de résistance aux molécules antifongiques présentes dans l'extrait. Parmi ces mécanismes la capacité de switcher ou capacité à changer de phénotype «switch phénotypique» (**Millon et al., 2002**). Effectivement, de nombreux travaux ont révélé que la variabilité phénotypique pourrait être une stratégie mise en place par certains micro-organismes pour échapper aux mécanismes immunitaires de l'hôte. Ainsi, la facilité de changer le phénotype peut-être en relation avec sa résistance aux antifongiques (**Pfaller et al., 1998; Millon et al., 2002; Chen et al., 2003; Yang et al., 2005**).

Cette variabilité d'activité peut s'expliquer aussi par plusieurs facteurs influencés on peut citer : la répartition géographique de la plante étudiée, de l'organe végétal à tester, la nature de la souche à étudier (**Graven et al., 1992**), la composition des alcaloïdes brutes, la charge de l'inoculum fongique, le temps d'incubation (**Marzouk et al., 2006**).

L'activité antifongique de nos extrait est dû à la présence des composés majoritaires de différents polarité, aujourd'hui il est connu que l'effet synergique ou antagoniste des composés du mélange doit être considéré (**Burt, 2004**).

En outre, les composants des extraits notamment les alcaloïdes de quantité plus faible peuvent également contribuer à l'activité antimicrobienne, ils s'intercalent dans la paroi cellulaire microbienne et inhibent la synthèse de l'ADN des cellules microbiennes, en causant la lyse cellulaire (**Mert, 2006; Silva et Fernandes, 2010 ; Tiwari et al., 2011**), impliquant probablement un certain type de synergie avec d'autres composés actifs (**Belmekki et al., 2013**).

La présence des composés lipophiles dans nos extraits brutes permet aux ces composés de se lier aux membranes cellulaires des microorganismes et d'inhiber les

échanges d'électrons membranaires lors de la phosphorylation oxydative ce qui freine ainsi le métabolisme cellulaire (**Teuscher *et al.*, 2005**).

Les feuilles de plante sont encore utilisées comme médicaments en Tamanrasset. Jusqu'à maintenant il n'y a aucun rapport sur les effets secondaires de *Salvia chudaei Batt. & Trab.* Cette plante peut être de source utile pour le traitement infections dermatophytiques.

L'étude de l'activité antimicrobienne de notre extrait d'alcaloïde montrées que cette plante peut être utilisée pour soigner quelques maladies infectieuses, et constitue donc une alternative avec un complément de médicament synthétique à effet secondaire indésirable (**Beddou, 2015**).

En fin, l'ensemble de ces résultats obtenus *in vitro* ne constitue qu'une première étape dans la recherche des substances de source naturelle biologiquement active, il serait également intéressant de compléter ce travail par la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI), bactéricides (CMB) et fongicide (CMF), des extraits d'alcaloïdes de cette plante.

Conclusion

Conclusion

Dans le but de la valorisation des alcaloïdes de la partie aérienne de *Salvia chudaei*, nous avons effectué ces études pour contribuer à la mise en évidence de quelques activités biologiques.

L'extraction des alcaloïdes a donné un rendement massique pour l'espèce étudié de l'ordre de 0,116 %. L'analyse qualitative par chromatographie sur couche mince (CCM), nous a conduit à la richesse de cette extrait en plusieurs classes des alcaloïdes sont observés selon leurs couleurs et leur rapports frontaux, ce résultats ne constitue qu'une première étape, il serait également intéressant de compléter ce travail avec l'ajouté des analyses par des techniques plus développée tel que HPLC et RMN.

Concernant l'activité antioxydante, nous avons étudié le pouvoir antioxydant par la capacité de piégeage de radical DPPH, en comparant les IC₅₀ de l'extrait des alcaloïdes par rapport de l'acide ascorbique, nous avons remarqué que l'extrait des alcaloïdes totaux présente une activité antioxydant modéré de l'ordre d'IC₅₀ 3,33 mg/ml avec l'IC₅₀ de l'acide ascorbique est égal 0,11 mg/ml.

L'étude de l'activité antimicrobienne des alcaloïdes de partie aérienne de *Salvia chudaei* sur des microorganismes pathogènes s'est avérée importante, vu que cette plante à révéler une activité importante sur les six souches ciblés. L'activité antimicrobienne de l'extrait a été estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant l'extrait à tester vis-à-vis *Fusarium culmorum*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria innocua* et *Staphylococcus aureus*.

Les diamètres de zones d'inhibition variant entre 7 à 12 mm, notre extrait montre une bonne capacité antimicrobienne sur les six souches testées.

Ces résultats nous sont confirmés que *Salvia chudaei* est une plante médicinale qui élabore une importance non négligeable en médecine. En effet, elle possède de nombreuses propriétés thérapeutiques. Aussi on peut dire que cette plante possède une activité antioxydant modéré, et peut être utilisée comme une source d'agents antimicrobienne qui ouvre des perspectives intéressantes.

Références
Bibliographiques

- **Abad, M.J., Ansuategui, M. & Bermejo, P. (2007).** Active antifungal substances from natural sources. *Arkivoc.* 116-145.
- **Abeier, O.K. (2007).** Contribution à la caractérisation floristique de deux oueds de l'Ahaggar : oued Idèles et oued Tassakimt. Mémoire Ingéniorat Eco. Université Ouargla.pp:44-45.
- **Adejare, O.Y., Oduyebo, O.O., Oladele, R.O., Nwaokorie, F.O., Ogunsola, F.T. (2013).** In-vitro antifungal effect of Garcinia Lola and Garlic (*Alliums sativu*) on vaginal isolates of *Candida*. *African journal of clinical and experimental microbiology* 14 (3):140-145.
- **Afoun, M., & Ammour, S. (2017).** Etude de l'activité antioxydante des alcaloïdes d'un mélange de *Pheonix dactylifera* et de *Matricaria pubescens*. Mémoire Master en Pharmacologie Moléculaire. Université A. Mira. Bejaia. 31 p.
- **Alice, T., Mariella, L., Rita, M., Haana, M., Tania, S., Paolo, V., Anna, M., Alberto, P. (2016).** Lamiaceae phenols as multifaceted compounds: bioactivity, industrial prospects and role of "positive-stress". *Industrial Crops and Products*, 83: 241-254.
- **Al-Jaber, H.I., Al-Qudah, M.A., Barhoumi, L.M., Abaza, I.F., & Afifi, F.U. (2012).** Essential oil composition of the aerial parts of fresh and air-dried *Salvia palaestina* Benth. (Lamiaceae) growing wild in Jordan. *Nat. Prod. Res.*, 26, 1179–1187 .
- **Allouni , R. (2011).** Étude de la toxicité des alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L. sur les animaux de laboratoire. Mémoire de Magister Biochimie .Université Ferhat Abbas Sétif. Sétif, 76p.
- **Allouni, R. (2018).** Etude des aspects morphologiques, phytochimiques et pharmaco- toxicologiques de la plante *Ruta montana*. Thèse doctorat Biochimie .Université Ferhat Abbas . Sétif. 126p.
- **Andersen, O. M., & Markham, K. R. (2006).** *Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications*; Ed: CRC PRESS: Taylor & Francis, pp: 1-247
- **Aniszewski, T. (2007).** *Alkaloids - Secrets of Life: Alkaloid Chemistry, Biological Significance, Application and Ecological Role*. Ed. Elsevier, 316 p.
- **Aoki, T., & Donnel, K. (1999).** Morphological and molecular characterisation of *Fusarium pseudograminearum* sp. Nov. formerly recognized as the Group 1 population of *F. graminearum*.*Mycologia.* 91:597-609.

- **Ardestani, A., & Yazdanparast, R. (2007).** Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts. *Food Chem.* 104 : 21-29.
- **Arroo, R., Woolley, J., Oksman-Caldentey, K.M. (2007).** II.3 Henbane, Belladonna, Datura and Duboisia. *Biotechnology in Agriculture and Forestry*, Vol. 61.
- **Attia, S., Grissa, Raki, A., Hance, T., & Mailleux, A.C. (2015).** "Persistence of Toxicity in Four Natural Extracts Controlling *Tetranychus urticae* as Affected by Tween® 20 Supply." *PESTICIDE SC.* 79. Effects of some insecticides on the viability and the ATP synthesis of honeybee drone's 10(1) ,1p.
- **Badiaga, M. (2011).** Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologique de *Nauclea latifolia* smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali. Thèse de doctorat. pp : 20-22.
- **Bahadori, M., Valizadeh, H., Asghari, B., Dinparast, L., Moridi, F.M. (2015).** Shahram Bahadori f Chemical composition and antimicrobial, cytotoxicity, antioxidant and enzyme inhibitory activities of *Salvia spinosa* L. *Journal of Functional Foods*, 18 : 727-736.
- **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. *Journal of Arzneimittel-Forschung.* 46 : 1086-1089.
- **Beddou, F.(2015).** Etude phytochimique et activités biologiques de deux plantes médicinales Saharienne *Rumex vesicarius* L. et *Anvillea radiata* Coss.& Dur. Thèse de Doctorat en Biologie Cellulaire et Biochimie Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen .143p.
- **Behidj-Benyounes, N., & Dahmenet. (2013).** The Antimicrobial Effect of Alkaloids (Harmin, Harmalin) Extracted from *Peganum Harmala* (L) Seeds in the South of Algeria (Bousaada). *V57. 22:* 115-118.
- **Belila, S., & Ounis, Z.(2018).** Contribution à l'étude phytochimique et biologique des alcaloïdes de la partie aérienne de *Pergularia tomentosa* L. Thème Master Biochimie Appliquée . Université Echahid Hamma Lakhdar -El OUED.59p.

- **Belmekki, N., Bendmerad, N., Bekhechi, C., Fernandez, X. (2013).** Chemical analysis and antimicrobial activity of *Teucrium polium* L. essential oil from Western Algeria. *Journal of Medicinal Plants Research*. 7(14): 897-902.
- **Benattous, H., & Zitouni, S. (2018).** Contribution à l'étude phytochimique des alcaloïdes de deux plantes médicinales du Sahara Algérien. Mémoire master Biochimie appliquée. UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA. 51p.
- **Benchelah, A.C., Bouzian, H., Maka, M. (2011).** Fleurs du Sahara, Voyage ethnobotanique avec les Touaregs du Tassili. Edition Ibis press, paris. ISBN 978-2-36122-021-1 17. 255p.
- **Bendahou, M., Muselli, A., Grignon-Dubois, M., Benyoucef, M., Desjobert, JM., Bernardini, JF., Costa, J., (2007).** *Food Chem.* 106132.
- **Benhammou, N., Atik Bekkara, F., Kadifkova Panovska, T. (2009).** Antioxidant activity of methanolic extracts and some bioactive compounds of *Atriplex halimus*. *C R Chimie* 12: 1259–66
- **Benkiki, N. (2006).** Thèse Doctorat "Étude phytochimiques des plantes médicinales algériennes: *Ruta montana*, *Matricaria pubescens* et *Hypericum perforatum*"
- **Benmabrouk, H. (2018).** Etude phytochimique d'extrait aqueux d'une plante médicinale "*Camellia sinensis*".du diplôme de Master. Université Mohamed Boudiaf - M'sila.38p.
- **Bettaieb, R., Bourgou, S., Saidani, T., Fauconnier, M.L., Ksour, R. (2017).** Phytochemical composition and antioxidant activity of *Lavandula dentate* extracts. *Journal of new sciences. Agriculture and Biotechnology*. 39(2). 2096-2105.
- **Bolou, G., Attioua, B., Guessan, A., Coulibaly, A., Guessan, J., & Djaman, A. (2011).** Évaluation in vitro de l'activité antibactérienne des extraits de *Terminalia glaucescens* planch.sur *Salmonella typhi* et *Salmonella typhimurium*. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, Vol.80, p772-790.
- **Bougar, N., & Belkacem Kourmi, Z. (2016).** Contribution à la caractérisation physico-chimique et anti-bactérienne de l'extrait de la plante *urtica dioica* L (ortie dioïque). Mémoire de Master en Chimie. Université Djilali Bounaâma. Khemis Miliana. 53 p.

- **Bougoffa, K. (2006).** Identification par HPLC des polyphénols et alcaloïdes de deux espèces de « Fumaaria » et leurs activités antioxydantes et antiperoxydase. Mémoire de Magister En Biologie Moléculaire. Université A.Mira. Bejaia. 97 p.
- **Boussoualim, N. (2014).** Thèse doctorat « Activités biologiques de plantes médicinales: *Anchusa azurea* Mill. et *Globularia alypum* L. ». Université Ferhat Abbas, Sétif-1.
- **Bouzidi, A., Mahdeb, N., Kara, N., & Benouadah, Z. (2011).** Analyse qualitative et quantitative des alcaloïdes totaux des graines de *datura stramonium* L. Agriculture N° 2 :79- 88.
- **Brantner, A., Males, A., Pepeljak, S., Antolic, A., (1996).** Antibacterial activity of *aliurus spina-Christ* Mill (*Christis thorn*). Journal of. Ethnopharmacol. 52:119-122.
- **Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales. Techniques et Documentation. 4e ED. Lavoisier. Paris.1243p.
- **Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4ème édition. Ed. Lavoisier Tec & Doc., Paris, pp: 1-270.
- **Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie. 4th ed. Cachan. Lavoisier.1015 p.
- **Bssaibis, F., Gmira, N., Meziane, M. (2009).** Activité antibactérienne de *Dittrichia viscosa* L. ; Rev . Microbiol. Ind. San et Environn. Vol.3(1): 44-55.
- **Burkill, H.M. (1985).**The Useful Plants of West Tropical Africa, 2nd ed., Vol. 1, Royal Botanical Gardens.
- **Burt, S. (2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. Int. J. Food Microbiol. 94:223-253.
- **Carrubba, A., LA TORRE, R., ZAFFUT, G. (2006).** Exploitation of native Labiatae in sicily. Biotechnology and Utilization, pp: 22-25.
- **Catier, O., Roux, D. (2007).** Botanique pharmacognosie phytothérapie. Édit.3.
- **Chen, Y. C., Chang, S.C., Luh, K.T., Hsieh, W.C. (2003).** Stable susceptibility of *Candida* blood isolates to fluconazole despite increasing use during the past 10 years. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 52:71-77.
- **Choi, Y.M., Noh, D.O., Cho, S.Y., Suh, H.J., Kim, K.M., & Kim, J.M. (2006).** Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea. LWT - Food Science and Technology. 39 : 756-761.

- **Colmenares, N.G., Medina, E.G., & Usubillaga, A. (2006).** Volatile constituents from the aerial parts of *Salvia angulata* H.B.K. of Venezuela. *J. Essent. Oil Res.*, 18, 486–488.
- **Croteau, R., Kutchan, T.M., & Lewis, N.G., (2000).** Natural Products (Secondary Metabolites). *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*. 1269p.
- **Daniyan, S.Y., Abalaka, M.E., (2012).** Antimicrobial activity of leaf extracts of *Piliostigma thonningii*. *Journal of Science & Multidisciplinary Research*. 1(2): 8-13.
- **Daouadji, D. (2010).** Detection de Biofilm a Staphylocoques sur Catheters Veineux . Thèse de Magister en Biologie Moléculaire et Cellulaire Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen. Algérie.77p.
- **Dehak, K. (2013).** Méthodes d'extraction et de séparation des substances naturelles. Doctorat de Chimie. Université Kasdi Merbah. Ouargla. 22 p.
- **Diallo, D., Sanogo, R., Yasambou, H., Traore, A., Coulibaly, K., & Maïga, A. (2004).** Étude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam. (Rhamnaceae), utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali. *C.R. Chimie*, 7 : 1073– 1080.
- **Dunet, J. (2009).** Réaction de Mickael et mannich appliquées a des arylocyclohexa-2,5-diens en vue la synthèse d'alcaloïdes de type aspidosperma et morphinanes. Thèse doctorat. Université de Bordeaux. 262p.
- **Ebrahimabadi, A.H., Mazoochi,A., Kashi, F.J., Djafari, Z., & Batooli, H. (2010).** Essential oil composition and antioxidant and antimicrobial properties of the aerial parts of *Salvia eremophila* Boiss. from Iran. *Food Chem. Toxicol.*, 48, 1371–1376.
- **Etame, G., Pascal Ngaba, G., Kamdom, M ., Mpondo, E., & Didier Dibong S. (2018).** Evaluation des activités anti-inflammatoire et antiradicalaire de l'extrait au vin de palme des feuilles de *Phragmanthera capitata* (Sprengel) S. Balle (Loranthaceae) récoltées sur *Psidium guajava* au Cameroun. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 12(1): 233-243.

- **Facchini, P.J. (2001).** Alkaloid biosynthesis in plants: biochemistry, cell biology, molecular regulation, and metabolic engineering applications. *Plant Physiology* .*Plant Molecular Biology*. 52:29-66.
- **Fattorusso, E., Tagliatela, S.O. (2008).** *Modern Alkaloids: Structure, Isolation, Synthesis and Biology*. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co, Weinheim. 641p.
- **Fellah, S., Diouf, P.N., Petrisans, M., Perrin, D., Romdhane, M., & Abderrabba, M. (2006).** Chemical composition and antioxidant properties of *Salvia officinalis* L. oil from two culture sites in Tunisia. *J. Essent. Oil Res.*, 18, 553–556 .
- **Fellous, A., (2003).** La station d'élevage de la Gazelle dorcas (Gazelle dorcas) dans le sudouest algérien. IIème Séminaire Antilopes Sahelo Saharienne, 1-5 mai 2003, Agence Nationale pour la Conservation de la Nature, Agadir Maroc. 7p.
- **Galand, N., Pothier, J., Viel, C., (2002).** *Plant Drug Analysis by Planar Chromatography*. (ebook) Tours-France.
- **Gazengel, J.M., Orecchioni, A.M., (2013).** *Le préparateur en pharmacie –Guide théorique et pratique .2^{ème} ed.*Ed. Tec et Doc, Paris .France.1443p.
- **Gheffour, K., Boucherit, K ., Boucherit-Otmani, Z . (2015).** Étude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante des extraits d'*Echinops spinosus*. *Phytothérapie* 1-7 . doi: 10.1007/s10298-015-0917-8
- **Gomes, C. et al. (2012).** Evaluation of subchronic toxicity of the hydroethanolic extract of *Tropaeolum majus* in Wistar rats. *Journal of Ethnopharmacology* 142, 481-487.
- **Graven, E.H., Deans, S.G., Svoboda, K.P., Mari, S., Gundidza, M.G., (1992).** Antimicrobial and antioxidative properties of the volatile (essential) oil of *Artemisia afra* Jacq. *Flavour Fragrance*.7(1):121-123.
- **Guignard, J.L. (2001).** In: *Botanique systématique moléculaire*. 12èmeEdition Masson. (Paris), 304 p.
- **Hammiche, V. & Maiza, K. (2006).** Traditional medicine in Central Sahara: Pharmacopoeia of Tassili N'ajjer. *J. Ethnopharmacol.*, 105, 358–367.

- **Hammoudi, R. (2015).** Activités biologiques de quelques métabolites secondaires extraits de quelques plantes médicinales du Sahara méridional algérien. Thèse de doctorat. Université Kasdi Merbah – Ouargla. 166 p.
- **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. 73p.
- **Hayouni, E.A., Abedrabb, A.M., & Hamdi, M. (2007).** the effect of solvents and extraction method. *Food chem.*
- **Hellah, Z. (2011).** Contribution à l'étude des propriétés antibactérienne et
- **Hess M. (2002).** Alkaloids ,Nature's Curse or Blessing 1^{ère} édition . Ed. Wiley-VCH, New York . USA. 297p.
- **Himal, P.C., Nisha, S.Y., Jyoti, S., Anupa, K.C., & Mansoor, P.T.(2008).** Phytochemical and antimicrobial evaluations of some medicinal plants of nepal kathmandu university journal of science engineering and technology. 1(2):49-54.
- **Iauk, L., Costanzo, R., & Caccamo, F. (2007).** Activity of *Berberis aetnensis* root extracts on *Candida* strains. *Fitoter.* 78: 159-61.
- **Ikan, R. (1978).** Natural products A. laboratory guide, 1969, éd. Academic press, 178 – 203.
- **Irobi, O.N., & Daranola, S.O. (1994).** Bactericidal propenies of crude extracts of *Racarpu villosus*. *J Ethnophannacol.* 42:39-43.
- **Iserin, P. (2001).** Encyclopédie des plantes médicinales, Larousse VUEF, 2ème Ed. Vol. 14. Paris. 335 p.
- **Iserin, P., Masson, M., & Restellini, J.P. (2007).** Larousse des plantes médicinales, Identification, préparation, Soins .Ed Larousse, Paris, France. 335p.
- **Iwasa, K., Moriyasu, M., Tachibana, Y., Kim, H.S., Wataya, Y., Wiegrede, W., Bastow, F.K., Cosentino, M., Kozuka, M., & Lee, H.K. (2001).** Simple isoquinoline and benzyloisoquinoline alkaloids as potential Antimecrobial, Antimalarial, Cytotoxic and Anti-HIV agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, (9):2871-2884.
- **Jean-Pierre, L. (2001).** Introduction à la flore d'Afrique .Ed cirad, ibis press. 155p.

- **Judd Walter, S., Campbell Christopher, S., Kellogg Elizabeth, A., & Stevens Peter. (2002).** Botanique Systématique, une perspective phylogénétique. Edition De Boeck Université ,84-87 ,396-399.
- **Khalidi, A. (2017).** Etude des effets antifongiques et antimycotoxiques des extraits des plantes médicinales de la région de Béchar. Thèse doctorat. Université de Mascara. pp:77-78.
- **Kosalec, I., Gregurek, B., & Kremer, D. (2009).** Croatian barberry (*Berberis Croatica* Horvat): a new source of berberine. Analysis and antimicrobial activity. *World J Microbiol Biotechnol.* 25: 145-50.
- **Krief, S. (2003).** Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. HAL. Thèse de doctorat "Ecologie et chimie des substances naturelles". Muséum national d'histoire naturelle. pp: 31-32.
- **Kunduhoglu, B., Kurkcuglu, M., Duru, M.E & Baser, K.H.C. (2011).** Antimicrobial and anticholinesterase activities of the essential oils isolated from *Salvia dicrantha* Stapf., *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca* (Freyn and Bornm.) Bornm. and *Salvia wiedemannii* Boiss. *J. Med. Plants Res.*, 5, 6484–6490.
- **Ladoh Yemeda, C.F., Dibong, S.D., Nyegue, M.A., DjembissiTalla, R.P., Lenta Ndjakou, B., Mpondo Mpondo, E., Yinyang, J., & Wansi, J.D. (2014).** Activité antioxydante des extraits méthanoliques de *Phragmanthera capitata* (Loranthaceae) récoltée sur *Citrus sinensis*. *Journal of Applied Biosciences*, 84: 7636-7643.
- **Laurent, F., Florence, R., Pascal, A., Catherine, B., Louis, M., & Philippe, L. (2008).** Les médicaments de l'urgence médicale au cabinet dentaire. n° 21.
- **Liaquat, A., & Mahmood, A. (2004).** Cardiac arrest following the neuromuscular blockade reversal with neostigmine and atropine. 11: 228-230.
- **Lobstein, A.L. (2010).** Cours Master science du médicament :les alcaloïdes ;faculte de pharmacie strasbourg.
- **Madiélé, A.B., Zhao, J.M., Thiéry, V., Agnanié, H., Brunet, C., Graber, M., & Ouamba, J. M. (2015).** Caractérisations Analytiques Des Extraits Colorants Des Plantes Tinctoriales d'Afrique Centrale. *Lebanese Science Journal.* 16(1).
- **Mamadou, B. (2011).** Etude Ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith une plante médicinale africaine récoltée au

- mali. Thèse pour l'obtention du grade de Docteur d'université. Université Blaise Pascal de Clermont. Ferrand. 137 p.
- **Mansouri, A., Embarek, G., Kokkalou, E., & Kefalas, P. (2005).** Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*); *Food Chemistry*. 89 : 411-420.
 - **Marzouk, Z., Neffati, A., Marzouk, B., Chraief, I., K.F., Chekir, G.L., & Boukef, K. (2006).** Chemical composition and antibacterial and antimutagenic activity of Tunisian *Rosmarinus officinalis* L. oil from Kasrine. *Journal of Food Agriculture & Environment*. 4: 61-65.
 - **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.
 - **Mert-Turk, F. (2006).** Saponins versus plant pathogens. *Journal of cell molecular biology* 5:13-17.
 - **Mezouar, D., Lahfa, F.B., Abdelouahid, D.E Adida, H., Rahmoun, N.M., & Boucherit-Otma, Z. (2014).** Activité antimicrobienne d'extraits d'écorce de raciness de *Berberis vulgaris*. *Phytothérapie*. pp: 1-6.
 - **Michel, T. (2011).** Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification: Application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophaë rhamnoides*). Thèse doctorat Université Orléans.
 - **Miguel, G., Cruz, C., Faleiro, M.L., Simões, M.T.F., Figueiredo, A.C., Barroso J.G., & Pedro, L.G. (2011).** *Salvia officinalis* L. essential oils: effect of hydrodistillation time on the chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities. *Nat. Prod. Res.*, 25, 526–541.
 - **Milcard, F. (2013).** Etude de l'effet des alcaloïdes sur la corrosion de l'acier C38 en milieu acide chlorhydrique 1M: Application à *Aspidosperma album* et *Geissospermum laeve* (Apocynacées). Thèse de Doctorat en Chimie. Université des Antilles et de la Guyane. Guyane. 186 p.
 - **Milcent, R., & Chau, F. (2003).** Chimie organique hétérocyclique. Ed: EDP sciences. 845:725-809.

- **Million, L., Piarroux, R., Monod, M., & Meillet, D. (2002).** Physiopathologie de la candidose oropharyngée au cours de l'infection par le VIH. *Médecine et Maladies Infectieuses*. 32 (12):696-703.
- **Mirjalili, M., Peyman, S., Sonboli, A., & Vala, M. (2006).** Essential oil of variation *Salvia officinalis* aerial parts during its phenological cycle. *Chemistry of Natural Compounds*, 42: 19-23.
- **Mohammedi, Z. (2013).** Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie. Thèse de Doctorat en Biologie. Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen. 160 p.
- **Mohammedi, Z. (2013).** Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie. Thèse de Doctorat en Biologie. Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen. 160 p.
- **Moroh, J.A., Bahi, C., Dje, K., Loukouy, G., & Guede, G.F. (2008).** Etude de l'activité antibactérienne de l'extrait acétatique (EAC) de *Morinda morindoides* (Baker) milne-redheat (rubiaceae) sur la croissance in-vitro des souches d'*Escherichia coli*. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*. 77:44-61.
- **Nacoulma, A.P. (2013).** Reprogrammation métabolique induite dans les tissus hyperplasiques formés chez le tabac infecté par *Rhodococcus Fascians*: aspects fondamentaux et application potentielles. Thèse de Doctorat en Sciences Pharmaceutiques . Université Libre de Bruxelles Europe . Belgique.92p.
- **Ozenda, P. (1977).** Flore du Sahara. 2em ED. Centre National de la Recherche Scientifique. Paris.
- **Pfaller, M.A., Jones, R.N., Messer, S.A., Edmond, M.B., & Wenzel, R.P. (1998).** National Surveillance of Nosocomial Blood Stream Infection Due to *Candida albicans*: Frequency of Occurrence and Antifungal Susceptibility in the SCOPE Program. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 31 (1):327-332.
- Pistrick, K. (2002). Notes on neglected and underutilized crops Current taxonomical overview of cultivated plants in the family's Umbelliferae and Labiatae. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 49: 211-225.
- **Pokorny, J., Yanishlieva, N., & Gordon, M. (2001).** Antioxidants in food, Practical Applications, Cambridge Woodhead publishing limited 72(5):145-71.

- **Quezel, P., & Santa, S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Ed., CNRS, Paris, Tom 2 :793.
- **Racková, L., Májeková, M., Kost'álová, D., & Stefek, M. (2004).** Antiradical and antioxidant activities of alkaloids from Mahonia aquifolium. Structural aspects. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, (12):4709-4715.
- **Rahal, K.(2005).** Ministère de la Santé, de la Population et de la Réforme Hospitalière (MSPRH), 4ème édition . Alger, Algérie
- **Reghioua, S., Boughachiche, F., Zerizer, H., Oulmi, L., Kitouni, A., Boudemagh, M., & Boulahrouf, A. (2006).** Activité antibactérienne d'actinomycètes rares isolés d'échantillons de sol aride du Sud-est Algérien. *Pharmacologie* ; 8: 147-152.
- **Roberts, MF., & Wink, M. (1999).** Alkaloids - Biochemistry, Ecology, and Medicinal Applications. *Book Reviews / Phytochemistry*, 52, 1177 – 1180.
- **Roussac, F.A., & Roussac. (2016).** Analyse Chimique Méthodes et techniques instrumentales. 8ème édition, Dunod, 5p.
- **Roux D., & Catier O, (2007).** Botanique, pharmacognosie, phytothérapie.3^{ème} édition. Ed. Wolters Kluwer, Dalian China.141p.
- **Ruberto, G., & Baratta, M.T. (2000).** Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food Chem.*, 69, 167–174 .
- **Sahki, A., & Sahki, R. (2004).** Le Hoggar promenade botanique. Espèces herbacées. Edition Ésope.311 p.
- **Sanchez-moreno, C. (2002).** Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems; *International Journal of Food Science and Technology*. 8 : 121-137.
- **Sanogo, R., Doucouré, M., Fabre, A., Diarra, B., Dénou, A., Kanadjigui, F., Benoit, V.F., & Diallo, D. (2014).** Standardisation et essai de production industrielle d'un sirop antipaludique à base d'extraits d'Argemone mexicana L. *Revue CAMES – Série Pharm. Méd. Trad. Afr.* 1(17). 15-20.
- **Sardine (Sardina pilchardus).** Thèse de magister, Faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques, Université de Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

- **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.396p.
- **Silva, N.C., C., & Fernandes, J.A. (2010).** Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity. The Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases.16:402-413.
- **Singla, D., Sharma, A., Kaur, J., Panwar, B., Gajendra, PS., & Raghava. (2010).** BIAdb: A curated database of benzyloisoquinoline alkaloids. BMC Pharmacology, 8:10-4.
- **Soundararajan, V., Zuraini, Z., Yeng, C., Lachimanan, Y.L., Jagat, RK., & Sreenivasan, S. (2012).** The Antimicrobial Efficacy of *Elaeis guineensis* : Characterization, in Vitro and in Vivo Studies. molecules 17:4860-4877.
- **Stöckigt, J., Shaludks, Y., Unger, M., Gerasimenko, I., Warzecha, H., & Stöckigt, D. (2002).** High- performance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrophoretic electrospray ionization mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups. Review Journal of Chromatography A. 967: 85-113.
- **Tel, G., Ozturk, M., Duru, M.E., Harmandar, M., & Topcu, G. (2010).** Chemical composition of the essential oil and hexane extract of *Salvia chionantha* and their antioxidant and anticholinesterase activities. Food Chem. Toxicol., 48, 3189–3193.
- **Tenore, G.C., Ciampaglia, R., Arnold, N.A., Piozzi, F., Napolitano, F., Rigano, D., & Senatore, F. (2011).** Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oil of *Salvia lanigera* from Cyprus. Food Chem. Toxicol., 49, 238–243.
- **Tepe, B., Daferera, D., Sokmen, A., Sokmen, M ., & Polissiou, M. (2005).** Antimicrobial and anti-oxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). Food Chem., 90, 333–340 .
- **Tepe, B., Donmez, E., Unlu, M., Candan, F., Daferera, D., Vardar-Unlu, G., Polissiou, M., & Sokmen, A. (2004).** Antimicrobial and antioxidative activities of the essential oils and methanol extracts of *Salvia cryptantha* (Montbret et 6 S. Krimat et al. Downloaded by [The University of Manchester Library] at 07:11 20

- April 2015 Aucher ex Benth.) and *Salvia multicaulis* (Vahl). *Food Chem.*, 84, 519–525.
- **Teuscher, E., Aaton, R., & Lobstein, (2005).** Plantes aromatiques épicées. aromates, condiments et huiles essentielles. Tec & Doc. Paris. 522p.
 - **Thiesen, L.C. T., Colla, I. M., Silva, G. J., Kubiak, M. G., Faria, M. G. I., Gazim, Z. C., Linde, G. A., & Colauto, N. B. (2018).** Antioxidant and antimicrobial activity of *Brunfelsia uniflora* leaf extract. *Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR, Umuarama.*, 21(3) .pp: 93-97.
 - **Tian, F., Li, B., Ji, B., Yang, J., Zhang, G., Chen, Y., & Luo, Y. (2009).** Antioxidant and antimicrobial activities of consecutive extracts from *Galla chinensis*: The polarity affects the bioactivities. *Food Chemistry* 113 (1):173-179. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.07.062
 - **Tidjani, S. (2016).** Etude Phytochimique et Evaluation Biologique de L'espèce *Senecio delphinifolius* Vahl. Thèse de doctorat. Université des Frères Mentouri Constantine. 178p.
 - **Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., & Kaur, H., (2011).** Phytochemical screening and extraction: A review. *Internationale pharmaceutica scientia*.1:98-106.
 - **Tlili, M.L. (2015).** Contribution à la caractérisation physico-chimique et biologique des extraits de *Pergularia tomentosa* issue de quatre sites sahariens différents (Sahara septentrional). Thèse de Magister. Université Kasdi Merbah-Ouargla. 120p.
 - **Touami, C. (2017).** Examen phytochimique et Pouvoirantimicrobien et anti-radicalaire des extraits de *Nepeta amethystina* (Gouzia)de la région d'Aïn Sefra (Algérie). These du diplôme de Doctorat en Microbiologie Appliquée. Université abou bekr belkaid .Tlemcen, pp:39-53.
 - **Treki, A.S., Mergghem, R., & Dehimat, L. (2009).** Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une Labiée: *Thymus hirtus*. *Sciences & Technologie*. Vol. (29): 25-29 .
 - **Will, M., Schmalz, N., & Classen-Bockhoff, R.(2015).** Towards a new classification of *Salvia* s.l.: (re)establishing the genus *Pleudia* Raf. Institute of

Systematic Botany and Botanical Garden, Johannes Gutenberg-University Mainz, Mainz, Germany ,Turk J Bot 39:1-15.

- **Yala, J.F., Ntsameso-mve-mba, F., Azzizet issembe, Y., Lepengue, N.A., & Souza, A. (2016)** . Évaluation in vitro de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux d'Eryngium foetidum récolté dans la ville de Franceville. Journal of Applied Biosciences 103:9886 – 9893.
- **Yamaç, M., & Bilgili, F. (2006)**. Antimicrobial Activities of Fruit Bodies and/or Mycelial Cultures of Some Mushroom Isolates. Pharmaceutical Biology .44: 660-667.
- **Yan, D., Jin, C., Xiao, X.H., & Dong, X.P. (2008)**. Antimicrobial properties of berberines alkaloids in Franch Coptis chinensis by microcalorimetry. J Biochem Biophys Methods. 70:845-849.
- **Yang, Y.L., Li, S.Y., Cheng, H.H., & Lo, H.J . (2005)**. Susceptibilities to amphotericin B and fluconazole of Candida species in TSARY 2002. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. 51(3):179-183.
- **Yi, M. L., Zhi, P.R., & Liang, L.Z. (2008)**. Evaluation of the Antioxydant Activity of Syzygium cumini Leaves, Molecules, 13: 2545-255.
- **Yumrutas, O., Sokmen, A., Akpulat, H.A., Ozturk, N., Daferera, D., Sokmen, M., & Tepe, B. (2012)**. Phenolic acid contents, essential oil compositions and antioxidant activities of two varieties of Salvia euphratica from Turkey. Nat. Prod. Res., 26, 1848–1851 .
- **Zee, C.R.K. (1997)**. Anticancer research on Loranthaceae plants. Drugs Future. 22(5): 515-530.
- **Ziegler, J., & Facchini, P.J. (2008)**. Alkaloid Biosynthesis : Metabolism and Trafficking. Annu Rev Biol .Vol(59) :735-769.

Résumé

Le présent travail a pour objectif l'étude d'une des plantes d'intérêt médicinal dans la région de Tamanrasset, en l'occurrence *Salvia chudaei*. L'échantillon choisi est étudié à travers leur contenant qualitatif en composés alcaloïdes, suivi d'une analyse par chromatographie sur couche mince et évaluation *in vitro* des activités antioxydant et antimicrobienne de ces composés. L'extraction des alcaloïdes a permis d'obtenir un rendement de l'ordre de 0,116%. L'analyse qualitative par CCM, après révélation et visualisation sous UV à 365 nm, a permis de mettre en évidence de nombreuses taches (spots) ont des Rf et des couleurs différents, ce qui indique que la plante *Salvia chudaei* est riche en plusieurs classes des alcaloïdes. L'évaluation de pouvoir antioxydant qui a été réalisée en utilisant la méthode de DPPH, a montré que l'extrait d'alcaloïde est un pouvoir antioxydant relativement modéré par rapport à celui de l'acide ascorbique. L'étude de l'activité antimicrobienne a été effectuée sur six souches par la méthode de diffusion sur disque. Les résultats obtenus indiquent que l'extrait d'alcaloïdes de partie aérienne de *Salvia chudaei* sont révélés actif vis à vis les souches testées, et sont beaucoup plus actives sur la souche fongique.

Mots-clés: *Salvia chudaei*, alcaloïdes, CCM, activité antioxydant , activité antimicrobienne, la région de Tamanrasset.

المساهمة في التوصيف البيولوجي للقلويدية

Salvia chudaei Batt. & Trab.

الملخص

يهدف هذا العمل إلى إجراء دراسة نباتية لأحد النباتات ذات الأهمية الطبية في منطقة تمنراست تسمى *Salvia chudaei* تمت دراسة العينة المختارة من خلال الإحتوائ النوعي على القلويدات ، و التي تم فصلها بواسطة الكروماتوغرافيا وتقييم نشاطها المضادة للأكسدة والمضاد للميكروبات . إستخلاص القلويدات مكننا من الحصول على عائد قدره 0,116 % . التحليل النوعي بواسطة الكروماتوغرافيا CCM, بعد الوحي والتصور تحت الأشعة فوق البنفسجية في 365 نانومتر ، وضح العديد من البقع مختلفة RF والألوان ، مما يدل على أن نبات *Salvia chudaei* غنية بالعدة أنواع من قلويدات. تقييم مضادات الأكسدة ، الذي أجري باستخدام طريقة إحتباس الجذر الحر DPPH ، أظهر أن المستخلص القلويد لديه إستجابة معتبرة مقارنة بحمض الأسكوربيك. تم إجراء دراسة نشاط مضادات الميكروبات على ست سلالات بطريقة الإنتشار على القرص. تشير النتائج التي تم الحصول عليها إلى أن مستخلص الجزء الجوي له فعالية ضد السلالات المجرية ، وهو أكثر نشاطا على الفطريات

الكلمات المفتاحية: *Salvia chudaei* , القلويدات , الكروماتوغرافيا , النشاطية المضادة للأكسدة , النشاطية المضاد للميكروبات, منطقة تمنراست.

Contribution to the biological characterization of alkaloid de *Salvia chudaei* Batt. & Trab.

Abstract

The present work aims at the study of one of the plants of medicinal interest in the region of Tamanrasset, in this case *Salvia chudaei*. The selected sample is studied through their qualitative container of alkaloid compounds, followed by analysis by thin layer chromatography and *in vitro* evaluation of the antioxidant and antimicrobial activities of these compounds. the extraction of the alkaloids made it possible to obtain a yield of the order of 0,116%. The qualitative analysis by TLC, after revelation and visualization under UV at 365 nm, made it possible to highlight many spots (spots) of Rf and different colors, which indicates that the plant *Salvia chudaei* is rich in several classes of alkaloids. the antioxidant evaluation, which was performed using the DPPH method, showed that the alkaloid extract is relatively mild antioxidant relative to that of ascorbic acid. the study of antimicrobial activity was performed on six strains by the method of diffusion on disk. the results obtained indicate that the extract of alkaloids from the aerial part of *Salvia chudaei* have proved to be actively inhibitory with respect to the strains tested, and are much more active on Fungal.

Key words: *Salvia chudaei*. alkaloid. TLC. antioxidant activity. antimicrobial activity. region of Tamanrasset.