

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE d'ADRAR  
FACULTE DES SCIENCES ET DE LA TECHNOLOGIE  
DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA MATIERE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE  
MASTER EN CHIMIE DE L'ENVIRENNEMENT



## Thème

**Criblage biologique de deux extraits : aqueux et méthanolique de  
deux plantes endémiques de la Wilaya d'Adrar :**

*Lawsonia inermis* et *zygophyllum album*.

**Présenté par :**

M<sup>elle</sup> YOUSFI Ilhem

M<sup>elle</sup> BAFKEUR Djamilia

**Membres de jury :**

**Président:**

Mr. SLIMANI Saide Univ. ADRAR

**Encadré par:**

Mr FANDOUGOUMA Omar Univ. ADRAR

**Examineurs :**

Mr. HABCHI Majide Univ. ADRAR

# DEDICACE

*Je dédie ce travail à ceux qui m'ont donné la vie mes **Parents***

*" **Papa et Mama** "*

*Gratitude*

*Pour leur soutien tout le long de mes études*

*A ma **Sœur** et mes **Frères** chacun par son nom*

*Ma grande **mère***

*À mes **Amis***

*A ceux qui m'ont tout donné sans rien en retour*

***Ilham et Djamila***

# REMERCIEMENTS

*Nous remercions ALLAH tout puissant de nous avoir accordé volonté et patience dans l'accomplissement de ce travail à terme.*

*Ce présent travail a été réalisé au sein du laboratoire d'université d'Adrar et laboratoire de l'hôpital d'Adrar.*

*Nos premiers remerciements s'adressent particulièrement à notre promoteur Mr. FANDOUGUMA Omar, Maître à l'Université Africaine d'Adrar, pour nous avoir guidées et soutenues, pour ses précieux conseils, ses orientations bienveillantes, son infatigable dévouement, sa disponibilité et son soutien moral.*

*Nous remercions toute l'équipe du laboratoire l'hôpital d'Adrar surtout M<sup>lle</sup>. Stra, Directeur de laboratoire de l'hôpital, qui nous a permis de réaliser ce travail au niveau du laboratoire de l'hôpital d'Adrar.*

*Nous exprimons nos remerciements à tous les enseignements du département des Sciences de la matière, pour tous le savoir qu'ils nous ont donné*

*Enfin, nous tenons à manifester notre reconnaissance à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail. Et toute mes aimée de promo 2016.*

### **Résumé:**

L'expression de criblage ou criblage à haut débit (high-throughput screening, HTS) désigne dans le domaine de la pharmacologie, de la biochimie, de la génomique et de la protonique, les techniques visant à étudier et à identifier dans les chimies théoriques et bibliothèques, des molécules aux propriétés nouvelles, biologiquement actives. Dans ce travail, nous vison deux plantes endémiques de la région Adrar: *Lawsonia inermis* et *Zygophyllum album*. Dans le premier temps, nous faisons des extractions avec des solvants organiques courants. Ensuite, dans un seconde temps, nous évaluons ces extraits biologiquement sur des bactéries pour mieux valoriser ces extraits.

**Mot clé :** *Lawsonia inermis*, *Zygophyllum album*, extractions, antibactériens,

### **Abstract:**

The expression screening or high throughput screening (high-throughput screening, HTS) refers in the field of pharmacology, biochemistry, genomics and protonic, techniques to investigate and identify in theoretical chemistry and libraries of molecules with new properties, biologically active. In this work, we mink two endemic plants of the Adrar region: *Lawsonia inermis* and *Zygophyllum album*. In the first, we extracted with common organic solvents. Then, in a second-time, we evaluated these biologically extracts on bacteria for better use of these extracts.

**Key words:** *Lawsonia inermis*, *Zygophyllum album*, extracted, bacterial

# Sommaire

Remerciement .....	i
Résumé.....	ii
Summary.....	iii
Abréviations, Symboles et Unités utilisées.....	iv
Liste des figures .....	v
Liste des tableaux .....	vi
<b>Introduction générale</b>	
Introduction générale .....	1
<b>Chapitre I: Généralité</b>	
I-Métabolites Secondaire .....	3
II- Généralités.....	3
III-Biosynthèse.....	4
IV-Les composés phénoliques.....	6
V- Rôle des composés phénoliques.....	6
VI-Classification et type de composés poly phénols.....	6
VI -1. Flavonoïdes.....	8
VI-2. Anthocyanosides.....	10
VI-3.Les saponines.....	11
VI-4. Tannins.....	11
VI.4.1. Tannins hydrolysables.....	12
VI.4.2. Tannins condensés ou tannins cat chiques ou proanthocyanidols .....	12
VI-5. Phénols simples et les acides phénoliques.....	12
VI.5.1. Acide phénols dérivés de l'acide benzoïque.....	12
VI.5.2. Acide phénols dérivés de l'acide cinnamique.....	13

VI.5.3. Phénols simples.....	13
VI-6. Coumarines.....	13
VI-7. Quinones.....	13
VI-8. Stilbène.....	13
VI-9. Lignanes.....	14
VI-10. Les xanthones.....	14
VII- Distribution des flavonoïdes.....	14
VIII-Propriétés Biologiques Des Poly phénols.....	15
IX-Pharmacologie des composés phénoliques.....	17
IX-1 Propriétés pharmacologiques des tannins.....	17
IX-2 Propriétés pharmacologique des flavonoïdes.....	18
X-Critères de sélection des extraits.....	20
X-1 Criblage chimique.....	21
X-2- Criblage biologique.....	21

## Description Géographique et Botanique

### Chapitre II : Description Géographique et Botanique

I-Géographique.....	24
II- Botanique.....	24
a- Le Zygophyllum album.....	24
b- Lawsonia inermis.....	25

### Chapitre III : Parti expérimental

Introduction .....	28
I –récolte des plantes .....	28
II- Extraction des plantes.....	28
III-Activité antibactérienne.....	29
III-1-Définition.....	29
a-Méthode des puits.....	30

b-Méthode des disques.....	30
III-2- Espèce utilisée.....	31
➤ Définitions.....	31
➤ Pseudomonas aeruginosa.....	31
➤ Escherichia coli (E. coli).....	31
➤ Staphylococcus aureus.....	32
IV- L'étude de l'activité antibactérienne des extraits.....	33
a. Matériels et équipements utilisés.....	33
b. Les produits utilisés.....	33
c. Souche à tester.....	34
d. Mode opératoire.....	34
• Préparation des solutions de produits synthétisés.....	34
• Préparation de milieu de culture (MH).....	34
• Evaluation de concentration des spores par dilution et comptage.....	34
• Mise en test.....	34
<b>Conclusion générale</b>	
Conclusion générale .....	36
<b>Références bibliographiques</b>	
Références bibliographiques.....	37



## **Abréviations, Symboles et Unités utilisées**

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ARN: Acide Ribonucléique.

CFU: Colony forming unit.

C4H : cinnamate 4-hydroxylase.

CCM: Chromatographie sur Couche Mince.

$\text{Cu}^{2+}$  : Ion de cuivre.

$^{\circ}\text{C}$  : Degré Celsius.

DMBA : 7,12 diméthyl benz(a)anthracène.

DMSO: Diméthyl Sulfoxyde.

DPPH: 2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyle.

$\text{Fe}^{2+}$  : Cation de fer.

$\text{Fe}^{3+}$  : Ferricion.

G: Gram.

g : gramme.

HIV : Humane immunodéficiencence virus.

$\text{H}_2\text{O}_2$  : Peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée).

HPLC: High Performance Liquid Chromatography.

L: litre.

LDL: Low-density lipoprotein.

ml: milliliter.

mm: millimètre.

$\mu\text{m}$  : Micromètre.

mg : Microgramme.

MH: Muller Hinton.

nm: Nanomètre.

Na Cl : Chlorure De Sodium.

NMU : Nnitroso méthyl urée.

O2: Oxygène.

OH : hydroxyles.

PAL : phénylalanine ammonia-lyase.

SIDA : syndrome d'immune déficience acquise.

UV : Ultraviolet.

%: pourcentage.



## Liste des figures

Figure	Titre	Page
(1)	Biosynthèse des composés phénoliques le plus largement distribués par la voie De shikimate. <b>PAL</b> : phénylalanine ammonia-lyase ; <b>C4H</b> cinnmate 4-hydroxylase	5
(2)	Structure du 2-phényle chromane	8
(3)	Structure générale des flavonoïdes	8
(4)	Structures des squelettes de base des flavonoïdes	10
(5)	Structure des anthocyanosides	11
(6)	Gallate d'épigalocathéchine	11
(7)	Structure chimique des acides gallique et ellagique	12
(8)	Coumarine	13
(9)	Manguiférine	14
(10)	Position de la wilaya d'Adrar	23
(11)	Photo de <i>Zygophyllum album</i>	24
(12)	Photo de <i>Lawsonia inermis</i>	26
(13)	Photo d'un appareil Soxhlet	28
(14)	Photo de bactérie <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	30
(15)	Photo de bactérie <i>Escherichia coli</i>	31
(16)	Photo de bactérie <i>Staphylococcus aureus</i>	32
(17)	Photo d'Effet inhibiteur des extraits sur <i>Escherichia coli</i>	35



## Liste des tableaux

<b>Tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
(1)	Structure des squelettes des poly phénols	7
(2)	Teneur en flavonoïdes dans quelques fruits et légumes	15
(3)	Rendement des extrais	28
(4)	Résultats de l'activité antibactérien des extraits de <i>Zygophyllum Album</i>	34
(5)	Résultats de l'activité antibactérien des extraits de <i>Lawsonia inermis</i>	34

### Introduction générale

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement, afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies, ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être une grande diversité de structure chimique et ils possèdent un très large éventail d'activités biologiques. Cependant l'évaluation de ces activités demeure une tâche très intéressante qui peut faire l'intérêt de nombreuses études. [1]

Le continent africain est doté d'une biodiversité parmi les plantes riches dans le monde, avec un nombre très élevé de plantes utilisées comme herbes, comme aliments naturels et pour des buts thérapeutiques. De nombreuses substances naturelles différentes ont été identifiées et beaucoup d'entre elles se sont utilisées dans la médecine traditionnelle pour la prophylaxie et le traitement des maladies.

Malgré la nature hétérogène d'une biodiversité immense du continent africain en général et de l'Algérie en particulier, il y a eu peu d'efforts consacrés au développement des agents thérapeutiques de ces plantes. [1]

La résistance des microorganismes aux antibiotiques est un problème majeur de la santé publique, comme l'attestent de nombreuses données publiées à l'étranger. [2]

A titre d'exemple *Staphylococcus aureus*, principal agent pathogène impliqué dans des infections nosocomiales, a acquis de nombreux mécanismes de résistance aux antibiotiques dès les années 1960. [3]

Ainsi l'augmentation de la résistance des agents pathogènes d'origine alimentaire et les perceptions négatives des consommateurs concernant l'utilisation de fibres synthétiques bactéricides, a orienté la recherche des antimicrobiens naturels étant provenant du règne végétal. [4]

En effet, depuis quelques années, un intérêt accru s'est porté sur des molécules d'origine végétal ayant montré des propriétés antimicrobiennes.

Dans ce travail ; notre objectif est d'étudier l'activité biologique de certaines plantes endémique de sud ouest algérien, nous avons choisi le *Zygophyllum album* (aggaya) et le *Lawsonia inermis* (hanné). Ces deux plantes sont reconnus dans en thérapeutique traditionnelle pour leurs propriétés biologiques et cosmétiques remarquables (digestion, maux d'estomac, diarrhée, ...). Cette information ethnobotanique a été obtenue à travers des enquêtes et vu l'utilisation de ces plantes dans la médecine traditionnelle dans la région d'Adrar. Pour cela, nous avons subdivisons notre travail à trois grandes parties :

## **Introduction Générale :**

---

La première partie est consacrée aux généralités et notions sur le métabolite secondaire, nous présentons un mis en point bibliographique décrivant une théorie et des recherches antérieurs sur les poly phénols.

Dans la deuxième partie, on décrivant une description géographique sur la zone d'étude choisie et une autre description botanique de plantes *Zygodhylum album* (aggaya) et le *Lawsonia inermis* (hanné) et leurs classifications, suivi par une partie expérimentale où nous faisons l'extraction méthanolique et aqueux de ces plantes, et leurs testes biologiques afin de valoriser leur activités en tant que antibactérien vis-à-vis des souches *E. Coli*, *P. aeruginosa* et *S. aureus*.

Nous terminons avec une conclusion générale et perspective jugées utiles pour ce travail C'est pourquoi nous sommes intéressés à étudier les deux plantes *Zygodhylum album* et *Lawsonia inermis*.

### I-Métabolites Secondaires :

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 [5].

Parmi ces substances on trouve les composés phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les saponosides, les huiles essentielles et les alcaloïdes qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique [6].

Les cyanobactéries produisent une grande variété de métabolites qui peuvent être des peptides de faibles poids moléculaires, des alcaloïdes, des trapézoïdes, des polysaccharides et des lipopolysaccharides. La, des poly phénols. La plupart de ces métabolites sont accumulés dans la biomasse cyan bactérienne [7].

### II-Généralités :

Les poly phénols ou composés phénoliques, sont des molécules spécifiques du règne végétal. Cette appellation générique désigne un vaste ensemble de substances aux structures variées qu'il est difficile de définir simplement [8]. A l'heure actuelle, plus de 8000 molécules ont été isolées et identifiées [9]. Selon leurs caractéristiques structurales, ils se répartissent en une dizaine de classes chimiques, qui présentent toutes un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH) [10]. Ces espèces sont des monomères, des polymères ou des complexes dont la masse moléculaire peut atteindre 9000[11].

Ils sont divisés en plusieurs catégories : anthocyanes, coumarines, lignanes, flavonoïdes, tannins, quinones, acides phénols, xanthomes et autres phloroglucinols où les flavonoïdes Représentent le groupe le plus commun et largement distribué (**Figure 1**). La grande diversité structurale des composés phénoliques rend difficile une présentation globale des méthodes qui permettent leur extraction et leur isolement, des processus mis en jeu au cours de leur biosynthèse, de leurs propriétés physico-chimiques et biologiques [8].

Les poly phénols sont présents partout dans les racines, les tiges, les fleurs, les feuilles de tous les végétaux. Les principales sources alimentaires sont les fruits et légumes, les boissons (vin rouge, thé, café, jus de fruits), les céréales, les graines oléagineuses et les légumes secs.

Les fruits et légumes contribuent environ pour moitié à notre apport en poly phénols, les boissons telles que jus de fruits et surtout café, thé ou vin apportant le reste [12].

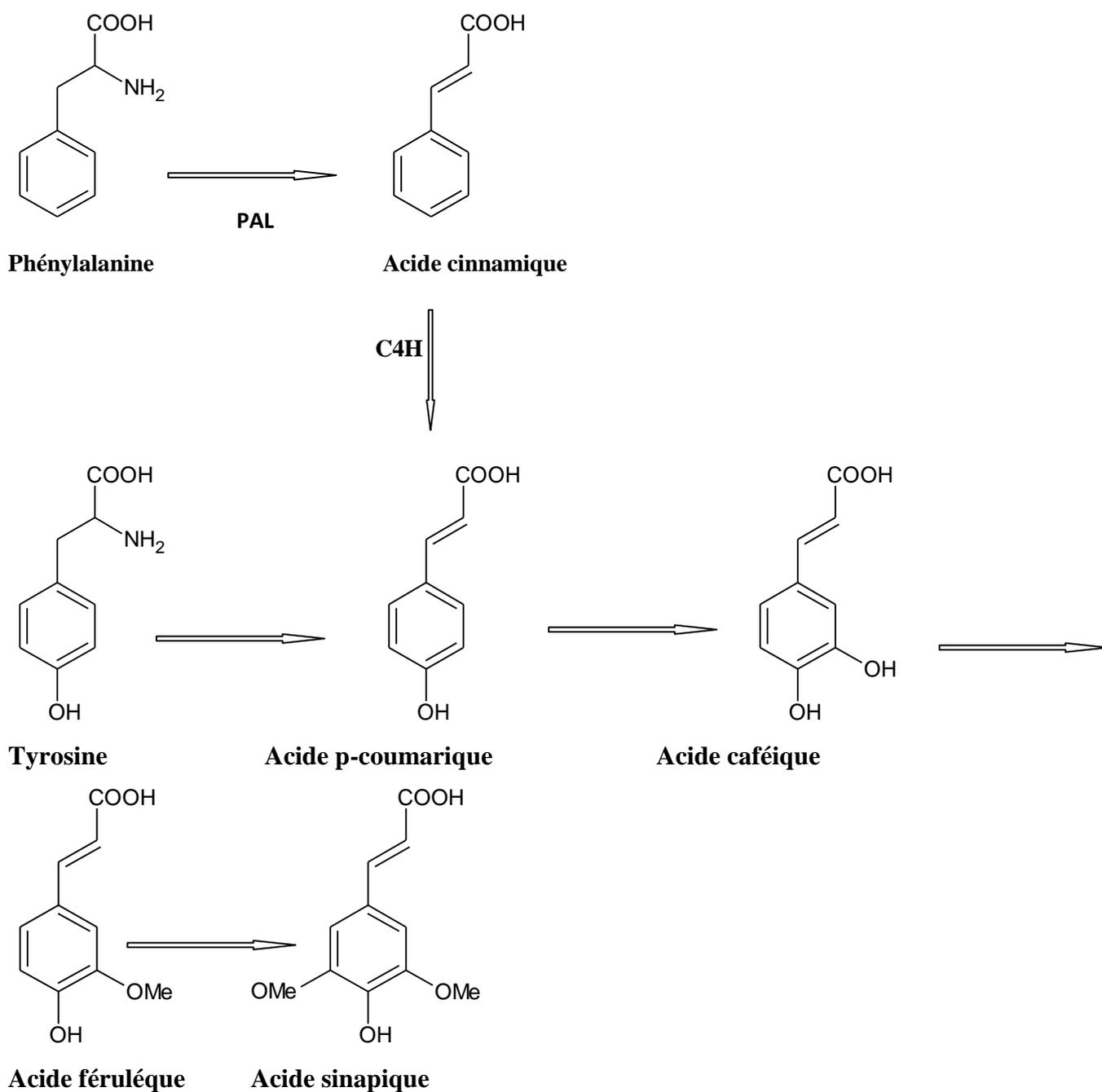
Les recherches des dix à quinze dernières années ont démontré que les composés phénoliques ne sont nullement des produits inertes du métabolisme. Ils subissent dans les tissus végétaux d'importantes variations quantitatives et qualitatives et interviennent dans de processus vitaux les plus divers. Le mode de leur action et sa signification physiologique ne sont pas encore toujours claires. Un rôle important est attribué aux phénols dans la résistance des plantes aux maladies, comme c'est le cas de la résistance du cotonnier à la maladie de flétrissement, la verticilliose. Le phénomène d'accumulation des substances phénoliques dans les tissus végétaux infectés ou dans les zones proximales est également observé à la suite de blessures causées par des facteurs mécaniques [13] et dans le cas de carence en certains éléments minéraux comme l'azote et le soufre [14].

Des travaux plus anciens [15;16] ont montré que les phénols seraient associés à de nombreux processus physiologiques: croissance cellulaire, différenciation organogène, dormance des bourgeons, floraison, tubérisation. Les poly phénols sont aussi connu pour leurs effets protecteurs contre le rayonnement UV, l'effet attracteur sur les insectes et les oiseaux pollinisateurs et pour ces propriétés antifongique et antibactérienne. [17] Ils interviennent dans la qualité alimentaire des fruits en déterminant la saveur, nous citons : les flavanones sont responsables de l'amertume des Cistus et peuvent donner naissance par transformation chimique à des dihydrochalcones à saveur sucrée, [18] les anthocyanes, composés de couleur rouge à violet, participent à la coloration des fruits mûrs et les tannins sont à l'origine de la sensation d'astringence des fruits non mûrs.

A partir des années quatre-vingt, c'est la découverte du rôle des radicaux libres dans les processus pathologiques qui a relancé l'intérêt des poly phénols en particulier les flavonoïdes dont les propriétés antioxydants sont très marquées.

### **III-Biosynthèse :**

L'origine biosynthétique des composés phénoliques des végétaux est proche, tous dérivant de la l'acide shikimique (**Figure 1**). Cette voie shikimate conduit à la formation des oses aux acides aminés aromatiques (phénylalanine et tyrosine) puis par désamination de ces derniers, aux acides cinnamiques et à leurs très nombreux dérivés : acide benzoïques, acétophénones, lignanes et lignines, coumarines. [8]



**Figure (1) :** Biosynthèse des composés phénoliques le plus largement distribués par la voie de shikimate. [19] **PAL** : phénylalanine ammonia-lyase ; **C4H** : cinnamate 4-hydroxylase.

#### IV-Les composés phénoliques :

Pour le chimiste, un composé phénolique est caractérisé par la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est lié au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside. Et pour le photochimiste, un composé phénolique est

un dérivé non azoté dont le ou les cycles aromatiques sont principalement issus du métabolisme de l'acide chikimique et/ou de celui d'un poly acétate.

Ces deux voies d'aromagenèse sont en effet sauf rares exception celles qui permettent au végétal de construire le noyau aromatique :

- La voie de l'acide shikimique conduit aux acides cinnamiques et à leurs dérivés : acides benzoïques et phénylpropanoïques, acétophénone, lignanes et lignines, coumarines.
- La voie de l'acétate conduit par cyclisation d'un poly acétate aux chromons, orcinols et autres quinones.
- La participation simultanée de ces deux précurseurs à un même processus conduit pour sa part [20].

Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou la maturation des fruits [21].

### V-Rôle des composés phénoliques

Le rôle des composés phénoliques est maintenant reconnu dans différents aspects de l'utilisation que fait l'homme des végétaux.

Les poly phénols sont partiellement responsables des qualités sensorielles et alimentaires des aliments végétaux (couleur, astringence, amertume, qualités nutritionnelles...).

L'astringence et l'amertume des nourritures et des boissons dépendent de la teneur en poly phénols [22].

Les poly phénols sont également utilisés comme additifs pour l'industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique.

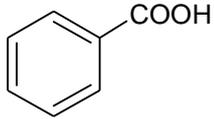
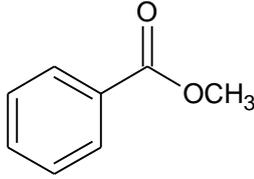
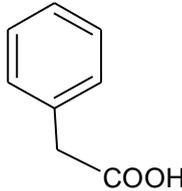
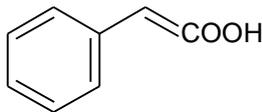
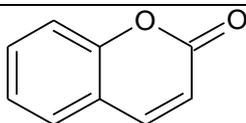
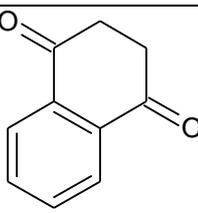
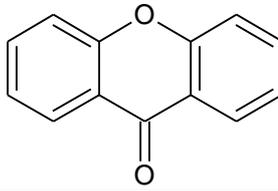
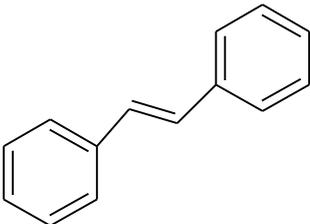
Les composés phénoliques représentent un système de défense pour les plantes contre les micro-organismes pathogènes [23].

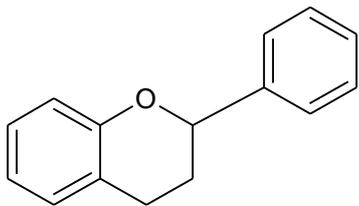
Ils sont largement utilisés en thérapeutique comme vasculoprotecteurs [24], anti-inflammatoires [25, 26], anti radicalaires et antioxydants [27], analgésiques [28, 29]

### VI-Classification et type de composés poly phénols :

Les poly phénols forment un très vaste ensemble de substances chimiques, ils peuvent être classifiés selon le nombre et l'arrangement de leurs atomes de carbones (**Tableau 1**). Ces molécules sont généralement trouvés conjuguées aux sucres et les acides organiques.

Tableau (1): Structure des squelettes des poly phénols. [19]

Nombre de carbones	Squelette	Classification	Exemple	Structure de base
7	C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>	Acides phénols	Acide gallique	
8	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub>	Acétophénones	Gallacetophénone	
8	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub>	Acide phényle acétique	Acide p-hydroxyphényl-acétique	
9	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Acides hydroxycinamiques	Acide p-coumarique	
9	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Coumarines	Esculitine	
10	C <sub>6</sub> -C <sub>4</sub>	Naphthoquinones	Juglone	
13	C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub> -C <sub>6</sub>	Xanthones	Mangiferine	
14	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>	Stilbènes	Resveratrol	

15	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>	Flavonoïdes	Naringénine	
----	--	-------------	-------------	---

### VI-1. Flavonoïdes :

C'est le groupe le plus représentatif des composés phénoliques. Ces molécules ont des structures chimiques variées et des caractéristiques propres. Elles sont omniprésentes dans les fruits, les légumes, les graines, les boissons tels le thé et le vin rouge et d'autres parties de la plante. [30] Elles sont considérées comme des pigments quasi universels des végétaux qui peuvent participer dans les processus photosynthétiques [31] dans la régulation de gène et dans le métabolisme de croissance. [32] Actuellement, environ de 4000 composés flavoniques sont connus [33] et ont tous le même squelette de base à quinze atomes de carbones qui sont arrangés à une configuration C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> de type phényle-2-benzopyrane ce qui est synonyme avec la structure 2-phényle chromane [34] (Figures 2 et 3).

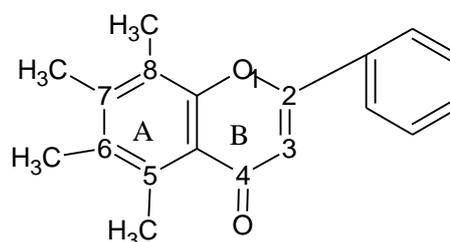
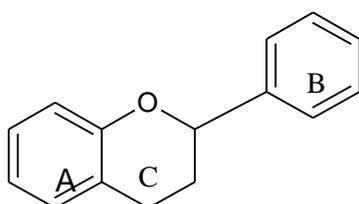
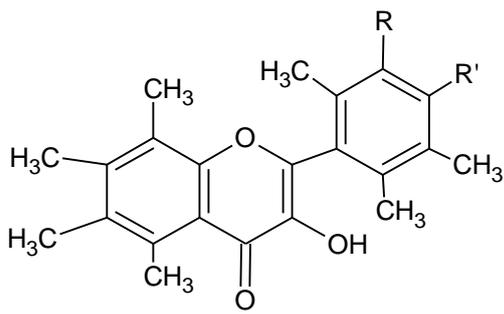


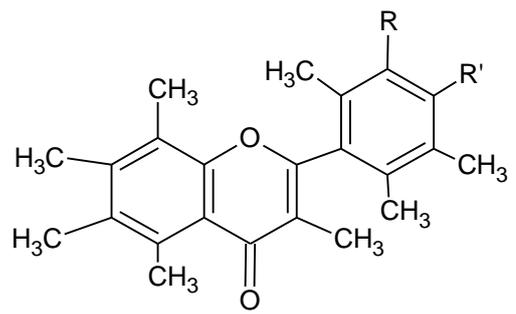
Figure (3) : Structure générale des

Figure(2):Structure du 2-phénylchromane Flavonoïdes

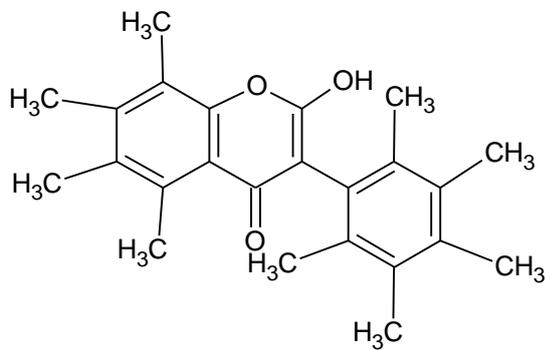
La nature chimique des flavonoïdes dépend de leur classe structurale, de degré d'hydroxylation et de méthylation, de degré de polymérisation, des substitutions et des conjugaisons sur le cycle C c'est-à-dire la présence : de double liaison C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub>, du groupe 3 O et la fonction 4-oxo [34] ; [30]. En basant sur leur squelette, les flavonoïdes peuvent être divisés en différentes classes : anthocyanidines ; flavonoles; isoflavonoles; flavones; isoflavones; flavanes; isoflavanes; flavanols ; isoflavanols; flavanones ; isoflavanones ; aurones [32];[33] (Figure 4).



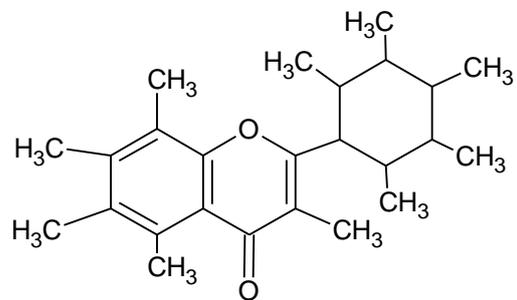
**Flavonole**



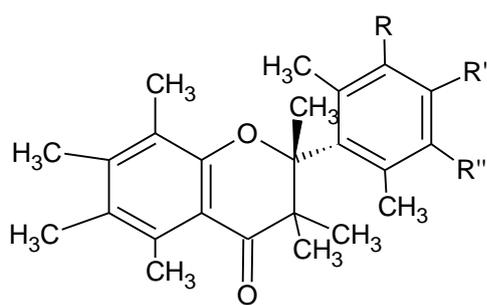
**flavone**



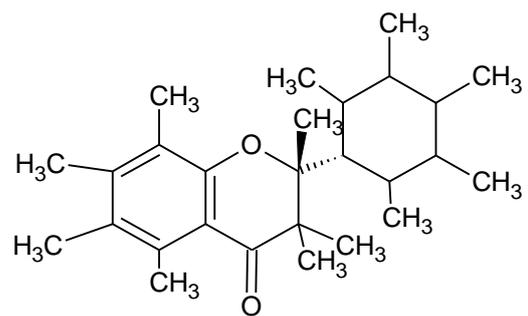
**isoflavone**



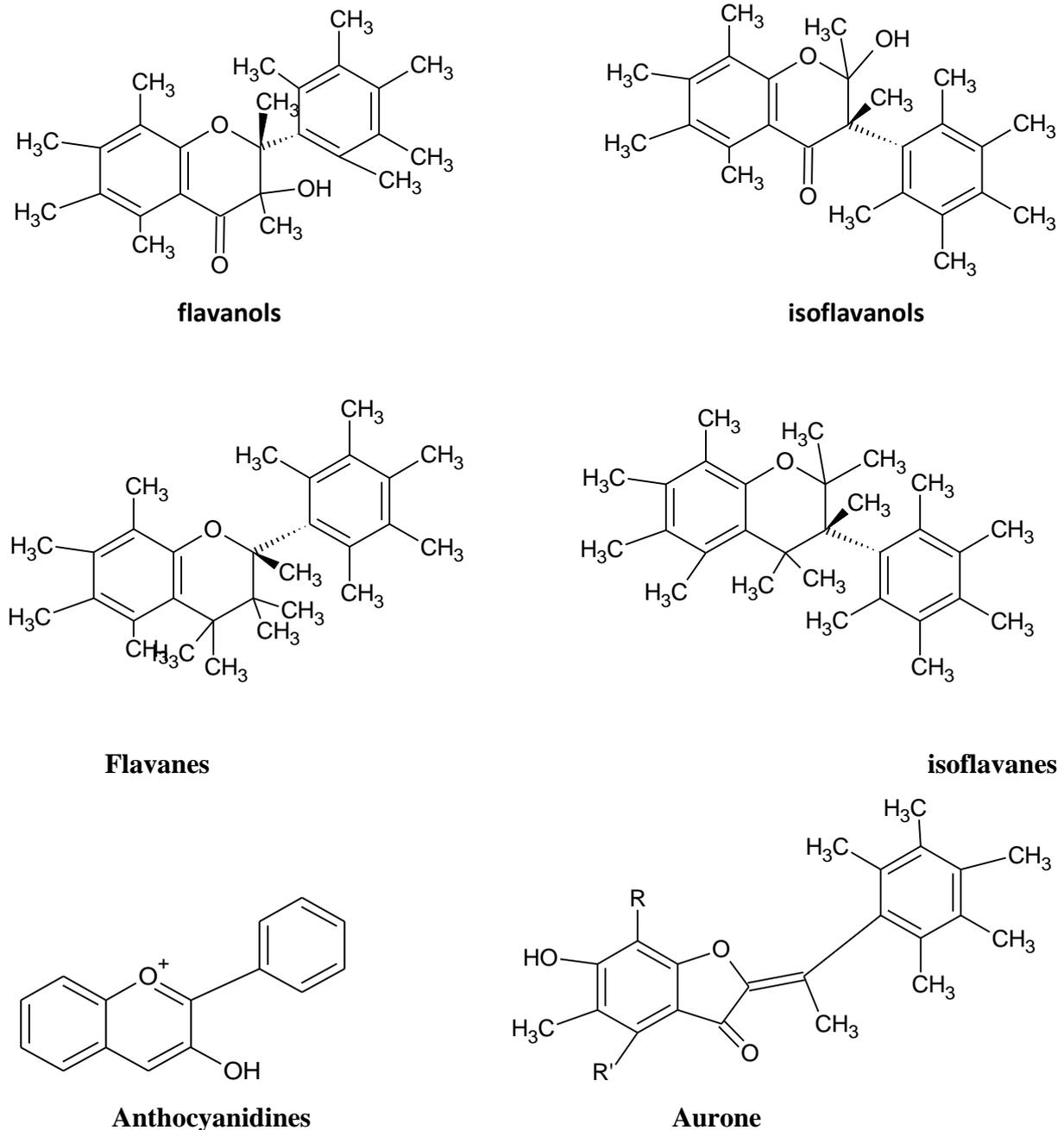
**Isoflavonole**



**flavanones**



**isoflavanones**



**Figure (4):** Structures des squelettes de base des flavonoïdes [32]

## VI-2. Anthocyanosides :

Ce sont des pigments vacuolaires rouges, roses, mauves, pourpres, bleus ou violets de la Plu part des fleurs et des fruits [8]. Ils sont caractérisés par l'engagement de l'hydroxyle en position 3 dans une liaison hétérosidique (les anthocyanosides). Leurs génines (les anthocyanidols) sont des dérivés du cation 2-phényle-benzopyrylium plus communément appelé cation flavylum. Ces pigments représentent des signaux visuels qui attirent les animaux pollinisateurs (insectes, oiseaux) [35].

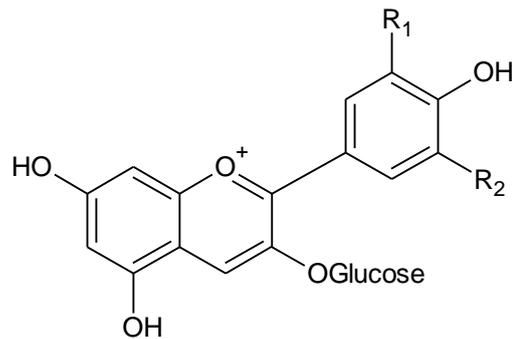


Figure (5) : Structure des anthocyanosides

### VI-3 .Les saponines :

Les Saponines sont des hétérosides de poids moléculaire élevé, composé d'un groupement sucre lié à un génine tri terpénique ou de stéroïde [36]

La définition classique de saponines est basé sur leur tension de surface; les saponines ont des propriétés détergentes, donnent des mousses stables dans l'eau et montrent une activité hémolytique.

Les Saponines représentent une famille de composés naturels fortement intéressants Pour leurs propriétés pharmacologiques, alimentaires et physiologiques [37].

### VI-4. Tannins :

Cette classe désigne le nom général descriptif du groupe des substances phénoliques polymériques, ayant une masse moléculaire compris entre 500 et 3000 qui présente, à coté des réactions classiques des phénols, la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines [38]; [39]. Les tannins sont caractérisés par une saveur astringente et sont trouvé dans toute les parties de la plante : l'écorce, le bois, les feuilles, les fruits et les racines [40].

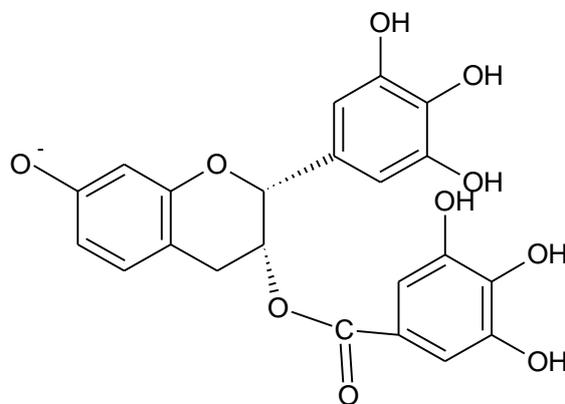


Figure (6) : Gallate d'épigalocathéchine.

On distingue deux groupes de tannins différents par leur structure et par leur origine biogénétique :

**V.4.1. Tannins hydrolysables :** qui sont des oligo- ou des polyesters d'un sucre et d'un nombre variable d'acide phénol. Le sucre est très généralement le glucose et l'acide phénol est soit l'acide gallique dans le cas des gallos tannins soit l'acide ellagique dans le cas des tannins classiquement dénommés ellagitannins (**Figure 7**) [8] ; [39].



**Figure (7) :** Structure chimique des acides gallique et ellagique

**VI.4.2. Tannins condensés ou tannins cat chiques ou proanthocyanidols:** qui se différencient fondamentalement des tannins hydrolysables car ils ne possèdent pas de sucre dans leur molécule et leur structure est voisine de celle des flavonoïdes. Il s'agit des polymères flavaniques constitués d'unités de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone.

Les proanthocyanidols ont été isolés ou identifiés dans tous les groupes végétaux, Gymnospermes et Fougères [41].

### VI-5. Phénols simples et les acides phénoliques :

Le terme d'acide phénol peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. En photochimie, l'emploi de cette dénomination est réservé aux seuls dérivés des acides benzoïque et cinnamique.

**VI.5.1. Acide phénols dérivés de l'acide benzoïque :** les acides phénols en C6-C1, dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque, sont très communs, aussi bien sous forme libre que combinés à l'état d'ester ou d'hétéroside. L'acide gallique et son dimère (l'acide hexahydroxydiphénique) sont les éléments constitutifs des tannins hydrolysables. D'autres aldéhydes correspondants à ces acides, comme la vanilline, est très utilisé dans le secteur pharmaceutique [8].

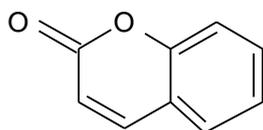
**VI.5.2. Acide phénols dérivés de l'acide cinnamique :** la plupart des acides phénols en C6-C3 (acides p-coumarique, caféique, férulique, sinapique) ont une distribution très large ; les

autres (acides o-coumarique, o-férulique) sont peu fréquents [8]. Les acides cinnamiques et caféïque sont des représentants communs du groupe de dérivés phénylpropaniques qui diffère par son degré d'hydroxylation et de méthylation [39].

**VI.5.3. Phénols simples :** tels que le catéchol, gâïacol, phloroglucinol... sont plutôt rares dans la nature à l'exception de l'hydroquinone qui existe dans plusieurs familles (Ericaceae, Rosaceae...). Les deux phénols hydroxylés, le catéchol avec deux groupes OH et le Pyrogallol avec trois, ont été montré pour sa toxicité vis-à-vis des microorganismes [39].

### VI-6. Coumarines :

Les coumarines qui sont aussi les dérivés de C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>, appartiennent au groupe des composés connus par des benzo-pyrone [42] et toutes sont substituées en 7 par un hydroxyle. Elles se trouvent dans la nature soit à l'état libre ou bien combiné avec des sucres. Elles sont responsables de l'odeur caractéristique du foin [39].



**Figure (8) :** Coumarine.

### VI-7. Quinones :

Ce sont des composés oxygénés qui correspondent à l'oxydation de dérivés aromatiques avec deux substitutions cétoniques. Elles sont caractérisées par un motif 1,4-dicétone cyclohexane-2,5-diénique (para-quinones) ou, éventuellement, par un motif 1,2-dicétone cyclohexane-3,5-diénique (ortho-quinones) [8]. Elles sont ubiquitaire dans la nature, principalement dans le règne végétal et sont fortement réactifs [39].

### VI-8. Stilbène :

Les membres de cette famille possèdent la structure C<sub>6</sub>-C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> comme les flavonoïdes, ce sont des phytoalexines, composés produits par les plantes en réponse à l'attaque par les microbes pathogènes fongiques, bactériens et viraux. Les sources principales des stilbènes sont les raisins, les vins, le soja et les arachides [19].

### VI-9. Lignanes :

Ce sont des composés dont la formation implique la condensation d'unités Phénylpropaniques (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>). Leur distribution botanique est large, plusieurs centaines de Composés ont été isolés dans environ soixante dix familles.

### VI-10 .Les xanthones

Les propriétés pharmacologiques reconnues des xanthones sont essentiellement: leur activité antimicrobienne, leur cytotoxicité et surtout l'inhibition de la monoamine-oxydase [43]

La manguiférine est une xanthone qui possède la propriété d'inhibition envers la peroxydation des lipides, ainsi que des propriétés de capteurs de radicaux libres contre les anions super oxydes [44]

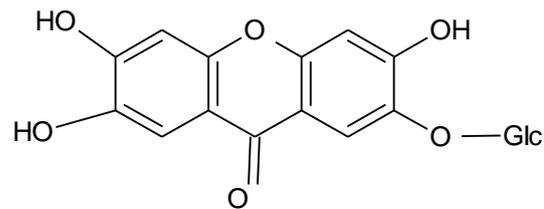


Figure (9) : Manguiférine.

### VII-Distribution des flavonoïdes :

Les flavonoïdes se répartissent dans les organes aériens jeunes (jeunes feuilles, boutons floraux) où ils sont localisés dans les tissus superficiels (assise palissadique), et parfois dans les racines [45]. Au niveau cellulaire, les flavonoïdes de type hétérosides, sont dissous dans le suc vacuolaire ou localisés dans les chloroplastes et les membranes des végétaux [8]. Chez les angiospermes la diversité structurale des flavonoïdes est maximale avec une trentaine de flavonoïdes identifiés chez les *Astéracées* [8] ; [45]. En définitive, les flavonoïdes possèdent une large répartition dans le monde végétal. Le tableau 2 illustre la répartition des 4-oxo-flavonoïdes dans quelques fruits et légumes.

**Tableau (2) :** Teneur en flavonoïdes dans quelques fruits et légumes

Fruits et légumes	mg/kg poids	Aglycones
Pamplemousse	2700 /6000	Hespérétine
Orange	1700 /2800	Naringénine
Persil	500	Apigénine
Laitue	320	Quercétine
Oignon	300	Quercétine + Kaempférol
Endives	290	Kaempférol
Myrtilles cultivées	165	Quercétine
Chou frisé	150	Quercétine + Kaempférol
Ciboulette	110	Quercétine + Kaempférol
Chou frisé (serré)	105	Quercétine + Kaempférol
Poireau	100	Quercétine + Kaempférol
Céleri	100	Apigénine + Lutéoline
Cerises aigres	100	Quercétine + Kaempférol
Cassis	80	Quercétine + Kaempférol
Haricots Verts	70	Quercétine + Kaempférol
Choux de Bruxelles	65	Quercétine + Kaempférol
Raisins	50/100	Quercétine + Kaempférol
Abricots	55	Quercétine
Mures	50	Quercétine + Kaempférol
Brocolis	35	Quercétine + Kaempférol
Pommes	30	Quercétine
Groseilles	30	Quercétine + Kaempférol
Framboises	30	Quercétine + Kaempférol
Prunes	30	Quercétine + Kaempférol
Cerises douces	12	Quercétine + Kaempférol

### VIII-Propriétés Biologiques Des Poly phénols :

Les recherches récentes sur les composés phénoliques en générale et les flavonoïdes en particulier sont très poussées en raison de leurs divers propriétés physiologiques comme les activités antiallergique, anti-atherogénique, anti-inflammatoire, hépato protective, antimicrobienne, antivirale, antibactérienne, anticarcinogénique, anti-thrombotique, cardioprotective et vas dilatoire [12; 46]. Ces actions sont attribuées à leur effet antioxydant qui est due à leurs propriétés redox en jouant un rôle important dans la destruction oxydative par la neutralisation des radicaux libres, piégeage de l'oxygène, ou décomposition des peroxyde [47].

Les effets bénéfiques **des poly phénols** intéressent particulièrement deux domaines : la phytothérapie et l'hygiène alimentaire [48]. D'après les études multiples attestant de l'impact positif de la consommation de poly phénols sur la santé et la prévention des maladies, les industriels commercialisent maintenant des aliments enrichis en poly phénols ou des suppléments alimentaires. De plus, leur activité antioxydant assure une meilleure conservation des denrées alimentaires en empêchant la peroxydation lipidique. Dans l'industrie cosmétique, les composés phénoliques trouvent leur application pratique en luttant contre la production des radicaux libres néfastes dans la santé et la beauté de la peau. En phytothérapie, même si certaines indications sont communes à plusieurs classes (les propriétés vasculoprotectrices, sont par exemple aussi bien attribuées aux flavonoïdes qu'aux anthocyanes, tanins et autres coumarines), chaque classe chimique semble être utilisée pour des bénéfices spécifiques [10].

En ce qui concerne **les flavonoïdes**, ces composés peuvent empêchés les dommages oxydatifs par différentes mécanismes d'actions : soit par capture des radicaux hydroxyles, su peroxydes, alkoxyles et peroxydes [49]; soit par chélation des métaux (le fer et le cuivre) qui sont d'importance majeure dans l'initiation des réactions radicalaires ; soit l'inhibition des enzymes responsables de la génération des radicaux libres [50 ; 51].

Ils jouent un rôle très important dans le traitement du diabète (inhibant l'aldose réductase), de la goutte (inhibant la xanthine oxydase), des inflammations (inhibant la li oxygénase, le phospholipide et la cyclooxygenase), des hépatites, des tumeurs, de l'hypertension (quercitrine), des thromboses (flavonols), des allergies et des affections bactériennes et viraux (anti-HIV) [52];[39];[34].

Mais, on attribue également aux flavonoïdes des propriétés Neurosédatives, antispasmodiques, diurétiques, anti-œstrogènes (isoflavones), contre la sénescence cérébrale et ses conséquences telle l'altération de la mémoire et la confusion.

D'autres parts, les citroflavonoïdes (flavonoïdes provenant de divers *Citrus*) et la fragilité capillaire (insuffisance veino-lymphatique, crise hémorroïdaire) [10].

**Les anthocyanes** sont également utilisés dans les troubles de la fragilité capillaire (vigne rouge, *Vitis vinifera* L.), mais aussi comme diurétiques, voire même antiseptiques urinaires. Leur plus grande spécificité reste cependant leur propriété d'améliorer la vision nocturne en facilitant la régénération du pourpre rétinien (myrtille, *Vaccinium myrtillus* L. ; cassis, *Ribes nigrum* L.) [10]. Présente comme des couleurs brillant dans les fruits et les légumes, les anthocyanidines ont montré leur effet inhibiteur de la croissance des lignées cellulaires humaines [53].

**Les tanins** sont considérés comme des anti-nutriments grâce aux divers effets nuisibles à savoir la digestion réduite des aliments, la faible biodisponibilité des micronutriments et les dommages du foie [54].

Ils sont dotés d'un certain pouvoir astringent, par lequel on explique leurs propriétés vasculoprotectrices, cicatrisantes et anti-diarrhéiques (chêne, *Quercus* spp.).

Les proanthocyanidines dimères de l'aubépine (*Crataegus* spp.) seraient de bons sédatifs cardiaques [10]. Concernant le pouvoir antioxydant des tannins, cette propriété est très remarquable due à leurs noyaux phénols et la présence des groupes di- ou trihydroxyles sur le cycle **B** et les groupes méta **5, 7** dihydroxyles sur le cycle **A**. Les tannins catéchiques du thé vert : gallate d'épicatéchine, gallate d'épigallocatechine et l'épicatéchine sont des puissants extracteurs des radicaux libres [55], ils inhibent les ions  $\text{Cu}^{2+}$  qui catalysent l'oxydation des lipoprotéines dans les macrophages *in vitro* [56].

**Les coumarines** sont utilisées pour leurs propriétés vasculoprotectrices, neurosédatives, diurétiques, stomachiques et carminatives [10].

Ils ont la capacité de capter les radicaux hydroxyles, super oxydes, et peroxydes. Ils préviennent également la peroxydation des lipides membranaires [52].

**Les acides phénols et ces dérivés** sont considérés comme responsables de l'activité cholérétique de l'artichaut et les propriétés antipyrétiques et anti-inflammatoires des dérivés Salicylés [10].

Les composés possédant les activités antioxydants et Anti radicalaires sont l'acide caféique, l'acide gallique et l'acide chlorogénique [57].

Pour l'acide caféique, il se montre très efficace contre les virus, bactéries et champignons [39].

Alors, l'acide gallique a pour pouvoir de réduire la viabilité des cellules cancéreuse du poumon chez les souris *in vitro* et que la combinaison de cet acide avec les médicaments anticancéreux tels la cis platine peut être un traitement efficace pour ce type de cancer [58].

Il peut aussi prévenir les dommages oxydatifs d'ADN cellulaire à une faible concentration et exerce une forte activité antiproliférative tels que la quercitrine sur les cellules humaines cancéreuses du colon et les cellules épithéliales du foie chez les rats normaux [59].

Certaines **quinones**, dérivant de l'antraquinone, sont des laxatifs stimulants. Elles sont rencontrées dans la bourdaine (*Rhamnus frangula* L.), les sénés (*Cassia* spp.) et les aloès (*Aloe* spp.).

D'autres activités antidépressives (hypericin), anti-protozoaires, antivirales, antibactériennes, fongicides et antiallergiques ont été décrites et plusieurs molécules du groupe ont une toxicité non négligeable. [8;10].

### **IX-Pharmacologie des composés phénoliques:**

#### **IX -1 Propriétés pharmacologiques des tannins**

Plusieurs observations, chez les humains comme chez les animaux de laboratoires suggèrent que les tannins exhibent un large spectre de propriétés pharmaceutiques, thérapeutiques et chimio protectrices dues à leur propriété anti radicalaire [60].

En effet, les tannins protègent contre les toxicités induites par différents agents (hydrogène peroxyde, acétaminophène, extraits contenus dans la fumés du tabac...), contre l'hypercholestérolémie et les changements de la formule sanguine (ALT, BUN et CK). Ils jouent aussi un rôle dans la prévention contre les deux formes de mort cellulaire connues, apoptose et nécrose, diminuant ainsi les dommages causés dans l'ADN lors de ces deux dernières. L'action cytoprotectrice des proanthocyanidines est supérieure à celle des vitamines **C**, **B** et bêta-carotène[61].

#### **IX-2 Propriétés pharmacologique des flavonoïdes**

##### **➤ Propriétés anti-inflammatoires et immunologiques :**

De nombreux travaux semblent indiquer que les flavonoïdes possèdent des propriétés an inflammatoires et qu'ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire [62; 63 ; 64].

Les flavonoïdes sont de puissants inhibiteurs de la prolifération des lymphocytes **B** et **T** [65;66].

Leur effet sur les lymphocytes B ou T peut être variable: en effet, les flavones (apigénine, lutéoline et 7,3',4' hydroxyflavone) et les flavonols (kaempférol, quercétine et myricétine) inhibent la prolifération des lymphocytes T alors que la myricétine est active sur les lymphocytes B [65].

L'effet antiprolifératif des flavonoïdes pourraient s'expliquer par leur capacité à inhiber l'activité de certaines protéines kinases (protéine Kinase **C** ou protéine tyrosine kinase) [65; 66].

Par ailleurs, les flavonoïdes sont susceptibles de diminuer la libération d'histamine des basophiles et des mastocytes [67].

La quercétine a un effet anti inflammatoire en inhibant les enzymes de synthèse la cyclooxygénase (pour les prostaglandines) et la li-oxygénase (pour les leucotriènes) des principaux médiateurs de l'inflammation [67].

### ➤ **Propriétés antivirales et antibiotiques :**

La stratégie de recherche d'un composé antiviral consiste à mesurer la réduction de l'infection virale de cellules en culture. Une substance peut agir à différents niveaux du cycle viral [45] :

- au niveau de la pénétration du virus dans la cellule hôte,
- au niveau de la réplication du virus et la synthèse des protéines virales,
- au niveau de l'assemblage et de la sortie du virus hors de la cellule hôte.

Les flavonoïdes sont capables d'agir au niveau de la synthèse des protéines virales permettant ainsi une bonne protection des souris vis-à-vis d'une infection virale à la suite d'une administration journalière de 3-O-méthylquercétine à raison de **20 mg/kg** pendant **9** jours [68].

D'autres chercheurs [69] ont également montré une corrélation entre l'effet inhibiteur de certains flavonoïdes sur divers virus de l'herpès et leur capacité à augmenter les taux intracellulaires en AMPc dans des cellules infectées.

Les travaux de Spedding et al. (1989) ont mis en évidence un impact des flavonoïdes sur le rétrovirus HIV responsable du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA). Ils ont démontré que les flavonoïdes sont de bons inhibiteurs de la reverse transcriptase. Cependant, leur impact semble plus fort sur l'ADN et l'ARN polymérase de la cellule hôte que sur la reverse transcriptase virale [70].

Certains travaux de recherche [71] ont montré que les flavonoïdes pouvaient avoir une action plus sélective en interagissant avec une glycoprotéine de surface du virus HIV (la gp120), en empêchant ainsi la liaison du virus à la cellule hôte. Enfin, les flavonoïdes seraient susceptibles d'inhiber l'intégrase rétrovirale du virus HIV-1 qui assure l'intégration du génome viral à celui de la cellule hôte [71;72].

Des études ont apporté l'évidence de l'effet bactéricide de différents flavonoïdes sur l'ADN d'une bactérie staphylococcus aureus.

Le mécanisme des effets antimicrobiens des poly phénols est sans doute très complexe. Parmi les hypothèses avancées, il faut citer: L'inhibition des enzymes extracellulaires microbiennes ; la séquestration de substrat nécessaire à la croissance microbienne ou la chélation de métaux tels que le fer ; l'inhibition du métabolisme microbien [73].

### ➤ **Propriétés antinéoplasiques :**

Des études réalisées chez la souris ont mis en évidence les effets protecteurs des flavonoïdes vis-à-vis des promoteurs de tumeurs [74].

La quercitrine, par exemple, est l'un de ces phénoliques capables de diminuer, chez le rat, l'incidence des tumeurs mammaires induites par le DMBA (7,12 diméthyle(a)anthracène) ou la NMU (Nnitrosométhylurée) [75].

Les flavonoïdes peuvent également interférer avec le métabolisme des cénobiotiques notamment en stimulant les systèmes de détoxification [76 ; 77].

En donnant à des rats ou à des souris une alimentation contenant de la flavone ou de la quercitrine, des chercheurs [78] ont observé des effets chimio préventifs à divers niveaux en particulier au niveau du foie par une stimulation de la glutathion-Transférase.

Enfin, les flavonoïdes peuvent inhiber les enzymes intervenant dans l'activation des pro carcinogènes en intermédiaires mutagènes et carcinogènes [79 ; 80].

### ➤ **Propriétés antioxydantes des flavonoïdes :**

Les poly phénols et surtout les flavonoïdes sont des antioxydants puissants susceptibles d'inhiber la formation des radicaux libres et de s'opposer à l'oxydation des macromolécules [81].

En effet, les flavonoïdes sont des piègeurs efficaces des radicaux libres les plus pro oxydants, particulièrement impliqués dans la peroxydation lipidique, puisqu'ils la préviennent comme l' $\alpha$ -tocophérol. Ils formeraient des espèces radicalaires intermédiaires peu réactives [82; 83].

De plus, ils ont une activité créatrice des métaux tels que cuivre et fer qui, à l'état libre, peuvent être à l'origine de la production de radicaux libres par les réactions de Fenton et d'Haber-Weiss [83; 81].

Les flavonoïdes sont de puissants inhibiteurs de l'oxydation des LDL [82;84].

### ➤ **Propriétés pro oxydantes des flavonoïdes :**

Les flavonoïdes sont connus pour avoir des propriétés antioxydants mais ils sont susceptibles d'avoir un effet peroxydant [85].

En effet, plusieurs d'entre eux ont été décrits comme responsables d'auto-oxydation et de la génération de radicaux oxygénés actifs, comme le peroxyde d'hydrogène [82;86].

L'activité pro-oxydante de ces substances est le résultat de leur capacité à réduire les métaux comme le  $Fe^{+3}$  pour donner  $Fe^{+2}$  lequel réagira avec  $O_2$  ou  $H_2O_2$  avec génération d'initiateurs de l'oxydation [85].

En définitive, certains flavonoïdes pourraient accélérer la survenue de l'atteinte oxydative de l'ADN, des protéines et des glucides *in vitro* [86;85].

Cependant, le potentiel pro-oxydant de ces composés ne doit pas être négligé dans le mécanisme d'action des flavonoïdes.

## **X-Critères de sélection des extraits**

Plusieurs méthodes sont mises à la disposition du photochimiste pour évaluer les extraits bruts. Il s'agit du criblage chimique et biologique.

### **X-1 Criblage chimique**

L'analyse des extraits bruts par chromatographie sur couche mince (CCM) et les observations sous les lampes UV à 254 nm et 366 nm et après révélation avec des réactifs chimiques spécifiques [87], nous permet dans un premier temps d'avoir une idée sur les classes de composés des extraits testés.

L'analyse par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) couplée avec des méthodes de détection par spectrophotométrie UV et par spectrométrie de masse (MS) des extraits bruts permet de déduire des informations importantes sur la composition de ces extraits. En effet, certains composés présentent un spectre UV caractéristique et sont facilement détectables dans l'extrait brut (flavonoïdes par exemple). Le spectre SM peut donner des informations sur la masse moléculaire de ces composés. D'autre part, certains fragments spécifiques apportent des informations supplémentaires pour déduire la structure de base de ces substances.

### X-2- Criblage biologique

Pour guider l'isolement de nouvelles molécules actives, chaque extrait est soumis à une multitude de tests biologiques. Ces tests doivent être simples, rapides et spécifiques pour permettre une sélection efficace des extraits. Notons toutefois qu'un résultat négatif, obtenu pour un extrait testé sur une cible biologique donnée, n'exclut pas toujours la présence de substances actives dans cet extrait (cas de synergie). Dans certains cas également, la concentration de ces substances est peut être très faible pour que l'on puisse détecter leur activité sur plaque CCM. Par conséquent, d'autres tests sont à envisager avant d'écarter tel ou tel extrait. Dans le cas où des extraits donnent des réponses positives, on peut passer à des étapes ultérieures de fractionnement de ces extraits pour rechercher les fractions actives par priorité, jusqu'à obtention des molécules pures responsable de l'activité biologique imputés à l'extrait ou à la plante (fractionnement guidés par l'activité biologique).

Les plantes sont depuis toujours une source essentielle de médicament. Aujourd'hui encore une majorité de la population mondiale, plus particulièrement dans les pays en voie de développement, se soigne uniquement avec des remèdes traditionnels à base de plantes. De l'aspirine au Taxol, l'industrie pharmaceutique moderne elle-même s'appuie encore largement sur la diversité des métabolites secondaires végétaux pour trouver de nouvelles molécules aux propriétés biologiques inédites. Cette source semble inépuisable puisque seule une petite partie des 400.000 espèces végétales connues ont été investiguées sur les plans photochimique et pharmacologique, et chaque espèce peut contenir jusqu'à plusieurs dizaines à centaines de constituants différents [88].

Dans le cadre de la recherche de molécules ou activités biologiques nouvelles d'origine végétale, il est donc préférable de ne pas baser le choix des plantes à étudier sur le seul hasard, mais de le circonscrire selon divers critères. Le plus utilisé est celui de leur emploi en médecine traditionnelle ou populaire qui valorise l'expérience accumulée par les autochtones dans le monde entier, y compris dans les pays occidentaux. Une autre possibilité est de considérer l'écosystème dans lequel se développent les espèces végétales.

La recherche de molécules aux propriétés anti radicalaires dans des plantes de montagne obéit par exemple à cette logique. En effet, celles-ci sont plus exposées aux rayons UV en altitude et ont donc dû développer des mécanismes de protection, peut-être basés sur des métabolites secondaires spécifiques.

## Chapitre -II-Description géographique et botanique

### I-GEOGRAPHIQUE :

Le Sahara est le plus grand des déserts, mais également le plus expressif et typique par son extrême aridité, c'est à dire celui dans lequel les conditions désertiques atteignent leur plus grande âpreté [89; 90].

La région d'Adrar se situe à environ 1500 km d'Alger, à l'extrême sud du pays. La ville, promue wilaya en 1974 à la faveur d'un nouveau découpage administratif, elle est limitée au nord par la wilaya d'El Bayadh, au nord-ouest par Béchar, à l'ouest par la wilaya de Tindouf. Au sud par le Mali au sud ouest par la Mauritanie. Elle a également des frontières par le sud-est avec la wilaya de Tamanrasset et Ghardaïa par le nord-est.

La région d'Adrar se caractérise par un climat très sec, Cette climat est connu par sa température élevée, sa précipitation rare et irrégulière, ses tempêtes de sable violentes, ces conditions rendent la région très hostile.



**Figure(10):** Position de la wilaya d'Adrar

### II- BOTANIQUE :

a- *Le Zygothymum album* connu sous le nom « aggaya », est une espèce du genre Zygothymum de la famille des Zygothymaceae [91], cette famille comprend approximativement 27 genres et 285 espèces [92], elle est représentée principalement dans les régions arides et semi arides : ainsi au Sahara Algérien on observe 7 genres et 27 espèces [93], elle constitue plus de 3% de la flore du désert dont plus du tiers est endémique [94].

Les espèces du genre zygothymum se présentent souvent sous forme de buissons bas, ramifiés dont les feuilles opposées (**Figure N°1**), composées en général de 2 folioles cylindriques, charnues et gorgées d'eau, ont donné le nom à la famille. Le fruit de *Z. album*

est une capsule portée par un pédoncule court. Elle est formée d'une partie inférieure soudée et d'une partie supérieure dont les 5 lobes libres ont à peu près la même longueur que la partie soudée [94].

Elle est considérée comme toxique, mais elle est utilisée, en décoction, en poudre ou en pommade pour les traitements des diabètes, des indigestions et des dermatoses.

### Classification scientifique

**Règne** Plante

**Division** Magnoliophyta

**Classe** Magnoliopsida

**Ordre** Zygophyllales

**Famille** Zygophyllaceae

**Genre** Zygophyllum

**Espèce** album

**Nom Scientifique :** *Zygophyllum album*

**Nom vernaculaire :** Aggaya



**Figure (11):** Photo de *Zygophyllum album*

**b- *Lawsonia inermis* L. (= *L.alba* Lamk.) (Henné)** est un membre de la famille Lythraceae qui se compose d'environ 500 espèces, largement répandue dans les régions tropicales avec relativement peu d'espèces dans les régions tempérées [95]. *Lawsonia inermis* est généralement considéré comme originaire d'Afrique et d'Asie. Il est largement

cultivé dans les régions tropicales du monde au Soudan, l'Égypte, la Chine et l'Inde. Les principaux pays producteurs sont le Soudan, l'Égypte et l'Inde [96].

Plante Henné pousse sur tout type de sol, de loam léger à loam argileux, mais fait de mieux sur les sols lourds, qui sont rémanentes de l'humidité. Il tolère un peu d'alcalinité dans le sol. La propagation est effectuée par les semences et les boutures [97].

Feuilles de henné ont été largement utilisées pendant des siècles au Moyen-Orient, l'Extrême-Orient et de l'Afrique du Nord comme colorant pour les ongles, les mains et pieds, les cheveux et textile. Henné est également utilisé dans le traitement des problèmes de peau, maux de tête, la jaunisse, l'amibiase et l'élargissement de la rate [98].

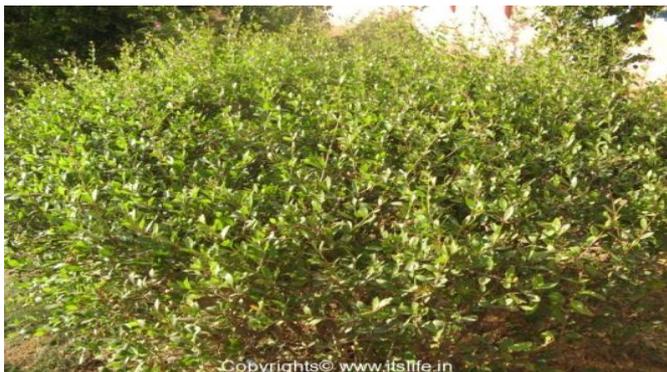
Henna a été utilisé aussi cosmétiquement et médicinal pendant plus de 9000 ans. Traditionnellement en Inde. Henné symbolise la fertilité. Son utilisation est devenue populaire en Inde en raison de son effet de refroidissement dans les étés indiens chauds. Feuilles de henné, fleurs, graines, écorce de tige et les racines sont utilisées en médecine traditionnelle pour traiter une variété de maladies comme la polyarthrite rhumatoïde, des maux de tête, les ulcères, la diarrhée, la lèpre, fièvre, leucorrhées, diabète, maladie cardiaque, hépatoprotecteur et agent colorant. [99-101]

### **Classification scientifique**

<b>Règne</b>	Plante
<b>Division</b>	Magnoliophyta
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Sous-classe</b>	Magnoliidae
<b>Ordre</b>	Myrtales
<b>Famille</b>	Lythraceae
<b>Genre</b>	Lawsonia

**Nom Scientifique :** *Lawsonia inermis*

**Nom vernaculaire :** Henné [102]



**Figure (12):** Photo de *Lawsonia inermis*

---

## Introduction

Dans ce travail, nous nous intéressons à l'activité antimicrobienne d'un extrait qui est testée *in vitro* par la méthode de diffusion sur gélose. Cette méthode a exactement le même principe que celui des tests d'antibiogramme. C'est-à-dire, l'application de patches imprégnés de principes actifs sur des milieux de cultureensemencés de microorganismes. L'activité antimicrobienne, quand elle était présente, se manifestait alors par des zones d'inhibition autour des disques. Notre objectif dans ce chapitre est l'extraction méthanolique et aqueuse d'une part de deux plantes endémiques de sud-ouest algérien (Adrar) *Z. album* et *L. inermis*, et d'autre part l'évaluation biologique de ces extraits en tant que antibactériennes.

### Matériels et équipements utilisés

- Autoclave de type Pbi ;
- Etuve ;
- Incubateur ;
- Réfrigérateur (ENIEM, Algeria) ;
- Gaz butane et bec bunsen ;
- Tubes stériles ;
- Pipettes Pasteur ;
- Pipettes graduée et micropipette ;
- Embouts pour micropipette ;
- Boîtes de Pétri ;
- Erlen Meyer (1000 ml)
- Plaque chauffante (VELP, SCIENTIFICA).

### Les produits utilisés

- Extrait des plantes *Z. album* et *L. inermis* ;
- hexane;
- éther de pétrole
- Eau distillée ;
- Méthanol;

### I –récolte des plantes :

Dans ce travail ; nous avons utilisé seulement la partie aérienne de deux plantes *Z. album* et *L. inermis* de la région de la wilaya d'Adrar. La récolte était entrepris

manuellement en pleine Floraison durant le mois de Février 2016. Les fleurs, les feuilles et les tiges récoltées sont séchées à l'abri de la lumière et à la température ambiante.

## II- Extraction des plantes:

Les deux plantes *Z. Album* et *L. inermis* ont été séché à l'abri de la lumière et broyé au laboratoire ; puis on prend une masse de 40 g et on les met dans un extracteur de Soxhlet. On extrait la poudre avec un volume de 250 ml d'une hexane ou essence légère (éther de pétrole bouillant à 40 - 60°C) jusqu'à ce que le matériel siphonné soit sans couleur.

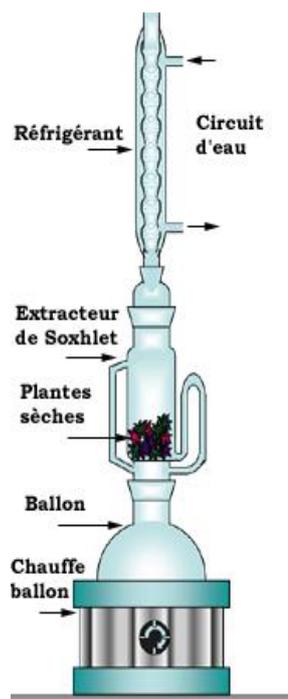
Après que les plantes dégraissées, on extrait la poudre demeurant dans l'extracteur de Soxhlet avec un volume de 250 ml de méthanol / eau jusqu'à ce que le matériel siphonné soit sans couleur. L'extrait méthanolique/aqueux est concentré à l'aide d'un Rota vapeur. Les rendements de ces extraits sont récapitulés dans le tableau suivant :

Après l'extraction on obtient sur les résultats suivants :

**Tableau(3) :** Rendement des extrais.

Plante (40g)	Extraite	Rendement(%)
<i>Zygophyllum album</i>	M	16,65
	A	6,45
<i>Lawsonia inermis.L</i>	M	17,39
	A	4,46

M : extrait méthanolique, A : extrait aqueuse.



**Figure(13):** schéma d'un appareil Soxhlet

### III-Activité antibactérienne

#### III-1-Définition

L'activité antibactérienne des extraits aqueux et méthanolique de *Lawsonia inermis* et *Zygodphyllum album* est évaluée par la technique de diffusion sur l'agar (méthode des disques) selon la méthode décrite par Falleh et ses collaborateurs (2008) vis-à-vis de quatre souches bactériennes (à Gram- : *Pseudomona aeroginosa*, et *Escherichia coli* et à Gram+: *S-aureus*,). Les différentes espèces bactériennes sont d'abord repiquées par la méthode des stries dans des boites de Pétri contenant le milieu Mueller Hinton, puis incubées à 37 °C pendant 24 h. Une ou plusieurs colonies de chaque culture pure sont prélevées et transférées dans l'eau physiologique à une turbidité équivalente à 0,5 Mc Farland. Un prélèvement à partir de cet inoculum sert à ensemercer de nouvelles boites de Pétri contenant le milieu Mueller Hinton par technique d'écouvillonnage. Des disques de papier filtrent de 6 mm de diamètre, stériles, sont chargés de 5 µl des extraits aqueux ou méthanoïque (3mg par disque) et placés à la surface de ces boites. Les disques des contrôles négatifs sont imprégnés d'eau distillée et de DMSO. Des disques standards contenant l'antibiotique de référence (gentamycine, 10 µg par disque) servent de contrôles positifs. Les boites de Pétri sont incubées à 37°C pendant 24h. Les résultats sont exprimés en diamètres des zones d'inhibition produites autour des disques. [103]

---

La diffusion sur gélose est une méthode in-vitro du pouvoir antibactérien des composés. La technique utilisée est celle du contact direct, qui compte deux méthodes : la méthode des puits et la méthode des disques. [104]

#### **a-Méthode des puits**

Cette méthode proposée par Barefoot et Klaenhammer (1983) consiste à inoculer la gélose fondue et refroidie à 45°C avec une pré-culture de la souche indicatrice. Après solidification, des puits sont creusés à l'aide d'un emporte pièce ou un embout, puis remplis avec le surnageant préalablement stérilisé par filtration sur membrane de la culture à tester. Une pré-diffusion à 4°C durant 4H est réalisée suivie d'une incubation de 24h à 48h avant examen des zones d'inhibition. Une modification de cette méthode consiste à remplir les puits par une gélose contenant la souche à tester [105].

#### **b-Méthode des disques**

Dans cette méthode, un tapis de la souche indicatrice est réalisé sur la surface d'un milieu solide, ensuite des disques stériles de papier Whatman imbibés de surnageant de la culture à tester sont déposés sur ce tapis. Après incubation, les boîtes sont examinées pour la présence des zones d'inhibition [105].

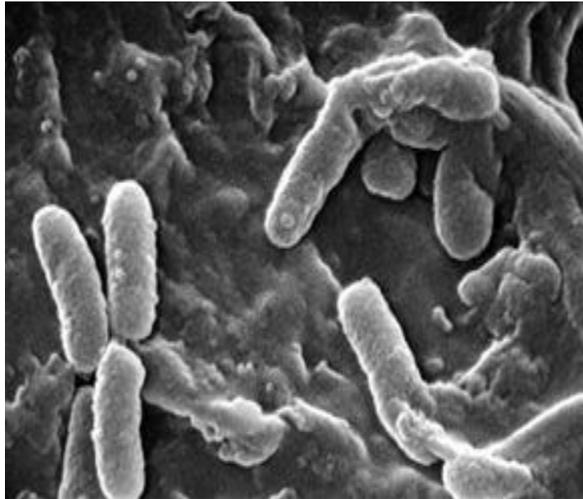
### **III-2- Espèce utilisée**

#### **➤ Définitions**

##### **• Pseudomonas aeruginosa**

Ce sont des bacilles Gram négatif, de forme non sporulée, elles sont aérobies, mobiles grâce à la présence de 1 à 2 flagelles, ce type de bactérie synthétise de types principaux de pigments pyocyanine : bleue phénazine, pyoverdine: jaune vert, il s'agit de bactéries résistantes pour plusieurs antibiotiques [106].

*Pseudomonas aeruginosa* est responsable de **16%** des cas de pneumonie nosocomiale, **12%** des infections urinaires, **8 %** des infections suites aux blessures chirurgicales [107].



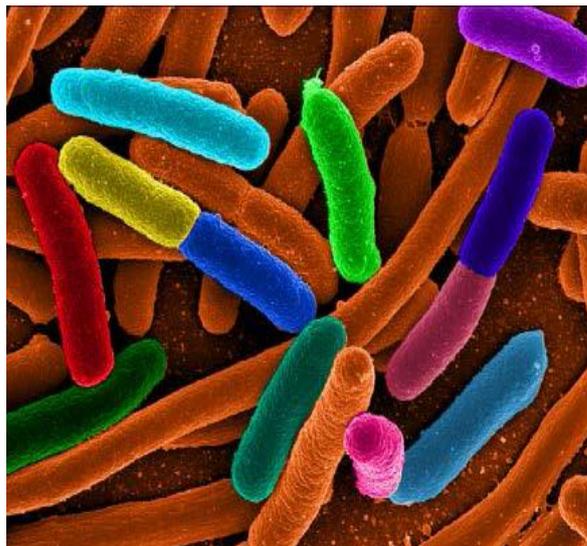
Classification	
Règne	Bacteria
Division	Proteobacteria
Classe	Gamma proteobacteria
Ordre	Pseudomonadales
Famille	Pseudomonadaceae
Genre	Pseudomonas

**Figure(14):** Photo de bactérie *Pseudomonas aeruginosa*

• **Escherichia coli (E. coli)**

*Escherichia coli*, également appelée colibacille et abrégée en *E. coli*, C'est une bactérie à Gram négatif, commensal du tube digestif de l'homme et de l'animal, [108], de forme non sporulée, de type aérobie facultative, généralement mobile grâce aux flagelles, sa longueur varie de 2 à 6  $\mu\text{m}$ , alors que sa largeur est de 1,1 à 1,5  $\mu\text{m}$ , *E. coli* représente la bactérie la plus impliquée dans les infections aiguës d'appareil urinaire, elle provoque également les diarrhées d'été, diarrhée infantile et les intoxications alimentaires [106].

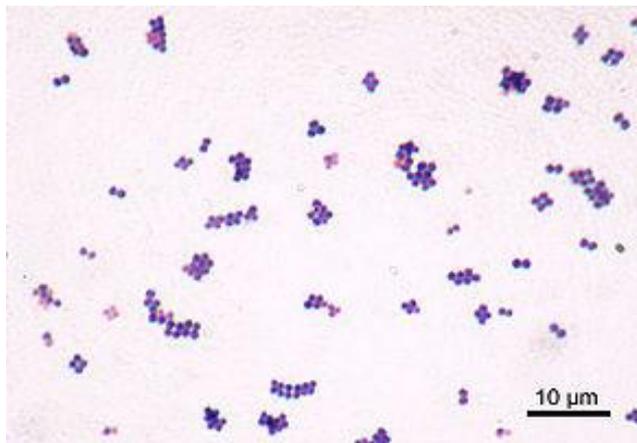
Classification	
Règne	Bacteria
Division	Proteobacteria
Classe	Gamma Proteobacteria
Ordre	Enterobacteriales
Famille	Enterobacteriaceae
Genre	Escherichia



**Figure(15):** Photo de bactérie *Escherichia coli*

• **Staphylococcus aureus:**

Ce sont des cocci Gram positif avec un diamètre de **0,5 à 1,5**  $\mu\text{m}$ , de forme non sporulée, qui tendent à se grouper en paires, petites chaînes, elles sont habituellement non capsulée, ou possédant des capsules limitées, elles sont anaérobies facultatives. *Staphylococcus aureus* représente l'agent commun des infections postopératoires de blessures, endocardite aigüe, intoxication alimentaire [109].



**Figure(16)** : Photo de bactérie *Staphylococcus aureus*

Classification	
<b>Règne</b>	Bacteria
<b>Division</b>	Firmicutes
<b>Classe</b>	Bacilli
<b>Ordre</b>	Bacillales
<b>Famille</b>	Staphylococcaceae
<b>Genre</b>	Staphylococcus

#### IV- L'étude de l'activité antibactérienne des extraits

##### c. Souche à tester

Dans cette étude, on a utilisé les souches : *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* (laboratoire d'hôpital d'Adrar) a testé.

##### d. Mode opératoire

- **Préparation des solutions d'extrait**

Des masses de chaque produit ont été dissous dans des volumes appropriés de MeOH/H<sub>2</sub>O, pour obtenir une série de 5 $\mu\text{l}$  d'une solution correspondant à des quantités de 10mg, 15mg et 20mg des extraits a été utilisée pour imprégner des disques stériles de papier de diamètre de

6 mm. Les disques ont ensuite été séchées à la température ambiante afin d'éliminer tout trace de solvant avant le test antibactérien.

- **Préparation de milieu de culture (MH) :**

La gélose de Muller Hinton stérile prête à l'usage a été coulée dans des boîtes de pétrie stériles de 90 mm de diamètre. L'épaisseur de la gélose est de 2 mm répartie uniformément dans les boîtes. Ces dernières doivent être séchées 30 min à une température ambiante du laboratoire avant leur emploi.

- **Evaluation de concentration des colonies par dilution et comptage**

A partir d'un erlen contenant 1 L d'eau physiologique (9 g de NaCl), on a mesuré 200 mL dans un autre erlen de 250 mL, puis les deux erlens sont stérilisés avec les matériels nécessaires (tubes à essais, pipettes pasteur, pipette graduée et embouts) à l'aide d'un autoclavage à 121 °C pendant 15 min.

Après la stérilisation, on ajoute un volume d'eau physiologique stérile à un milieu des souches de : *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* déjà cultivée sur un milieu de culture de MH, pour obtenir les souches en solution, qu'est considéré comme la solution mère.

La réalisation de la dilution se fait à l'aide d'un 1 ml de solution mère des souches dans les tubes à essais contenant auparavant 9 ml d'eau physiologique. Ensuite, on a inoculé et ensemençer 100 µL des spores de chaque tube dans des boîtes pétri contenant MH.

L'incubation de ces boîtes se fait à 37°C pendant 24 h.

- **Mise en test**

On prend 0.1 ml à partir de tube à essai qui contient une concentration de colonie égale  $3.2 \cdot 10^6$  CFU/mL, ce volume a été coulé sur des boîtes de Pétri contenant le milieu de culture (MH). Après l'inondation de toute la surface du milieu par la suspension bactérie, chacune des boîtes a reçu 3 disques reconnus par un numéro d'identification des doses et d'extraits, apposé à la face inférieure de la boîte. Les milieux ont été incubés à 37 °C pendant 24 h.

Après 24 h d'incubation, les diamètres des zones d'inhibition autour de chaque disque ont été mesurés en vue d'apprécier l'activité inhibitrice des extraits synthétisés. Les résultats obtenus sont récapitulés dans les tableaux (4 et 5)

**Tableau (4):** Résultats de l'activité antibactérien des extraits de *Zygothymus Allbum*

	Extraits							
	Méthanolique				Aqueux			
	T	10	15	20	T	10	15	20
<i>Escherichia coli</i>	2.2	-	-	-	2.4	0.9	1	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	-	-	-	2	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	2.3	-	-	-	2	-	-	-
Témoin : <i>E.coli</i> AMIKACIN (30µg) ; <i>P.aeruginosa</i> RIFAMPIN (5µg) ; <i>S.aureus</i> RISA MYCINE (5µg).								

**Tableau (5)**: Résultats de l'activité antibactérien des extraits de *Lawsonia inermis*

	Extraits							
	Méthanolique				Aqueux			
	T	10	15	20	T	10	15	20
<i>Escherichia coli</i>	2	-	-	-	2	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	-	-	-	2	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	2.5	-	-	-	1.8	-	-	-
Témoin : <i>E.coli</i> AMIKACIN (30µg) ; <i>P.aeruginosa</i> RIFAMPIN (5µg) ; <i>S.aureus</i> RISA MYCINE (5µg).								

D'après le Tableau (4, 5); Nous remarquons l'existence d'un pouvoir inhibiteur de l'extrait aqueux de *Z. Album* contre les souches de *E. Coli* à différentes concentrations choisies avec des zones d'inhibition à environ de 1 cm. Par contre, nous observons d'après ces tableaux que les autres extraits soit méthanoliques ou aqueux n'ont montré aucune activité inhibitrice vis-à-vis le *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*, qui peut signifier la forte résistance de ces bactéries.

**Figure17** : Photo d'Effet inhibiteur des extraits sur *Escherichia coli*

### Conclusion générale

Une partie de ce travail a été réalisée dans le laboratoire d'université d'Adrar et une autre partie a été effectuée au laboratoire d'hôpital d'Adrar.

Dans notre travail, nous avons commencé avec l'extraction méthanolique et aqueuse de la partie aérienne de deux plants endémiques de la wilaya d'Adrar *Z. album* et *L. inermis* a été réalisée par Soxhlet. Nous avons trouvé un moyen de rendement d'environ 4.46 à 6.45% pour les extraits aqueux et d'un rendement varié entre 16.65 à 17.39% pour les extraits méthanoliques.

Par la suite ; nous avons fait l'évaluation biologique de ces extraits méthanolique et aqueux pour les deux plantes *Z. album* et *L. inermis* pour tester leurs activités en tant que antibactériennes, pour cela, nous avons utilisé la méthode de diffusion sur disque à différentes concentrations (10, 15 et 20) sur un milieu de culture Muller Hinton. Nous avons trouvé la souche de *E. Coli* est sensible à l'extrait aqueux de *Zygophyllum Album* à divers doses préparés avec une zone d'inhibition d'environ 1 cm. Cela serait utile pour prévenir certains types de maladies et des pathologies provoqués par l'*E. Coli* comme le Diarrhée ou les maux d'estomac.

Par contre, nous avons remarqué aussi que les autres extraits méthanolique et aqueux de *L. inermis* et l'extrait méthanolique de *Z. album* n'ont montré aucune activité inhibitrice vis-à-vis les souches à tester.

### Référence bibliographiques :

- [1] **Zeghad Nadia. 2009.** Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de magister (Ecole doctorale) Option : Biotechnologie végétale. Université Mentouri Constantine.P1
- [2] **Decoussera JW, Lamyb B, Pinac P, Allouchd PY,** the Collège de bactériologie virologie hygiène study Group (ColBVH). Trends in antibiotic susceptibility of blood stream pathogens in hospitalized patients in France, 1996 to 2007. *Diag Microbiol Infect Dis* 2010; 66:292–300
- [3] **Kempf. M, M. Eveillard, F. Kowalczyk, E. Rossines, G. Panhelleux, M.-L. JolyGuillou ;** Antibacterial activity against 224 clinical bacterial strains of JCA 250 and JCA 251 compounds containing essential oils provided from Aroma Technologies research; *Pathologie Biologie* 59 (2011) 39–43
- [4] **Leonard. C. M, S. Virijevic, T. Regnier, S. Combrinck;** Bioactivity of selected essential oils and some components on *Listeria monocytogenes* biofilms; *South African Journal of Botany* 76 (2010) 676–680
- [5] **JUDD W.S., CAMPBELL C.S., KELLOGG E.A., STEVENS P.F. ,2002.** Botanique systématique. Une perspective phylogénétique. 1ère Edition De Boeck Université. Paris, 383.
- [6] **BRUNETON J., 1993** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Techniques et Documentation. 2ème Ed. Lavoisier. Paris, 274-285.
- [7] **TRABELSI. L, BENOUADAH., BASSA.H., 2010** activités biologiques des métabolites excrètent par les cyanobactéries filamenteuse *arthrospira platensis*, journal pharmacognosie.
- [8] **Bruneton, J. (1993).** Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales. 2<sup>ème</sup> édition, Lavoisier Techniques & Documentation, Paris.
- [9] **Mompon, B., Lemaire, B., Mengal, P., Surbled, M. (1998).** Extraction des polyphénols: du la boratoire à la production industrielle. Ed. INRA, Paris (les Colloques, N° 87).
- [10] **Hennebelle, T., Sahpaz, S., Bailleul, F. (2004).** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 1: 3-6.
- [11] **Harbone, J.B. (1993).** Introduction to Ecological Biochemistry, 4th Ed; Academic Press: London.
- [12] **Middleton, E., Kandaswami, C., Theoharides, T.C. (2000).** The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol Rev*, 52: 673-839

- [13] **Brzozowska, J., Hanower, P., Tanguy, J. (1973).** Polyphenols des feuilles de cotonniers et influence sur leur composition d'un choc hydrique ou nutritionnel. *Phytochemistry*, 12: 2353-2357.
- [14] **Loche, J. (1966).** Contribution à l'étude des polyphénols de la plante de tabac (Seita, ed). Ann de la direction des études et de l'équipement, France, 3 : 15.
- [15] **Nitsch, J.P., Nitsch, C. (1961).** Synergistes naturels des auxinex et des giberellines. *Bull. Soc. Fr.*, 26: 2237-2240.
- [16] **Alibert, G., Ranjeva, R., Boudet, M.A. (1977).** Organisation subcellulaire des voies de synthèse des composés phénoliques. *Physiol. Veg.*, 15 : 279-301.
- [17] **Heimeur, N., Idrissi Hassani, L.M., Amine Serghini, M. (2004).** Les polyphénols de *Pyrus mamorensis* (Rosaceae). *Reviews in Biology and Biotechnology*, 3 (1): 37-42.
- [18] **Dubois, G.E., Grosbay, G.A., Saffron, P. (1977).** Non nutritive Sweeteners: Taste structure relationships with for some new simple dihydrochalcones. *Science*, 195: 397-399.
- [19] **Crozier, A., Clifford, M.N., Ashihara, H. (2006).** Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet. Edt Blackwell Publishing Ltd.
- [20] **J. Bruneton, Pharmacognosie**, Deuxième édition, Tec-Doc, Paris.
- [21] **A. Lugasi, J. Hóvári, K. V. Sagi and L. Bíró (2003).** *Acta Biologica Szegediensis*. 47 119-125.
- [22] **S.B. Rees and J.B. Harbone (1985).** *Phytochem.*, 24 2225-2231.
- [23] **E. Padilla, E. Ruiz, S. Redondo, A. Gordillo-Moscoso, K. Slowing and T.**
- [24] **Tejerina (2005)** . *European Journal of Pharmacology*, 517 84–91.
- [25] **Z. Nowakowska (2007).** *European Journal of Medicinal Chemistry*, 42 125-137.
- [26] **J.Y. Kim, H.J. Lim, D.Y. Lee, J.S. Kim, D.H. Kim, H.J. Lee, H.D. Kim, R. Jeon, and J.H. Ryu (2009).** *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 19 937–940.
- [27] **T. Bahorun (1997).** Food and Agricultural Research Council, Réduit, Mauritius, 83-94.
- [28] **R. Da Silva, G.H.B. De Souza, A.A. Da Silva, V.A. De Souza, A.C. Pereira, V.D.A. Royo, M.L.A.E. Silva, P.M. Donate, A.L.S. De Matos Araujo, J.C.T. Carvalho, and J.K. Bastos (2005).** *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 15 (4) 1033–1037.
- [29] **R. K. Sutradhar, A.K.M. Matior Rahman, M.U. Ahmad and S. C. Bachar (2008).** *Phytochemistry Letters*, 1 (4) 179–182.

- [30] **Tsimogiannins, D.I., Oreopoulou, V. (2006).** The contribution of flavonoid C-ring on DPPH free radical scavenging efficiency. A kinetic approach for the 3', 4'-hydroxy substituted members. *Innovat Food Sci Emerg Tech*, 7: 140-146.
- [31] **Mukohata, Y., Nakabayashi, S., & Higashida, M. (1978).** Quercetin, an energy transfer inhibitor in photophosphorylation. *FEBSLett*, 85: 215–218.
- [32] **Havsteen, B.H. (2002).** The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol. Therapeut*, 96: 67–202.
- [33] **Edenharder, R., Grünhage, D. (2003).** Free radical scavenging abilities of flavonoids as mechanism of protection against mutagenicity induced by tert-butyl hydroperoxide or cumene hydroperoxide in *Salmonella typhimurium* TA102. *Mutat. Res*, 540: 1–18.
- [34] **Yao, L.H., Jiang, Y.M., SHI, J., Tomas-Barberan, F.A., Datta, N., Singanusong, R., Chen, S.S. (2004).** Flavonoids in Food and their health benefits. *Plant. Food Hum. Nutr*, 59 : 113-122.
- [35] **Bahorun, T. (1997).** Substances naturelles actives : La flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. *Food. Agric. Res. Council, Réduit, Mauritius*, 83-94.
- [36] **K. Hostettmann, and A. Marston (1995).** The chemistry and pharmacology of natural products, vol. 4. J.D. Phillipson, D.C. Ayres and H. Baxter (Eds.). Cambridge University Press, Cambridge. Pp 1 – 548.
- [37] **D. Kone, thèse de doctorat (2009).** Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes-extraction, identification d'alcaloïdes-caractérisation, quantification de polyphénols : Etude de leur activité antioxydante. Université Paul Verlaine-Metz, France.
- [38] **Haslam, E. (1996).** Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. *J. Nat Pro*, 59: 205 215.
- [39] **Cowan, M.M. (1999).** Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin. Microbiol Re*, 12(4): 564- 582.
- [40] **Scalbert, A. (1991).** Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, 30: 3875 3883.
- [41] **Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes Médicinales. 3<sup>ème</sup> édition, Lavoisier Techniques & Documentation, Paris.
- [42] **O'Kennedy, R., and Thornes, R.D. (ed) (1997).** Coumarins: Biology, Applications and Mode of Action. John Wiley & Sons Inc. New York. N.Y.
- [43] **F.Sidibé, thèse de doctorat en pharmacie (2003).** Etude phytochimique et pharmacologique de *Stereospermum kunthianum* Cham. (*Bignoniaceae*). Université de Bamako, 79 P.

- [44] C.M. Anderson, A. Halle berg and T. Hog berg (1996). *Adv. Drug. Res.*, 28 pp 65-180.
- [45] Milane H., 2004. La quercitrine et ses dérivés: molécules à caractère peroxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat de l'université de Louis Pasteur ; pp. 13-36.
- [46] Ksouri, R., Megdiche, W., Debez, A., Falleh, H., Grignon, C., Abdelly. C. (2007). Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant. Physiol Bioch*, 45: 244-249.
- [47] Nijveldt, R. J., Nood, E., Hoorn, D. E., Boelens, P. G., Norren, K., Leeuwen, P. (2001). Flavonoids: A review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am. J. Clin Nutr*, 74: 418–425.
- [48] Leong, LP., Shui, G. (2002). An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chem*, 76: 69-75.
- [49]Hodek, P., Trefil, P., Stiborova, M. (2002). Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. *Chem. Biol. Interact*, 139: 1–21.
- [50] Van Acker, S., van Balen, G.P., van den Berg, D.J., van der Vijgh, W.J.F. (1996). Influence of iron chelation on the antioxidant activity of flavonoids. *Biochem. Pharmacol*, 56: 935– 943.
- [51] Benavente-Garcia, O., Castillo, J., Marin, F.R., Ortuno, A., Del Rio, J.A. (1997). Uses and properties of *Citrus* flavonoids. *J. Agric. Food Chem*. 45: 4505–4515.
- [52] Anderson, C.M., Hallberg, A., Hogberg, T. (1996). Advances in development of pharmaceutical antioxidants. *Adv. Drug. Res*, 28 : 65-180.
- [53] Zhang, Y., Vareed, S.K., Nair, M.G. (2005). Human tumor cell growth inhibition by nontoxic anthocyanidins, the pigments in fruits and vegetables. *Life Sci*, 76: 1465-1472.
- [54] Chung, K., Wong, T.Y., Wei, C., Huang, Y., Lin, Y. (1998). Tannins and human health. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr*, 38: 421-464.
- [55] Rahman, I., Biswas, S.K., Kirkham, P.A. (2006). Regulation of inflammation and redox signaling by dietary polyphenols. *Biochem Pharmacol*, 72: 1439-1452.
- [56] Yoshida, H., Ishikawa, T., Hosoai, H., Suzukawa, M., Ayaori, M., Hisada, T., et al. (1999). Inhibitory effect of tea flavonoids on the ability of cells to oxidize low density lipoprotein. *Biochem Pharmacol*, 58: 1695–703.
- [57] Bossokpi, I.P.L. (2002). Etude des activités biologiques de *Fagara xanthoxyloides* LAM (Rutaceae). Thèse de pharmacie, Bamako, p 133.

- [58] **Rangkadilok, N., Sitthimonchai, S., Worasuttayangkurn, L., Mahidol, C., Ruchirawat, M., Satayavivad, J. (2007).** Evaluation of free radical scavenging and antityrosinase activities of standardized longan fruits extract. *Food Chem. Toxicol*, 45: 328-336.
- [59] **Lee, K.W., Hur, H.J., Lee, C.Y. (2005).** Antiproliferative effects of dietary phenol substances and hydrogen peroxide. *J. Agric. Food Chem*, 53: 1990-1995.
- [60] **Tohge T., Matsui K., Ohme-Takagi M., Yamazaki M. and Saito K.** Enhanced radical scavenging activity of genetically modified Arabidopsis seeds. *Biotechnol. Lett.* 2005; 27: 297-303.
- [61] **Ray S. D., Wong V., Rinkovsky A., Bagchi M., Raje R. R. and Bagchi D.** Unique organ protective properties of a novel IH636 grape seed proanthocyanidin extract on cadmium chloride-induced nephrotoxicity, dimethylnitrosamine (DMN)-induced splenotoxicity and mocap-induced neurotoxicity in mice. *Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol.* 2000; 107: 105-128.
- [62] **Da Silva E.J.A., Oliveira, A. B., Lapa, A.J., 1994.** Pharmacological evaluation of the anti inflammatory activity of a citrus bioflavonoid, hesperidin, and the isoflavonoids, dauricin and claussequinone, in rats and mice. *J. Pharm. Pharmacol.* 46(2) : 118-22.
- [63] **Galati E. M., Monforte M. T., Kirjavainen S., Forestieri A. M., Trovato A., Tripodo M. M., 1994.** Biological effects of hesperidins, a citrus flavonoid. (Note I): anti-inflammatory and analgesic activity. *Farmaco* 40(11): 709-12.
- [64] **Middleton, E. J., 1996.** Biological properties of plant flavonoids: an overview. *Int. J. Pharmacol.* 34(5): 344-348.
- [65] **Mookerjee B. K., Lee T. P., Logue G. P., Lippes H. A. , Middleton E. , 1986.** The effects of flavonoids on human lymphocyte proliferative responses. *Prog. Clin. Biol. Res.* 213: 511-20.
- [66] **Namgoong S. Y., Son K. H., Chang H. W., Kang S. S., Kim H. P., 1994.** Effects of naturally occurring flavonoids on mutagen-induced lymphocyte proliferation and mixed lymphocyte culture. *Life Sci.* 54(5): 313-20.
- [67] **Middleton E. J., Drzewiecki G., 1984.** Flavonoid inhibition of human basophil histamine release stimulated by various agents. *Biochem. Pharmacol.* 33(21): 3333-8.
- [68] **Vrijssen R., Van Hoof L. M., Vlietinck A. J., Vanden Berghe D. A., Boeye A., 1987.** The poliovirus induced shut-off of cellular protein synthesis persists in the presence of 3-methylquercetin, a flavonoid which blocks viral protein and RNA synthesis. *Antivir. Res.* 7(1): 35-42.

- [69] **Mucsi I., Pragai B. M., 1985.** Inhibition of virus multiplication and alteration of cyclic AMP level in cell cultures by flavonoids. *Experientia* 41(7): 930-1.
- [70] **Ono K., Nakane H., 1990.** Mechanisms of inhibition of various cellular DNA and RNA polymerases by several flavonoids. *J. Biochem.* 108 (4): 609-13.
- [71] **Mahmood N., Pizza C., Aquino R., De Tommasi N., Piacente S., Colman S., Burke A., Hay A. J., 1993.** Inhibition of HIV infection by flavanoids. *Antivir. Res.* 46(7): 1257-71.
- [72] **Fesen M. R., Pommier Y., Leteurtre F., Hiroguchi S., Yung J., Kohn K. W., 1994.** Inhibition of HIV-1 integrase by flavones, caffeic acid phenethyl ester (CAPE) and related compounds. *Biochem Pharmacol.* 48(3): 595-608.
- [73] **Mila I., Scalbert A., 1994.** Tannin antimicrobial properties through iron deprivation: a new hypothesis. *International Symposium on Natural Phenols in Plant Resistance*, 381(2): 749- 755.
- [74] **Kato R., Nakadate T., Yamamoto S., Sugimura T., 1983.** Inhibition of 12-tetradecanoylphorbol 13-acetate-induced tumor promotion and ornithine decarboxylase activity by quercetin: possible involvement of lipoxygenase inhibition. *Carcinogenesis* 4(10):1301-5.
- [75] **Verma A., K., Johnson J. A., Gould M. N., Tanner M. A., 1988.** Inhibition of 7, 12-dimethylbenz (a)anthracene- and N-nitrosomethylurea-induced rat mammary cancer by the dietary flavones quercetin. *Cancer Res.* 48(20): 5754-8.
- [76] **Wattenberg Lee W., 1983.** Anticarcinogenic effects of several minor dietary components. *Foods, Proc. Int. Conf.* 157-66.
- [77] **Bu-Abbas A., Clifford M. N., Ioannides C., Walker R., 1995.** Stimulation of rat hepatic UDP glucuronosyl transferase activity following treatment with green tea. *Food chem. Toxicol.*, 33(1): 27-30.
- [78] **Nijhoff W. A., Bosboom M. A., Smidt M. H., Peters W. H., 1995.** Enhancement of rat hepatic and gastrointestinal glutathione and glutathione S-transferases by alphaangelicalactone and flavone. *The Netherlands Carcinogenesis* 16(3) : 607-12.
- [79] **Obermeier M. T., White R. E., Yang C. S., 1995.** Effects of bioflavonoids on hepatic P450 activities. *Pharm. Res.* 25(6): 575-84.
- [80] **Lasker J. M., Huang M.T., Conney A. H., 1984.** In vitro and in vivo activation of oxidative drug metabolism by flavonoids. *J.pharmacol. exp. ther.* 229(1): 162-70.
- [81] **Van Acker S., Tromp M., Haenen G. R. M. M., van der Vijgh W., Bast A., 1995.** Flavonoids as scavengers of nitric oxide Radical. *Biochem. Biophys. Res. Co.* 214(3):755-9.

## Références bibliographiques

---

- [82] **Laughton M.J., Halliwell B., Evans P.J., Hoult J., Robin S., 1989.** Antioxydant and pro-oxydantactions of the plant phenolics quercetin, gossypol and myricetin. *Biochem. Pharmacol.*38 (17): 2859-2865.
- [83] **Puppo A., 1992.** Effect of Flavonoids on Hydroxyl Radical Formation by Fenton-Type reactions; Influence of the Iron Chelator. *Phytochemistry*, 31(1):85-88.
- [84] **De Whalley C. V., Rankin S. M., Hoult J. R. S., Jessup W., Leake D. S., 1990.** Flavonoids inhibit the oxidative modification of low density lipoproteins by macrophages. *Biochem.Pharmacol.* 39(11) : 1743-50.
- [85] **Kessler M., Ubeau G., Jung L., 2002.** Anti-and pro-oxydant activity of rutine and quercetin derivatives. *J. Pharm. Pharmacol.*, 55 : 1-11.
- [86] **Yen G.C., Chen H.Y., Peng H.H., 1997.** Antioxidant and pro-oxidant effects of various tea extracts. *J.Agr. Food Chem.* 45: 30-34.
- [87] **A. Boutiti, mémoire de Magister (2006).** Etude Phytochimique de l'espèce *Globularia alypum L.* Université Mentouri, Constantine.
- [88]**K. Hostettmann, O. Potterat, & J-L.Wolfender (1998).** *Chimia*, 52 10-17.
- [89] **TOUTAIN G., (1979):** Eléments d'agronomie saharienne, de la recherche au développement. Ed: I.N.R.A. Paris. 276 pages.
- [90] **OZENDA P., 1991:**Flore de Sahara, 3éme édition mise à jour et augmentée, Ed C.N.R.S. Paris, 662 Pages.
- [91] **El Ghoul J, Ghanem-Boughanmi N, Ben-Attia M., 2011.** Biochemical study on the protective effect of ethanolic extract of *Zygophyllum album* on streptozotocin-induced oxidative stress and toxicity in mice, *Biomedicine & Preventive Nutrition* 1 ; 79–83.
- [92] **Hussein SR, Marzouk M , Ibrahim L, Kawashty S, Saleh N., 2011.** Flavonoids of *Zygophyllum album* L.f. and *Zygophyllum simplex* L. (*Zygophyllaceae*), *Biochemical Systematics and Ecology* 39; 778 –780.
- [93] **Ozenda P., 1977.** Flore du Sahara, 2ème édition, édition du centre national de recherche scientifique, p 309.
- [94] **Smati D., 2009.** Contribution à l'étude de *Zygophyllum* utilisés en médecine traditionnelle algérienne. Thèse en vue de l'obtention du doctorat en science médicale.
- [95] **Jones S.B and Luchainger A.B (1979).** 'Plant Systematic', published by Mc Gram Hill Book Company, New York, London.

## Références bibliographiques

---

[96] Leung, A.Y.; (1980). Encyclopedia of common natural ingredients used in food, drugs, cosmetics, John Wiley and Sons, New York.

[97] Council of Scientific and Industrial Research, (1962). New Delhi; Wealth of India raw material 6, 47-50.

[98] Afzal, M., Al-Oriquat, Al-Hussan, J.M. and Mohammed, N.; (1980). Flavone glycosides from Lawsonia inermis. Heterocycle, 14, 1973-1976.

[99] Chetty KM. Flowering plants of Chittoor, Edn 1, Andhra Pradesh, 2008, pp. 132.

[100] Chopra RN, Nayer SL, Chopra IC. Glossary of India Medicinal Plants, CSIR Publications, New Delhi, 1956, pp. 151.

[101] Reddy KR. Folk medicine from Chittoor district Andhra Pradesh, India used in the treatment of jaundice. International Journal of Crude Drug Research.1988; 26:137-140.

[102] [https://fr.m.wikipedia.org › wiki › Henné](https://fr.m.wikipedia.org/wiki/Henné)

---

[103] **BENBRINIS Soumia. (2012)**, Evaluation des activités antioxydante et antibactérienne des extraits de Santolina chamaecyparissus , Mémoire Présenté Pour l'obtention du Diplôme de magister en biochimie Option Biochimie et physiologie expérimentale. universite ferhat abbas-setif

[104] **Djemoui Djamilia, 2012**, Contribution a l'etude de l'activite antioxydante et antibactérienne de quelques coumarines synthétisées, Mémoire Master Académique, Université Kasdi Merbah Ouargla

[106] **Percival SL**. Microbiology of water borne diseases. Ed. Elsevier Academic Press, Amsterdam; Boston, 2004, p. 480.

[107] **Van Delden C. and Iglewski B. H**. Cell-to-cell signaling and Pseudomonas aeruginosa infections. *Emerg. Infect. Dis.* 1998; 4: 551-560.

[108] **Kosalec I., Bakmaz M., Pepeljnjak S. and Vladimir-Knezevic S**. Quantitative analysis of the flavonoids in raw propolis from *northern Croatia*. *Acta. Pharm.* 2004; 54: 65-72.

## Références bibliographiques

---

[109] **Dworkin MM and Falkow S.** Proteobacteria : Gamma subclass. Ed. Springer, New York, NY, 2006, p. 1248.