

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

Université SAAD DAHLAB, BLIDA

Faculté des Sciences de la nature et de la vie

Département d'Agronomie

Mémoire de Fin d'Etude en Vue de l'Obtention du Diplôme de Master académique

Option : Biotechnologies Végétales

Thème

Étude d'une plante *Arenaria rubra L.*  
Identification et caractérisation des métabolites  
secondaires

Réalisé par :

BENAOUDA ZOUAOUI Ali

Devant le jury composé de :

Mr BOUTAHRAUI

MCA

USDB

**Présidente de jury**

Mme STELLA M

MCA

USDB

**Examinatrice**

Dr. CHAUCHE F/ Z

MCA

USDB

**Promotrice**

Promotion : 2012-2013

## Remerciement

Tout d'abord, nous tenons à remercier Dieu le tout puissant, de nous avoir donné la santé, la force et la patience.

J'adresse mon vifs et sincères remerciements à

Ma promotrice **Mme CHAOUCH F/Z**, maitre de conférence d'agronomie, université SAAD DAHLEB de Blida pour son encadrement, suivi, soutient et sa présence.

Je remercie Mr BOUTAHRAUI Maître de conférences d'agronomie, université SAAD DAHLEB de Blida, qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de jury, hommages respectueux.

**Mme STELLA M** Maître de conférences au département d'agronomie, université SAAD DAHLEB de Blida d'avoir consacré une partie de son temps à examiner notre travail et faire partie du jury.

Nos vifs remerciements vont aussi à tout le personnel du laboratoire de stérilité, microbiologie et physico-chimie de Saidal, unité ANTIBIOTICAL (Médéa).

Et du laboratoire de bactériologie de l'hôpital de Blida.

Nos sentiments de reconnaissance et nos remerciements vont également à l'encontre de toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.

## Dédicace

Avec une immense fierté, je tiens à dédier ce mémoire :

A ceux qui m'ont veillé pour m'avoir éduqué, orienté et guidé mes pas, à savoir mes parents,  
à qui je dois beaucoup de chose, que Dieu les garde.

A mes grandes mères

A mes chers frères : Mohammed, Tayeb, Azzeddin, Youcef, Mustapha et Elhachmi.

Ainsi qu'à toute ma famille qui ont su m'encourager durant toutes mes années études.

A tous mes amis avec qui j'ai passé des moments inoubliables, particulièrement :  
Abderrahmane, Hadjer, Houria, Moh, Walid, Sief, Sliman, Amine elbadji, Amine smina,  
Yazid, Bob (boubaker), Taha, Quosay.

Du premier au dernier de mes enseignants

A toute ma promotion Biotechnologie

## Résumé

Dans ce travail nous avons étudié une plante *Arenaria rubra L* ou la *Sabline rouge* qui éveille l'intérêt de tous, étant donné ses nombreuses propriétés et caractéristiques, ses bienfaits pour l'être humain sont multiples.

Nous avons extrait l'huile essentielle par hydro-distillation, et nous avons identifiée par la chromatographie gazeuse couplée à la spectrophotométrie de masse, un certain nombre de composés, le 1,2-Benzenedicarboxylic acid, diisooctyl ester qui est présent avec une teneur appréciable de 89.14 % en comparaison avec les autres composés dont les teneurs sont faibles. Comme le butylatedhydroxytoluene de 3.53 % et benzofuran, 2,3-dihydro(Coumaran) avec 2.05 %.

Par ailleurs, les tests microbiologiques montrent que *Arenaria rubra L*. n'a aucune activité antimicrobienne et qu'elle n'est pas toxique.

Néanmoins nous avons constaté qu'elle avait un effet diurétique remarquable.

Mots clés : *Arenaria rubra L.*, métabolites secondaires, antibactérien, diurétique.

## Abstract

In this work we studied a plant *Arenaria rubra* L that arouses the interest of all, given its many properties and characteristics, its benefits to humans are many.

We extract the essential oil by hydro distillation and we identified by gas chromatography coupled with the spectrophotometer of mass. A number of compounds. The results of this work show that it is 1,2-Benzenedicarboxylic acid, diisooctyl ester is present with an appreciable content of 89.14% in comparison with the other compounds whose levels are low. ButylatedHydroxytoluene 3.53% and Benzofuran, 2,3-dihydro (Coumaran) of 2.05%.

In addition, microbiological tested *Arenaria rubra* L. show that has no antimicrobial activity and it is not toxic.

However, we found she had a remarkable diuretic effect.

Keywords: *Arenaria rubra* L. metabolites Secondary, antibacterial effect, diuretic.

## ملخص

في هذا العمل ندرس نبات يثير اهتمام الجميع، نظرا للعديد من خصائصه و مميزاته، فوائده للإنسان كثيرة مثل الحد من مشاكل الكلى . لهذا بدأنا في تحديد هوية هذه النبتة و مكوناتها الكيميائية، ثم أجرينا عدة تجارب على نفس النبات . قمنا باستخراج الزيوت الأساسية عن طريق التقطير المائي . وحددنا باستعمال الكروماتوغرافية الغازية المقرونة بطيف الكتلة (GCMS) عدة مكونات.

نتائج هذا العمل أظهرت أن(1,2-Benzenedicarboxylic acid, diisooctyl ester) موجود مع محتوى ملموس يقدر بـ 89.14 % . مقارنة مع المركبات الأخرى و التي تتواجد بتركيزات ضعيفة.

% 3.53 (ButylatedHydroxytoluene) و %2.05 (Benzofuran, 2,3-dihydro) (Coumaran)

بالإضافة إلى ذلك، يظهر اختبار الميكروبيولوجية أن *Arenaria rubra* L. لا يوجد لديها أي نشاط مضاد للميكروبات، كما أنها ليست سامة.

ومع ذلك، وجدنا أن لها تأثيرا مدرا للبول ملحوظا

الكلمات المفاتيح . الأثير المدر للبول ، الأثر المضاد للجراثيم، المركبات الثانوية ، *Arenaria rubra* L.

## Tables des matières

Introduction .....	1
Chapitre I: Partie Bibliographique	
1. Les plantes médicinales .....	2
1.1. Historique .....	2
1.2. Définition .....	2
1.3. La récolte des plantes médicinales .....	3
1.4. Séchages des plantes médicinales .....	3
1.5. Conservation des plantes médicinales .....	3
1.6. L'utilisation des plantes médicinales .....	3
1.7. Mode d'utilisation .....	4
1.8. Utilisation du matériel végétal brut .....	4
2. Les métabolites secondaires .....	4
2.1. Intérêt des métabolites secondaires .....	4
2.2. Classes des métabolites secondaires .....	5
2.3. Localisation des métabolites secondaires .....	5
2.4. Les principales familles de métabolites secondaires .....	5
3. Etude de la plante .....	8
Chapitre II: Matériel et Méthode	
1. Matériels .....	11
1.1. Matériel biologique .....	11
1.1.3. Matériel bactériologique .....	12
1.2. Matériel non biologique .....	13
2. Méthodes .....	13
2.1. Identification botanique de la plante .....	13
2.2. Etude phytochimique de l' <i>Arenaria rubra L</i> .....	13
2.2.1. Détermination de la teneur en eau .....	13
2.2.2. Etude des principes actifs de l' <i>Arenaria rubra L</i> .....	14
2.3. Extraction de certains principes actifs .....	18
2.4. Etude biologique de la plante <i>Arenaria rubra L</i> .....	25
2.4.1. Activité antimicrobienne de l' <i>Arenaria rubra L</i> .....	26
2.5. Etude de la toxicité de l' <i>Arenaria rubra L</i> .....	27
2.6. Etude de l'effet diurétique de l' <i>Arenaria rubra L</i> .....	27
Chapitre III : Résultats et Discussion	
1. Résultats de l'étude botanique de la plante .....	29
2. Résultat de l'étude phytochimique de l' <i>Arenaria rubra L</i> .....	35
2.1. Détermination de la teneur en eau .....	35
2.2. Etude des principes actifs de l' <i>Arenaria rubra L</i> .....	36

3. Etude de l'activité biologique de l' <i>Arenaria rubra L</i> .....	41
3.1. Activité antimicrobienne de l' <i>Arenaria rubra L</i> .....	41
3.2. Etude de la toxicité de l' <i>Arenaria rubra L</i> .....	43
3.3. Effet diurétique de l' <i>Arenaria rubra L</i> .....	43
Conclusion .....	46

## Liste des figures

Figure 1.1 : Photo original de la plante <i>Arenaria rubra L</i> .....	9
Figure 1.2 : Photo original de la plante <i>Arenaria rubra L</i> .....	10
Figure 2 : <i>Arenaria rubra L</i> . vue générale ... ..	11
Figure 3 : Souris NMRI.....	12
Figure 4 : Rat WISTAR.....	12
Figure 5 : Extraction des HE par l'hydrodistillation .....	14
Figure 6 : Schéma du Soxhlet .....	16
Figure .7. Protocole expérimental de l'extraction des composés non volatils Polaires et apolaires par Soxhlet .....	18
Figure .8. Protocole expérimental de l'extraction des Saponines .....	20
Figure .9. Protocole expérimental de l'extraction des hétérosides flavoniques .....	21
Figure .10. Protocole expérimental de l'extraction des tanins .....	23
Figure .11. Protocole expérimental de l'extraction des alcaloïdes .....	25
Figure .12. Spécimens de <i>Arenaria rubra L</i> . De l'herbier de l'ENSA El Harrach (1,2et3); Echantillon de <i>Arenaria rubra L</i> . Récoltée dans la région de Bouarfa(4).....	30
Figure.13. Fleur vue de face (loupe Gx 4.5) .....	31
Figure.14. Calice vue de bas (loupe Gx 4.5) .....	31
Figure.15. Fleur vue de profil (loupe Gx 4.5).....	31
Figure.16. Etamine au nombre de huit (loupe Gx 4.5) (G x 4.5).....	31
Figure.17. Androcée vue de profil (loupe Gx 4.5).....	31
Figure.18. Etamine munie d'un filet (loupe Gx 4.5).....	31
Figure17 : Androcée présentant trois stigmates Gx 4.5.....	32
Figure19 : Ovaire isolé Gx 4.5.....	32
Figure20 : Ovaire contenant des ovules Gx 4.5 .....	32
Figure21 : Vue d'une tige à la loupe Gx 4.5.....	32
Figure22 : Vue d'ensemble de l' <i>Arenaria rubra</i> .....	32
Figure 23: coupe transversale de la racine Gx10 à l'état frais .....	33
Figure.24. coupe transversale de la tige Gx10 après double coloration.....	34
Figure.25. coupe transversale de la tige Gx40 après double coloration Zone centrale.....	34
Figure.26. Chromatogramme de la fraction volatile de l' <i>arenaria rubra L</i> . extraite par l'hydrodistillation analysée par CG-MS.....	37
Figure.27. Teneur en substances polaires, apolaires et autres.....	39
Figure.28. Migration de l'extrait méthanolique.....	39
Figure.29. Plaque de CCM après révélation.....	40
Figure 30: Résultats des incubations.....	43
Figure 31. L'Effet de la décoction de l' <i>Arenaria rubra L</i> . sur la consommation de l'eau chez les rats wistar .....	44
Figure 32: Comparaison de l'effet du Furosale® et de l'extrait aqueux de l' <i>Arenaria rubra</i> .....	45

## Liste des tableaux

<b>Tableau I.</b> La teneur en eau de l' <i>Arenaria rubra</i> L. ....	35
<b>Tableau II.</b> Caractères organoleptiques de l'huile essentielle de l' <i>Arenaria rubra</i> L. ....	34
<b>Tableau III.</b> La composition chimique de l'huile.....	38
<b>Tableau IV:</b> Résultat de la révélation des plaques de CCM par colorants chimiques.....	40
<b>Tableau V.</b> L'effet antimicrobien de l'huile essentielle, l'extrait méthanolique et la décoction de l' <i>Arenaria rubra</i> L.....	42

## Introduction

Au fil des âges, fort de sa puissance de l'observation, l'homme a appris à discerner les propriétés des plantes, aujourd'hui encore, les grandes sociétés cosmétiques et pharmaceutiques, dans la recherche des nouvelles molécules, s'orientent vers les substances végétales.

Les plantes médicinales et les produits biologiques, constituent un véritable trésor de santé, de dynamique et de beauté, pour l'organisme de l'être humain. Ces produits naturels sont très demandés dans le monde, il est alors nécessaire de multiplier les efforts pour faire évoluer le domaine des plantes médicinales, par application des résultats des recherches scientifiques (Iserin, 1996).

En générale la plupart des espèces végétales poussant naturellement possèdent des vertus thérapeutiques, car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme (Iserin, 1996).

Parmi ces plantes médicinales à vertus thérapeutiques, nous nous sommes intéressés à l'*Arenaria rubra L.*, plus couramment connue sous le nom de Fatat el hdjar ou bssat Emlouk, et ce à cause des propriétés de cette dernière vis-à-vis des problèmes rénaux.

*Arenaria rubra L.* est communément consommée de nos jours en guise de thé. Cette plante possède des propriétés diurétiques aseptiques et légèrement antispasmodiques. On l'utilise pour le traitement des inflammations des voies urinaires, des reins et de la vésicule biliaire.

Les différentes étapes de notre travail consistent en :

- L'identification botanique de la plante *Arenaria rubra L.* récoltée.
- L'étude phytochimique de la plante par l'analyse de sa composition chimique en utilisant des techniques d'extraction et d'identification.
- L'étude de la toxicité de la plante.
- Etude de l'effet antimicrobien.
- Etude de l'effet diurétique

## **Chapitre I : Partie Bibliographique**

### **1. Les plantes médicinales**

#### **1.1. Historique**

Pendant longtemps, les remèdes naturels et surtout les plantes médicinales furent la principale, voire l'unique recours de la médecine traditionnelle. Elles furent également la matière première pour la fabrication des remèdes pharmaceutiques (Volàk et Stodola, 1983).

Les écrits les plus anciens de la tradition populaire montrent, en effet, que de tout temps et en tous lieux, l'homme a fait appel aux plantes pour se soigner.

Des tablettes sumériennes, gravées en caractères cunifeiformes sur plaquettes d'argile, ont été découvertes, il y a une trentaine d'années dans les ruines de NIPPUR et traduites en 1953. Elles remontent au troisième millénaire avant Jésus-Christ et constituent un des premiers recueils de médicament, d'origine surtout végétal, présentés sous forme de décoctions, de suspensions et d'onguents (Baba Aissa, 1999).

Hippocrate fut appelé dès le moyen âge le «père de la médecine », il demeure encore aujourd'hui le symbole de la médecine grecque. Il utilisait 230 plantes dans la fabrication de remède ainsi qu'en témoigne le corpus hippocratium publié 100 ans après sa mort.

Le papyrus médicinal ebers, découvert dans les ruines de Louksor, et d'autres écrits remontant à l'ère de la civilisation pharaonique, entre 1600 et 1200 ans avant Jésus-Christ, font mention de plus de 500 plantes médicinales. On y apprend qu'à l'époque de Ramsès 1er, que le pavot, la jusquiame et le séné faisaient partie de l'arsenal thérapeutique, était déjà utilisée dans le traitement de l'hydropisie (Verdrager, 1978).

#### **1.2. Définition**

On appelle plante médicinale toute plante renfermant un ou plusieurs principes actifs capable de prévenir, soulager ou guérir des maladies. Certaines plantes contiennent toute une gamme de matières efficaces qui peuvent avoir des actions très différentes suivant leur préparation (Schauembery, 1977).

Il s'agit de végétaux ou parties de plantes, à usage médicinal, utilisés en pharmacie humaine et vétérinaire, en cosmétologie ainsi que dans la confection de boissons (Maghami, 1979).

### **1.3. La récolte des plantes médicinales**

La récolte des plantes médicinales se fait au moment où la teneur en principes actifs est optimale (Schauembery, 1977).

Selon Valnet (1983) plusieurs règles doivent être respectées :

- Les racines, Les tubercules, les rhizomes, les bulbes se récoltent en automne, après la mobilisation des réserves.
- Les tiges sont cueillies en automne, quand les feuilles ne sont plus en périodes d'activité.
- Les feuilles se récoltent au moment de leur développement, mais avant la formation des boutons floraux, qui diminueraient leur teneur en principe actifs (Cassis, menthe).
- Les fleurs sont ramassées avant le plein épanouissement et avant la fécondation (aubépine, bleuet, camomille).
- Les sommités fleuries se cueillent au début de l'épanouissement des fleurs et en tout cas avant la formation des premiers fruits.
- Les bourgeons sont à récolter avant la fin de l'hiver ou au début du printemps, avant que la sève amorce sa montée dans les branches de l'arbre.
- Les fruits charnus doivent être cueillis dès qu'ils sont mûrs mais sans attendre la maturité complète.
- Les semences au contraire, doivent être récoltées à complète maturité, lorsque la plante commence à se dessécher un peu. L'efficacité d'une plante médicinale dépend nécessairement de la période de sa récolte en relation avec son état. Après sa récolte, la plante doit être conservée dans un lieu sec à l'abri de la poussière et de la lumière (Baba aissa, 1999).

### **1.4. Séchages des plantes médicinales**

Les plantes récoltées doivent être séchées le plus rapidement possible à l'abri de la lumière et dans un endroit aéré.

### **1.5. Conservation des plantes médicinales**

Les plantes sont conservées dans un endroit sec à l'obscurité, dans des récipients bien fermés, dans des boîtes en carton ou des sacs en papier.

Pour une bonne conservation, on vérifie souvent l'état des plantes en portant une grande attention à déceler toute trace d'humidité, de moisissure, d'insecte qui altéreraient leur valeur médicinale (Iserin, 1996).

### **1.6. L'utilisation des plantes médicinales**

L'action des plantes médicinales ne dépend pas seulement de leurs propriétés et de leurs quantités, mais également de la manière dont elles sont utilisées. En effet, il existe de nombreuses façons de les employer fraîches ou séchées, par usage interne ou externe,

On peut utiliser une plante seule ou en mélange avec plusieurs plantes, parfois même des plantes combinées avec d'autres préparations naturelles ou synthétiques (Thurzova, 1983).

### **1.7. Mode d'utilisation**

A la différence du médicament classique qui a une action spécifique liée à un principe actif isolé, la plante agit grâce à la multiplicité de ses composants. De plus ses différents principes actifs peuvent se potentialiser et/ou agir en synergie. De ce fait, la plante possède plusieurs propriétés. Toute la difficulté dans la prescription d'un traitement phytothérapeutique réside dans le choix de la « bonne plante » car certaines propriétés sont plus marquées que d'autres (Carillon, 2000).

La plante change d'aspect et voit sa composition chimique se modifier, ceci se traduit par un changement d'odeur et de couleur. C'est le cas des racines de la valériane, inodores à l'état frais et qui deviennent nauséabondes en séchant. Elles dégagent de l'acide valérianique (Keller-Didier, 2004).

### **1.8. Utilisation du matériel végétal brut**

La plante peut être utilisée sous formes d'infusion, de décoction, en macération ou de poudre végétale (Carillon, 2000).

## **2. Les métabolites secondaires**

La plante médicinale contient un certain nombre de substances dont la plupart agissent sur l'organisme humain. C'est la phytochimie qui se charge d'étudier ces composés qu'on appelle aussi substances actives (Lserin, 1996).

Les principes actifs des plantes sont de deux types :

- Les produits issus de métabolisme primaire (essentiellement des saccharides)
- Le second type de substances se compose de produits du métabolisme secondaire, c'est-à-dire des processus résultant essentiellement de l'assimilation de l'azote.

Généralement, les substances actives ne se trouvent pas dans la plante à l'état pur, mais sous forme de complexe dont les différentes composantes se complètent et se renforcent dans leur action sur l'organisme (Volàk et Stodola, 1983).

### **2.1. Intérêt des métabolites secondaires**

Ces métabolites jouent souvent un rôle de défense pour la plante qui les fabrique. En effet, leurs rôles sont multiples et on observe plusieurs stratégies à savoir:

- 1) Dissuader les prédateurs, tel que les odeurs du Pélargonium qui repoussent les herbivores.
- 2) Attirer les pollinisateurs, les couleurs, mais aussi les odeurs attirent les insectes, (Fouché et al., 2000).

3) Décourager la compétition vis-à-vis d'autres espèces : c'est l'allopathie. certaines plantes émettent des substances pour inhiber la croissance des autres plantes (Fouché et al., 2000).

## **2.2. Classes des métabolites secondaires**

Les métabolites secondaires comportent deux types de composés : [Guignard, (1996) Bruneton, (1999), Krief, (2003)].

- les composés phénoliques qui interviennent dans les interactions plante- plante (inhibition de la germination et de la croissance). Parmi ces composés, on peut citer la lignine, les flavonoïdes, les phényles paranoïdes et les anthocyanes.
- les composés azotés qui comprennent les alcaloïdes et les glycosides. Ces derniers relèvent de l'acide cyanhydrique quand les plantes sont abimées. Ils sont synthétisés à partir des acides aminés. On peut citer la nicotine, l'atropine, la codéine, la lupinine, les terpènes et les poly-isoprènes.

## **2.3. Localisation des métabolites secondaires**

Les métabolites secondaires existent dans toutes les parties des plantes mais ils sont distribués différemment selon leurs rôles défensifs. Cette distribution varie d'une plante à l'autre (Anglade et Vivant, 2006).

## **2.4. Les principales familles de métabolites secondaires**

### **2.4.1. Les huiles essentielles (HE) :**

L'HE est un mélange de composés lipophiles, volatils et souvent liquides, synthétisés et stockés dans certains tissus végétaux spécialisés. Extraites de la plante grâce à des procédés physiques, tels l'hydrodistillation, l'entraînement à la vapeur ou par expression à froid dans le cas des agrumes, les HE sont responsables de l'odeur caractéristique de la plante (Bruneton, 1993).

Le terme « huile » s'explique par la propriété que présentent ces composés de se solubiliser dans les graisses et par leur caractère hydrophobe. Le terme « essentielle » fait référence au parfum, à l'odeur plus ou moins forte dégagée par la plante (Anton et Lobstein, 2005).

### **2.4.2. Les tanins**

Les tanins sont connus depuis la plus haute antiquité. Historiquement, l'importance des plantes contenant des tanins est liée à leurs propriétés de tannage du cuir. Les conséquences du tannage sont la formation de liens entre les fibres de collagène de la peau qui lui confèrent une résistance à l'eau, à la chaleur et à l'abrasion. Cette capacité qu'ont les tanins de se combiner aux macromolécules explique leur pouvoir de précipiter la cellulose, les pectines et les protéines, (Bruneton, 1999).

Les tanins sont des substances d'origine organique que l'on trouve dans pratiquement tous les végétaux et dans toutes leurs parties (écorces, racines et feuilles). Ils sont caractérisés par leur astringence c'est-à-dire par une sensation de dessèchement en bouche. (Joslyn, 1964).

Les tanins sont dérivés de l'acide gallique et d'autres acides polyphénoliques. Ils résultent de l'estérification, par ces acides, des fonctions alcooliques du glucose. Leur structure chimique est très variable mais comporte toujours une partie polyphénolique (Bruneton, 1999).

La majorité des propriétés biologiques des tanins est liée à leur capacité à former des complexes avec les macromolécules, particulièrement avec les protéines.

Les tanins ont une activité thérapeutique grâce à leur astringence. En usage externe, ils permettent l'étanchéité des couches externes de la peau et des muqueuses. Ils ont un effet vasoconstricteur sur les petits vaisseaux superficiels. En limitant les pertes en fluide et en prévenant les agressions externes, les tanins stimulent la régénération des tissus en cas de brûlure ou de blessure superficielle.

En usage interne, ce sont des anti-diarrhéiques. Ils présentent une activité antiseptique. Ils sont très utiles dans le traitement des infections à diarrhée et des dermatites.

Les tanins ont également une activité anti-oxydante. ce sont des inhibiteurs d'enzymes, (Bruneton, 1999).

### **2.4.3. Les flavonoïdes**

Les flavonoïdes sont des pigments végétaux universels. Généralement hydrosolubles, ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Quand ils ne sont pas directement visibles, les flavonoïdes contribuent à la couleur en agissant comme des Co-pigments tels que les flavones incolores. Les flavonoïdes sont aussi ubiquitaires dans la cuticule des feuilles et l'épiderme cellulaire ou ils assurent la protection des tissus contre les dommages causés par les radiations UV (Bruneton, 1999).

Les flavonoïdes sont principalement connus pour leur activité anti-oxydante et anti-inflammatoire [Bruneton, (1999), Borgi et al, (2007)].

### **2.4.4. Les saponines**

Les saponines sont des métabolites secondaires synthétisés naturellement par les végétaux. Ils sont caractérisés par leurs propriétés tensioactives : ils se dissolvent dans l'eau en formant des solutions moussantes (Bruneton, 1993).

La plupart des saponines ou saponosides présentent des propriétés hémolytiques et sont toxiques à l'égard des animaux à sang froid, principalement les poissons. Ces propriétés n'étant pas communes à tous les saponines, elles ne peuvent être prises en compte dans une définition de ces composés (Bruneton, 1993).

Les saponines ou saponosides sont des hétérosides, dont le nom dérive du mot latin *sapo*= savon.

Un bon nombre de saponines assurent la défense de végétale contre l'attaque microbienne ou fongique (Morrisey et Osbourn, 1999).

#### **2.4.5. Les alcaloïdes**

Initialement définie comme des substances azotées, basiques, d'origine naturelle et de distribution restreinte, les alcaloïdes sont d'une structure complexe. Leurs atomes d'azote possèdent une activité pharmacologique significative (Burneton, 1999).

Le rôle des alcaloïdes est essentiellement celui de phagodétérants : leur amertume et leur toxicité repousse les herbivores. Aussi, ils jouent un rôle en pharmacopie dans la fabrication de médicaments comme la morphine de pavot, (Guinord, 2000).

### 3. Etude de la plante

*Arenaria rubra* L (*Pers*) ou *Spergularia rubra* L, ou plus communément appelée *Sablina* ou *Arenaria cassa pedra* [Temani Y, (2006) Baba Aissa (2000)], est une plante appartenant à la famille des Caryophyllacées Alsiniées. Elle est connue aussi bien par les herboristes d'Europe, du Maghreb que de l'Asie (Duraffourd Lapriz, 2002).

Cependant, la plante n'est pas très étudiée du point de vue scientifique bien qu'elle ait été, depuis toujours, populairement utilisée comme diurétique. On sait également qu'elle agit sur les inflammations et les spasmes des voies urinaires. Par ailleurs, elle agit de manière préventive contre la formation de calculs rénaux et de sédiments urinaires (Temani, 2006) et (Valnet 1992).

#### 3.1. Systématique

- Règne *Végétal*
- Embranchement /Division *Angiosperme*
- Classe *Rosopsida*
- Sub classe *Caryophyllidae*
- Super ordre *Caryophyllanae*
- Ordre *Caryophyllales*
- Subordre *Caryophyllineae*
- Famille *Caryophyllaceae*
- Genre *Spergularia*
- Espèce *Spergularia rubra* L ou *Arenaria rubra* L.  
(Juda et *all.* 2002).

#### 3.2. Noms communs

##### En Algérie (nom vernaculaire)

Diverses appellations, lui sont attribuées telles que *Cherifa*, *Achba El Hamra*, *Griher*, *Horra*, *Hacheb El R'ezal*, *El Hadjel*, *K'raa El Djadja*, *Habbat endjoun*, *Rhedam*, *Talemt El Rhezal*, *Ourzima*, *Fettat El Hdjer*, *Bsat El Moulouk* [Baba Aissa (2000), Temani, (2006), Mahmoudi, (1990)].

Cette dernière appellation est la plus commune dans la région de la Mitidja.

Elle donne un aperçu sur l'aspect de cette plante qui recouvre parfois les sols tel un tapis.

### Dans d'autres pays :

Selon Lonchamp JP, (2000). *Arenaria rubra L.* possède plusieurs autres appellations à travers l'Europe telles que

- en Allemagne : Roter Spärkling ;
- en Espagne : Esparcilla encarnada ;
- en France : Spergulaire rouge ;
- en Italie : Spergularia comune ;
- en Angleterre : Sand spurrey

### 3.3. Localisation

*Arenaria rubra L.* est une espèce sub-cosmopolite polymorphe (Baba Aissa 2000), très commune en Europe, en Algérie et en Amérique du Nord (Boullard, 2001).

En Algérie, elle est commune dans le Tell. Elle occupe des terrains sablonneux et rocaillieux depuis le littoral jusqu'aux hautes montagnes. Elle évolue sur des terrains bien arrosés, semi-arides ou arides ainsi que sur des terrains siliceux (Baba Aissa 2000), (Figure1.1).



**Figure 1.1 : Photo original de la plante *Arenaria rubra L.* (original)**

### 3.4. Habitat

Cette plante évolue aussi bien dans les sols sablonneux et pierreux, les clairières des forêts que dans les plaines et les montagnes (Beloued, 2005).

### 3.5. Description de la plante

*Arenaria rubra L.* est une herbe annuelle ou vivace, polymorphe, non charnue, non maritime. Elle forme souvent des tapis. Elle est poilue, glanduleuse, dans ses parties supérieures (Le Maire, 1963), (Figures 1.1).

Elle présente une racine pivotante, ordinairement grêle, rarement épaisse avec des formations pachytiques surnuméraires peu nombreuses (Le Maire, 1963).

Les tiges sont couchées ou ascendantes, cylindriques ou subtétragones vers la base. Elles peuvent atteindre 30 cm de long. Elles sont ordinairement très rameuses ou densément feuillées.

Les feuilles sont opposées, très étroites. Elles peuvent atteindre 35 X 0,8 mm.

Elles peuvent être planes, glabres ou pubescentes-glanduleuses (Le Maire, 1963).

Les fleurs sont petites, le calice présente une taille de 2,5 à 4 mm de long. Elles contiennent 5 sépales libres oblongs, obtus, herbacés au milieu et poilus glanduleux sur le dos. Les sépales sont scarieux, plus ou moins larges. Ils présentent 3 nervures anastomosées en réseau. Les fleurs présentent 5 pétales libres dont les couleurs peuvent être purpurin clair mais rarement blancs. ils sont entiers et arrondis au sommet. Les pétales sont ordinairement inférieurs aux sépales. Le nombre d'étamines varie entre 2 et 10 (Quezel et Santa, 1962).



**Figure 1.2 : Photo original de la plante *Arenaria rubra* L. (original)**

### **3.6. Récolte de la plante**

*Arenaria rubra* L. est généralement récoltée au printemps, au début de la floraison. Cependant la période de floraison de la plante dure de la fin du mois d'avril au début du mois de septembre [Le Maire, (1963). Mahmoudi, (1990), Hall, (2002)].

### **3.7. Usages**

On la prépare en décoction à la dose de 30g de plante séchée par litre d'eau. Il est conseillé de prendre 2 tasses par jour matin et soir on peut obtenir de bons résultats de guérison. On la consomme régulièrement à titre préventif contre la formation des calculs rénaux (Beloued, 2005). En général, on utilise la plante entière (Mahmoudi, 1990).

## Chapitre II: Matériels et Méthodes

### 1. Matériels

L'expérimentation a été réalisée de Mars 2013 à Juillet 2013. Les analyses ont été effectuées au niveau :

- Du laboratoire « biotechnologie végétale » du département de biologie (université Saad Dahleb Blida) pour l'extraction des huiles essentiels.
- laboratoire de physicochimie, ainsi qu'au niveau du service de toxicologie du complexe antibiotical Sidal (Médéa) pour l'étude biologique.

### 1.1. Matériel biologique

#### 1.1.1. Matériel végétal

La plante a été récoltée au mois d'Avril 2013 dans la localité de Bouarfa dans la wilaya de Blida, Algérie. Nous avons choisi cette période afin de nous assurer que la plante soit en pleine période de floraison.



**Figure.2. *Arenaria rubra* L. vue générale (KEBBAS, 2009)**

Des échantillons ont été conservés à l'état frais, afin de pouvoir déterminer la teneur en eau. Tout le reste de la récolte a été séché à l'air libre dans un endroit sec, à l'abri de la lumière et de l'humidité.

L'étude de la toxicité et des effets diurétiques de *Arenaria rubra* L. ont été effectués sur : un matériel animal et bactériologique.

### 1.1.2. Matériel animal

-Souris NMRI (Naval Médical Research Institute, Bethesda, Maryland, USA) (Figure 3) est une souris blanche de race albinos (figure 3). Elles proviennent de l'unité animalerie de l'annexe de l'institut Pasteur de Kouba (Alger). Nous avons utilisé 15 souris, d'un poids de 20 g chacune.

- Rat Wistar : Ce sont des rats d'élevage qui sont très utilisés par les laboratoires (Figure 4). Leur facilité d'élevage permet de les faire reproduire en grand nombre. Les rats utilisés proviennent de l'animalerie de l'annexe de l'institut Pasteur de Kouba d'Alger. Nous avons utilisé 12 rats, d'un poids variant entre 200 et 250 g chacun.



**Figure .3. Souris NMRI**



**Figure.4. Rat WISTAR**

### 1.1.3. Matériel bactériologique

Les souches utilisées sont au nombre de 6, provenant du laboratoire de bactériologie EPH Ibrahim TIRICHINE de l'hôpital civil Blida .Il s'agit des souches: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *citrobactere*, *Serratia marcesens*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas sp.*

## **1.2. Matériel non biologique (Annexe 02)**

### **2. Méthodes**

#### **2.1.1. Identification botanique de la plante**

L'identification de la plante a été effectuée au niveau de

- L'Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie (ENSA) d'El Harrach Département de Botanique.

Pour l'identification nous avons tenu compte de :

a) Aspect macroscopique : Des spécimens de la plante récoltée, ont été comparés à ceux archivés au niveau de l'herbier de l'ENSA avec comparaison des organes et des formes.

b) Aspect microscopique :

\* Observations à la loupe :

- La fleur : le nombre de pétales, de sépales et d'étamines a été comptabilisé.

- La forme des feuilles et celle des tiges ont été observées.

#### **2.1.2. Localisation des lieux de sécrétion de la plante**

\* Observation au microscope :

Des coupes histologiques de la racine et de la tige ont été effectuées. Pour identifier les tissus, une double coloration est réalisée au niveau du laboratoire de la post-graduation de biotechnologie végétale du département de biologie de l'université Saad Dahleb Blida.

## **2.2. Etude phytochimique de l'*Arenaria rubra* L.**

### **2.2.1. Détermination de la teneur en eau**

Le matériel végétal a été lavé, pesé (PF) et séché à l'étuve ventilée à 60°C. La plante a été pesée toutes les 24 heures jusqu'à obtention d'un poids constant (PS) [Bouquet, et Paris, (1967), Linard et al., (1976)]. La teneur en eau (T) est :

$$T = \frac{PF-PS}{PF} \times 100 \quad (\% \text{ /g. poids frais})$$

## 2.2.2. Etude des principes actifs d'*Arenaria rubra L.*

Nous avons procédé à l'étude des composés volatils et non volatils d'*Arenaria rubra L.* par les méthodes d'extraction usuelles, ainsi que les méthodes d'analyses chimiques et biochimiques.

### 2.2.2.1. Etude des composés volatils

#### A. Extraction par l'hydro-distillation

L'hydro-distillation consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter dans un ballon d'un litre, contenant 750 ml d'eau distillée. L'ensemble est porté à l'ébullition pendant 2 à 3 heures. Les vapeurs chargées d'huile, en traversant le réfrigérant se condensent et chutent dans une ampoule à décanter (figure 5).

Le débit d'eau qui passe dans le réfrigérant est réglé. La vapeur d'eau ayant emprisonné les substances se condense au niveau du réfrigérant et est recueillie en aval du montage donnant l'hydrolat. Ces deux phases sont intimement mélangées car l'huile essentielle et l'eau ont des densités très voisines.

Pour recueillir l'huile essentielle il est nécessaire d'alourdir la phase aqueuse. Pour cela, nous avons utilisé un solvant organique le diéthyléther (Paolini et al., 2008).

Après une décantation pendant 24 h l'huile essentielle est alors séparée du solvant grâce à l'évaporateur rotatif, puis analysée par CG-MS (Tahrouch et al., 2002).

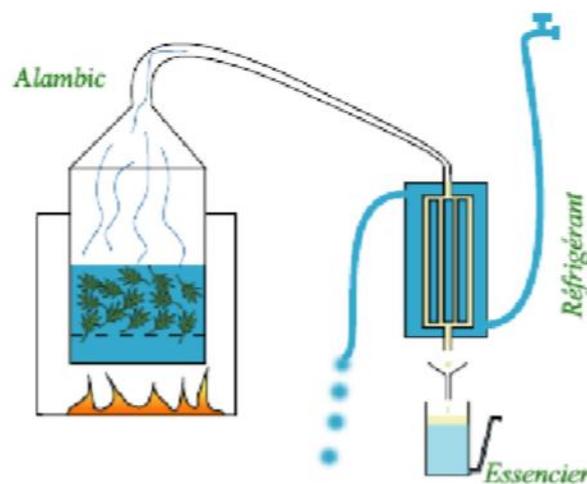


Figure .5. Extraction des HE par l'hydro distillation

## **B. Analyse de l'huile essentielle par CG/MS**

### Conditions chromatographiques

Les conditions de chromatographie sont :

- injection de 4µl en mode Split 1/50.
- Température de l'injecteur : 250°C.
- Colonne capillaire HP5MS (30 m x 0.5 mm x 0.25 µm).
- Programmation de température : 50°C Pendant 5 min; 4°C/min jusqu'à 250°C pendant 10 min.
- Débit du gaz vecteur : Hélium (1 ml/min)

Spectre de masse : model Agilent 5973

- Température : interface (280°C), source (230°C), quadripôle (150°C).
- L'énergie d'ionisation est de 70 ev.

### **2.2.2.2. Étude des composés non volatils polaires et non polaires**

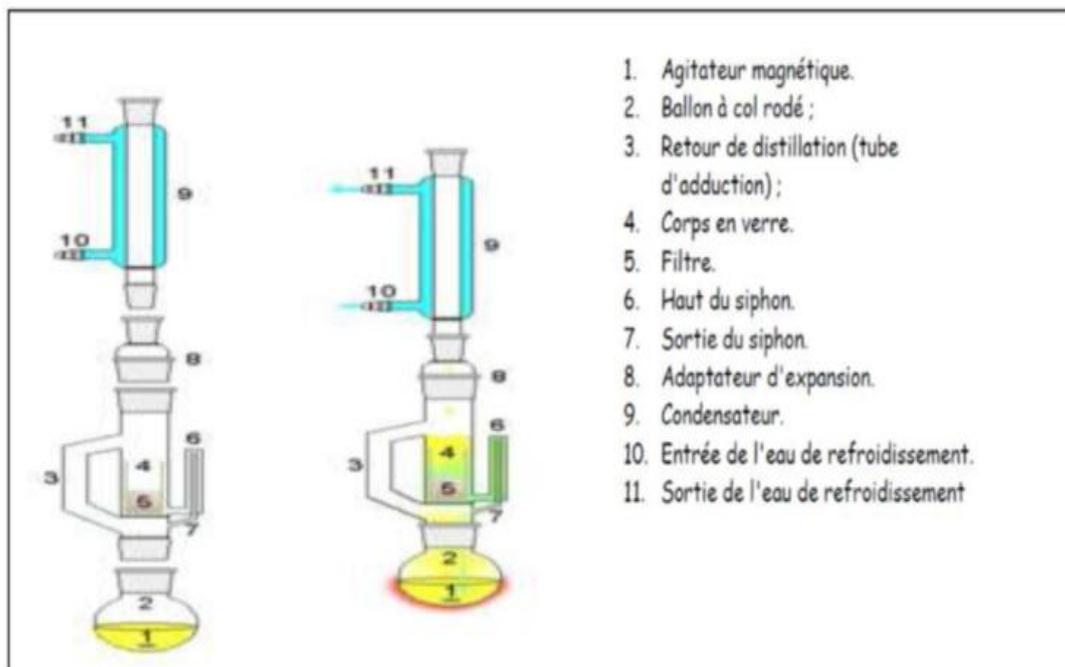
Les composés non volatils de la plante ont été extraits à l'aide du soxhlet.

#### **Principe**

Le ballon est chauffé, les vapeurs du solvant passent par le tube adducteur, se condensent dans le réfrigérant et retombent dans le corps de l'extracteur, faisant ainsi macérer le solide dans le solvant.

Le solvant condensé s'accumule dans l'extracteur jusqu'à atteindre le sommet du tube siphon, provoquant alors le retour du liquide dans le ballon qui est accompagné des substances extraites. Le solvant contenu dans le ballon s'enrichit donc progressivement en composés solubles.

Le cycle peut se répéter indéfiniment, jusqu'à épuisement complet du solide, d'où l'efficacité remarquable de cette technique par rapport à la simple macération (Figure 6).



**Figure .6. Schéma du Soxhlet**

#### **A. Extraction des composés non volatiles au soxhlet**

- 20 g de plante entière, soigneusement lavées et séchées, sont introduits dans la cartouche en papier filtre et placés au niveau du soxhlet.
- 250 ml d'éther de pétrole sont incorporés dans un ballon à col rodé à fond plat. Ce dernier est placé dans un bain Marie porté à ébullition.

Après une douzaine de siphonages, nous récupérons d'une part, le ballon contenant le solvant enrichi en substances solubles c'est la fraction lipidique (Amrani, 2006), d'autre part la matière végétale contenue dans la cartouche de papier filtre que l'on nommera marc et qu'on laisse sécher à l'air libre.

Le marc récupéré et séché est réintroduit dans une seconde cartouche et soumis à une seconde extraction au soxhlet en utilisant cette fois-ci du méthanol afin de récupérer les substances polaires solubles dans les alcools ou autres solvants polaires.

Après une douzaine de siphonages, nous récupérons un marc et le ballon contenant le solvant ainsi que la fraction polaire de la plante (sucres, flavonoïdes, tanins, et divers glycosides)

Les résidus secs des deux extractions, à l'éther de pétrole et au méthanol, sont obtenus par évaporation du solvant grâce à un évaporateur rotatif.

Les ballons contenant les résidus secs sont pesés avant et après extraction pour déterminer la teneur respective de chacune des substances (Figure 7)

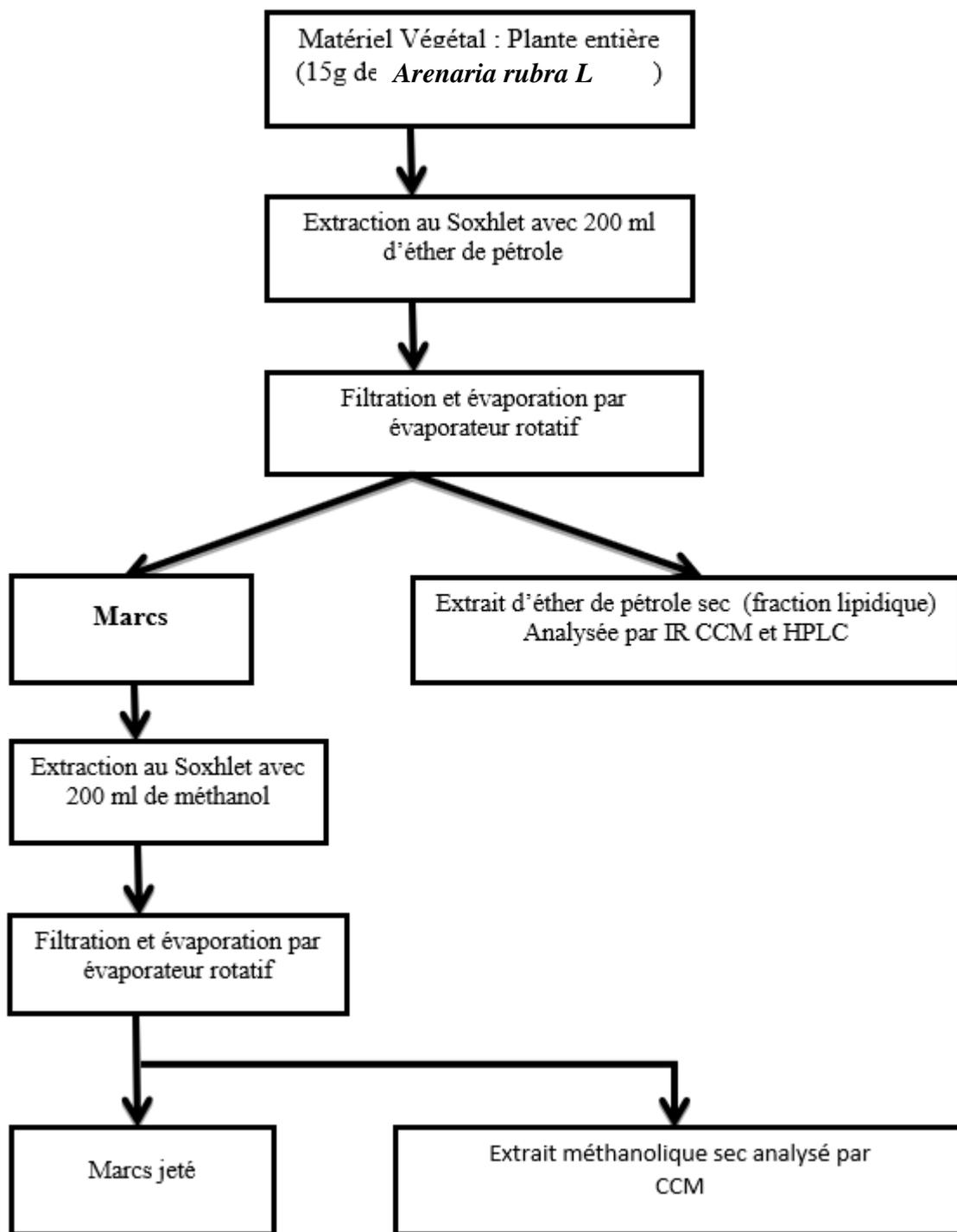


Figure 7. Protocole expérimental de l'extraction des composés non volatils polaires et apolaires par Soxhlet (Chebaki, 2006)

### B. Analyse de la fraction méthanolique par CCM

Le résidu méthanolique est soumis à une chromatographie sur couche mince sur des plaques de gel de silice. Cette opération a pour but d'effectuer une caractérisation des composés contenus dans l'extrait méthanolique.

## Principe

Elle possède comme principaux avantages, la simplicité, la rapidité, et le coût modeste, non négligeable.

La solution de substances à séparer est déposée sur un matériau solide, insoluble, minéral ou organique, réduit en une poudre plus ou moins fine. La phase stationnaire est entraînée par une phase mobile liquide, l'éluant. La rétention des différentes substances dépend d'une part de leur nature, de leur taille, de leur structure et de leur polarité et d'autre part, de la polarité de la phase mobile et de l'activité de la phase stationnaire.

Chaque substance possède un facteur de rétention ( $R_f$ ) dans un système donné. La valeur de  $R_f$  est donnée par le rapport de la distance parcourue par la substance sur celle parcourue par le front de l'éluant (Wyler, 1991).

## Conditions opératoires

- Phase stationnaire : plaques de gel de silice standard : 20 cm x 20 cm
- Phase mobile : eau distillée/ Acide acétique/ Butanol (5 v ; 1 v ; 4 v) [104]

Des spots de 10  $\mu$ l ont été déposés à 1 cm du bord inférieur de la plaque.

La plaque est plongée dans une cuve en verre contenant la phase mobile, préalablement préparée. La migration se fait par capillarité. Lorsque le solvant atteint les deux tiers de la plaque, nous arrêtons la migration.

La plaque est ensuite séchée quelques minutes à l'étuve puis vaporisée par les révélateurs adéquats :

Dans notre cas nous avons utilisé :

- Le  $FeCl_3$  à 1% pour la révélation des tanins et des acides phénols.
- L' $AlCl_3$  pour la révélation des flavonoïdes.
- La potasse alcoolique à 5% pour les coumarines

## 2.3. Extraction de certains principes actifs

### 2.3.1. Extraction des saponines

Leur présence est déterminée quantitativement par le calcul de l'indice de mousse. Ce dernier est le degré de dilution d'un décocté aqueux donnant une mousse persistante dans des conditions déterminées.

Une décoction est préparée à 2% avec du matériel végétal sec et broyé. À partir de cette solution mère, 10 tubes sont préparés avec 1, 2, 3, 4, 5,6, 7, 8, 9 et 10 ml. Le volume final est réajusté à 10 ml avec de l'eau distillée.

Chacun des tubes est agité avec énergie en position horizontale pendant 15 secondes. Après un repos de 15 min en position verticale, on relève la hauteur de la mousse

persistante en cm. Si elle est proche de 1 cm dans le Xe tube, l'indice de mousse est alors calculé par la formule suivante :

$$I = \frac{\text{hauteur de mousse (en cm)} \times \text{ds l X tube} \times 5}{0,0x}$$

I = l'indice du mousse

X= numéro de tube

La présence de saponines dans la plante est confirmée lorsque l'indice est supérieur à 100 (Dohou et al., 2003).

Les saponines ont été extraites selon le protocole :

Le broyat de la plante *Arenaria rubra* L. a été délipidé durant deux heures par 250 ml du n-hexane pur.

Après élimination de la phase organique, le précipité obtenu est mis à macérer dans 300 ml d'éthanol absolu sous agitation magnétique à la température ambiante pendant 24 heures. La phase éthanolique est évaporée à sec sous vide à 40 °C par l'évaporateur rotatif.

Nb : Le résidu sec est extrait trois fois par 100 ml du mélange eau distillée/éther de pétrole (v/v). Le mélange est chauffé à 50 °C dans un bain-Marie pendant 30 minutes (Figure 8). Les phases aqueuses sont mélangées, puis reprises par 150 ml de n-butanol pour analyse pendant 30 minutes. La phase organique, évaporée à sec à 40 °C par l'évaporateur rotatif, a été pesée (Figure 8) (Bouchelta et al, 2005).

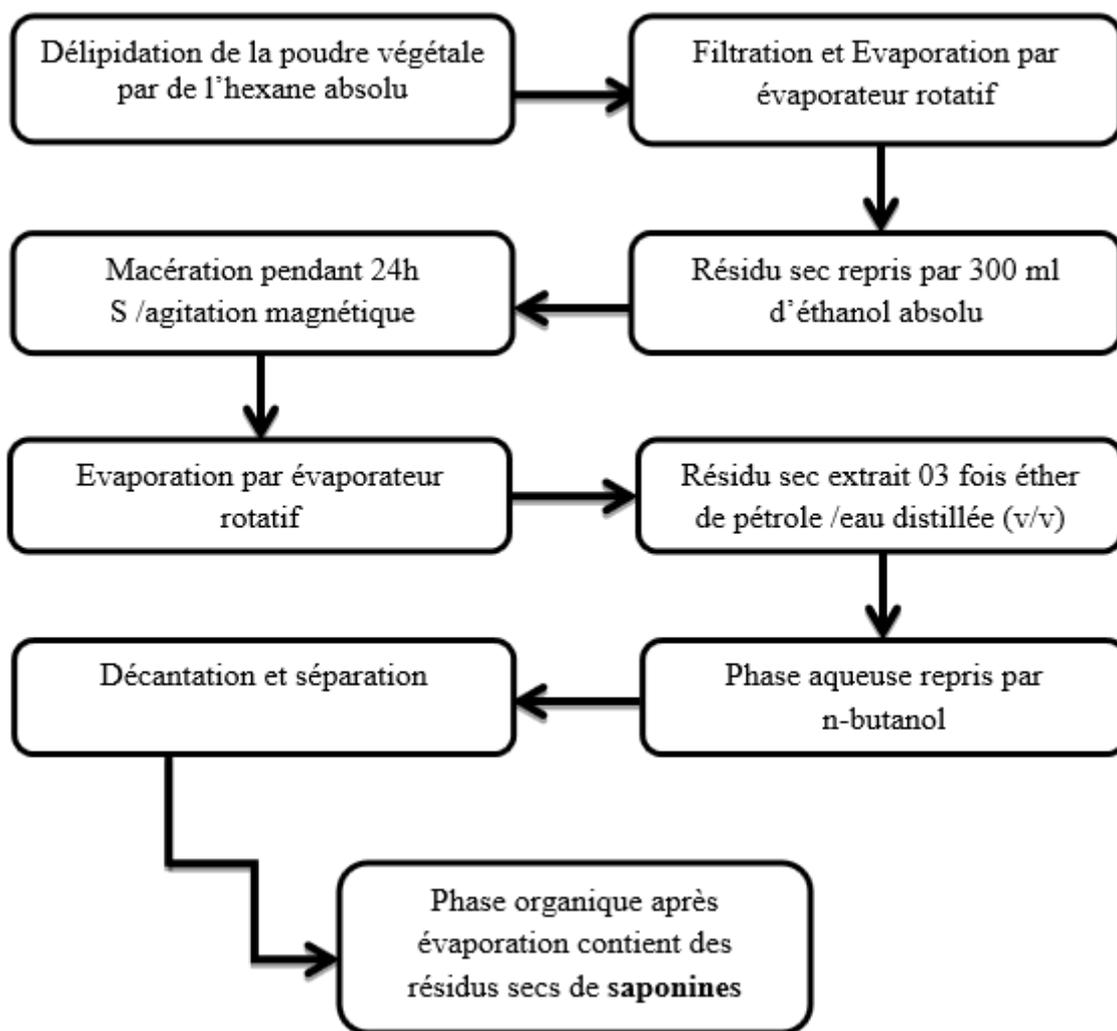


Figure 8. Protocole expérimental de l'extraction des saponines (Bouchelta et al., 2005).

### 2.3.2. Extraction des hétérosides flavoniques

#### \* Extraction

Dans un flacon en verre, on introduit 4 g de poudre végétale et 400 ml d'une solution hydro-alcoolique (30/70) qu'on laisse macérer durant 48h. Après filtration, le filtrat est évaporé jusqu'à l'obtention d'un résidu sec.

Le résidu sec est repris par 100 ml d'eau bouillante. Après refroidissement, on procède à une extraction liquide-liquide par du n-butanol, la séparation est réalisée dans une ampoule à décanter, deux phases apparaissent :

- L'hypophase aqueuse de couleur brunâtre est éliminée
- L'épiphase butanolique, de couleur verdâtre contenant les hétérosides flavoniques est évaporée à sec sous hotte ventilée.

L'extrait sec est récupéré par 5ml de méthanol et conservé au frais pour l'analyse par CCM (Figure 9) (Harborne, 1973).

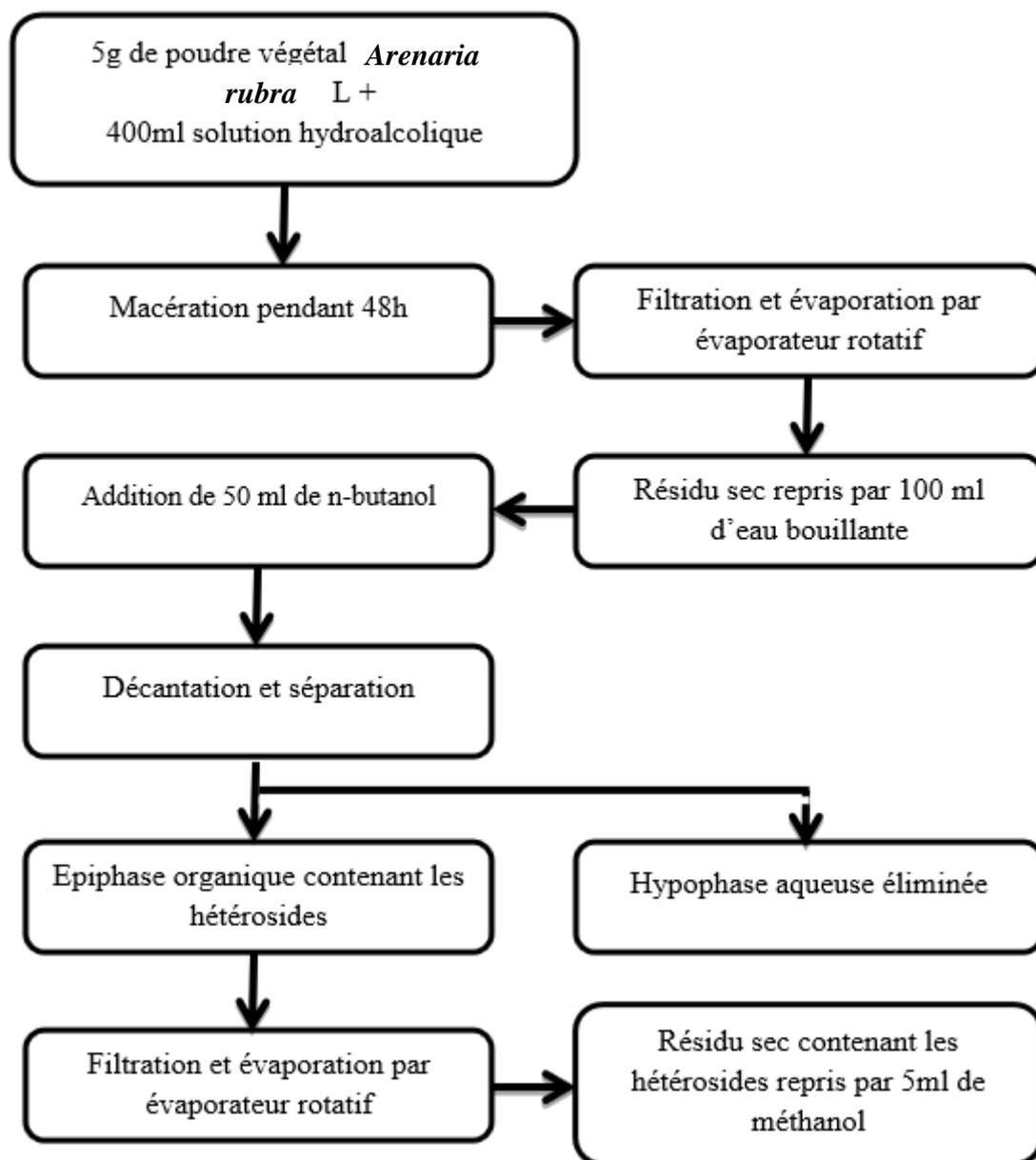


Figure 9. Protocole expérimental de l'extraction des hétérosides flavoniques (Harborne, 1973)

### 2.3.3. Etudes des tanins

#### A. Extraction

On pèse 30 g de poudre végétale qu'on laisse macérer dans 100 ml d'éther de pétrole pendant 24 h permettant ainsi de dégraisser la plante.

Après filtration, le filtrat contient de la chlorophylle et les lipides, le marc est récupéré et repris par 50 ml de diéthyléther ensuite il est filtré (figure 10). Ce filtrat contient les phénols, les catéchines et l'acide oxybutyrique ; le marc est repris par 100 ml de méthanol, le filtrat méthanolique est soumis à une évaporation sous vide, le résidu sec contient un extrait pur de tanins, (Bruneton, 1999).

## **B. Analyse des tanins par CCM**

Le résidu sec obtenu est solubilisé dans quelques millilitres de méthanol en vue de subir une chromatographie sur couche mince.

Conditions opératoires :

- Phase stationnaire : plaques de gel de silice standard : 20 cm x 20 cm.
- Phase mobile : eau distillée/ acide acétique/ butanol (5 v ; 1 v ; 4 v)

Des spots de 10  $\mu$ L ont été déposés à 1 cm du bord inférieur de la plaque. La plaque est plongée dans une cuve en verre contenant la phase mobile, préalablement préparée et la migration se fait par capillarité jusqu'à ce que le solvant atteigne les deux tiers de la plaque ; nous stoppons la migration.

La révélation se fait par vaporisation d'une solution de chlorure ferrique.

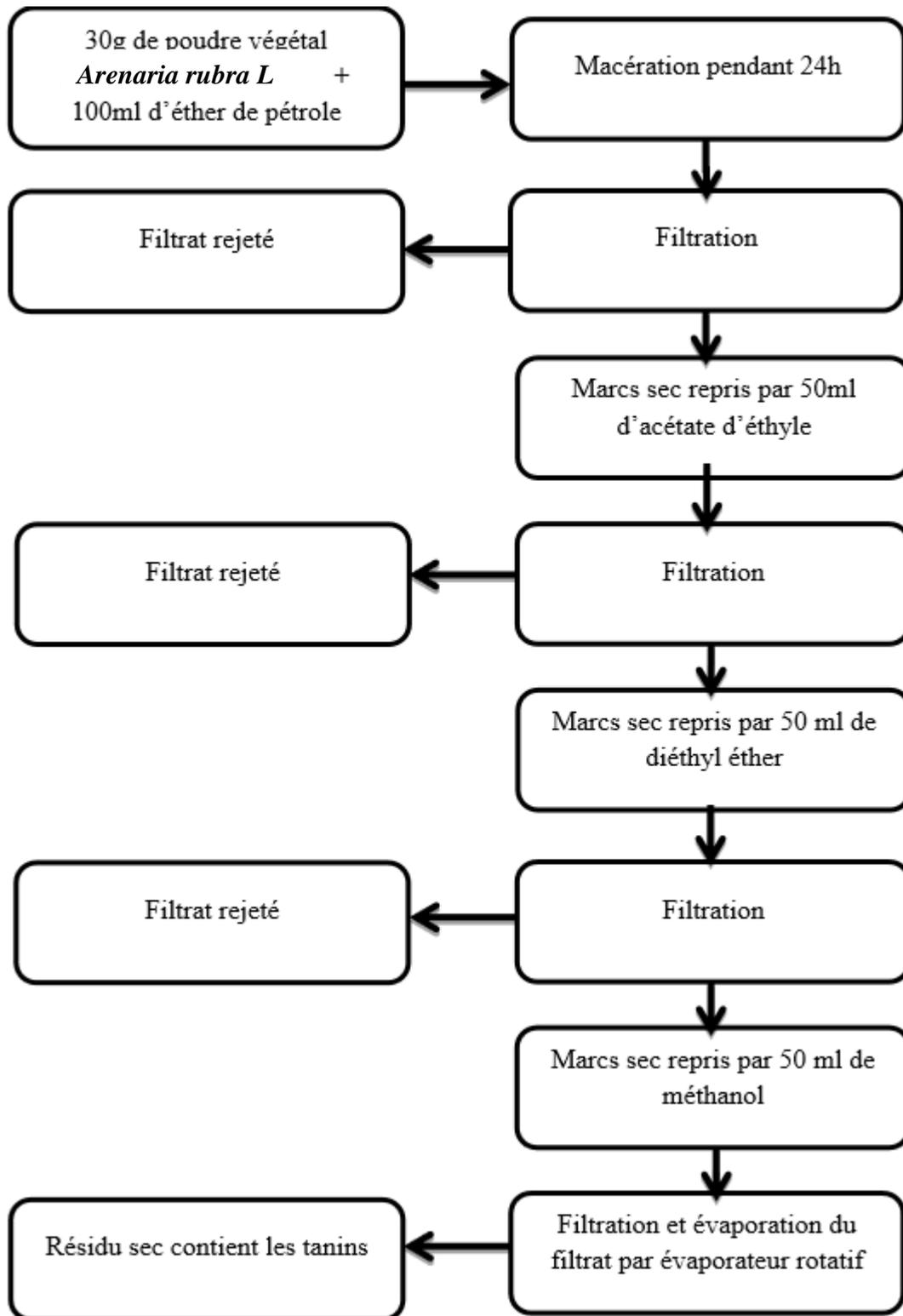


Figure 10. Protocole expérimental de l'extraction des tanins (Bruneton, 1999).

### 2.3.4. Etudes des alcaloïdes

#### Extraction

Bien qu'il n'ait pas été rapporté l'existence d'alcaloïdes au niveau de *Arenaria rubra* L. et vu l'importance de ces composés, nous avons tenté de les extraire comme suit :

Dix g de poudre végétale ont été mis à macérer dans 100 ml d'Hcl pendant 24h. Après filtration, la phase aqueuse a été additionnée d'un solvant organique apolaire. Après décantation, la phase aqueuse a été récupérée et la phase organique a été rejetée.

La phase aqueuse est alcalinisée par du NaOH à pH 9. Elle est additionnée du même solvant organique. Nous récupérons la phase organique qui, après concentration (figure 11), contient le résidu sec d'alcaloïde (Figure11) [Paris, Moyses, (1976), Togola, (2002)].

La révélation se fait par le réactif de Dragendorff.

#### Recherche d'alcaloïdes au niveau de l'extrait méthanolique

Une seconde méthode a été utilisée pour identifier les alcaloïdes au niveau de la plante par CCM sur gel de silice. Celle-ci consiste en :

Phase stationnaire : plaques de gel de silice standard : 20 cm x 20 cm

Phase mobile : acétate d'éthyle / méthanol/ NH<sub>4</sub>OH (9V ; 1V; 1 V)

Des spots de 10 µl ont été déposés à 1 cm du bord inférieur de la plaque. La plaque est plongée dans une cuve en verre contenant la phase mobile, préalablement préparée. La migration se fait par capillarité jusqu'à ce que le solvant atteigne les deux tiers de la plaque, alors nous stoppons la migration.

La révélation se fait par vaporisation du réactif de Dragendorff.

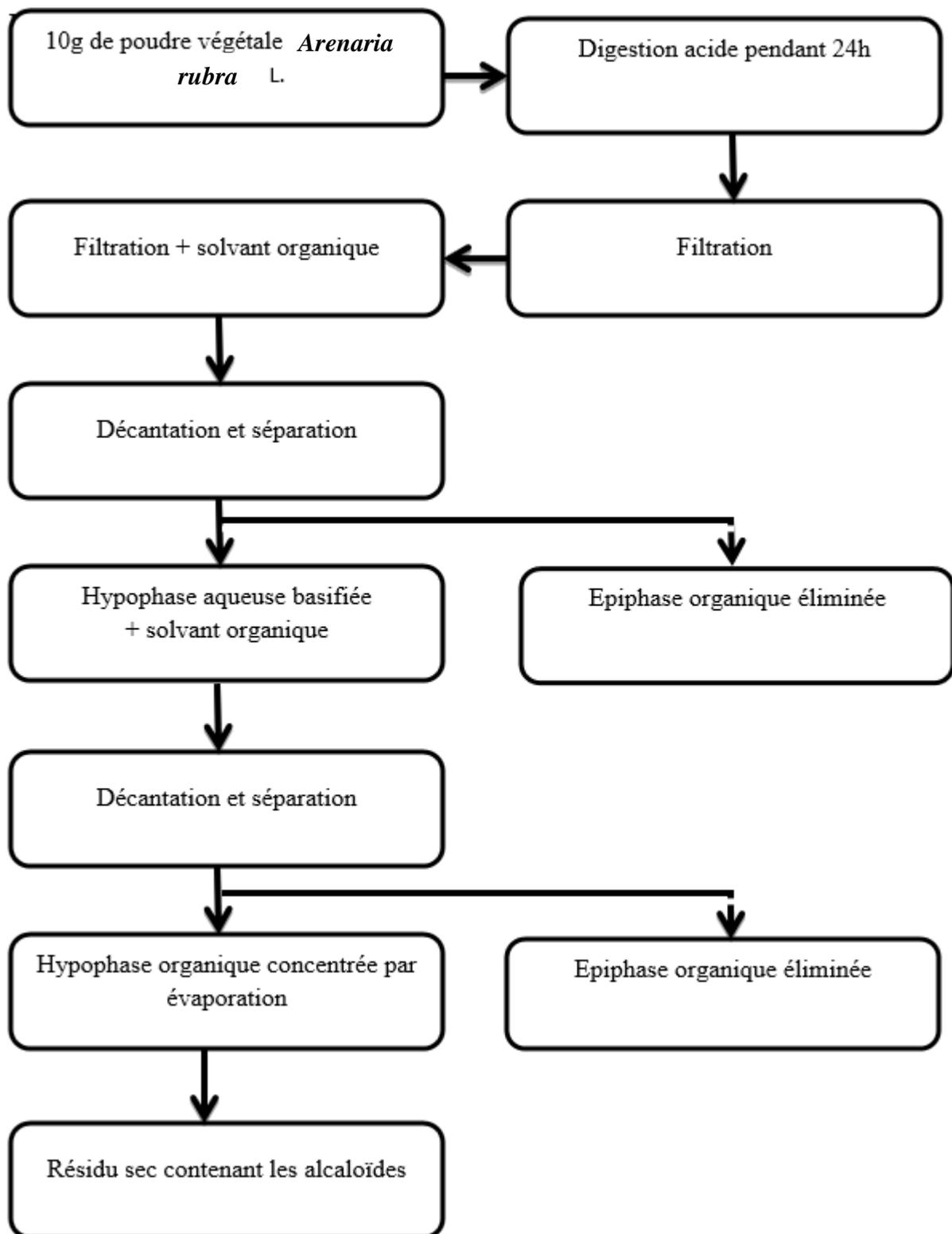


Figure 11. Protocole expérimental de l'extraction des alcaloïdes (Bruneton, 1999).

## **2.4. Etude biologique de la plante *Arenaria rubra* L.**

Dans cette partie, nous aborderons l'étude de l'effet antibactérien de la plante *Arenaria rubra* L. ainsi que de celle de son huile essentielle. Par ailleurs, nous rapporterons l'ensemble des expériences ayant permis d'étudier la toxicité et l'effet diurétique de cette même plante.

### **2.4.1. Activité antimicrobienne d'*Arenaria rubra* L.**

#### **2.4.1.1. Matériel biologique**

Les souches microbiennes utilisées proviennent du laboratoire de bactériologie de l'hôpital civil Blida.

#### 2.4.1.2. Milieux de culture

Deux milieux ont été utilisés :

- La Gélose nutritif pour la conservation des souches.
- Muller Hilton (MH) pour la culture de cette souche.

#### a) Coulage des boîtes de Pétri.

Après stérilisation, et refroidissement des milieux à 45 à 55°C, nous coulons les de pétri aseptiquement sous une hotte à flux laminaire stérile. Nous utilisons des boites en plastique à usage unique.

#### b) Préparation des suspensions microbiennes.

Nous utilisons des cultures jeunes de 18 à 24 heures fraîchement réactivées. La réactivation consiste en :

- Prélèvement à l'aide d'une anse de platine stérile de la souche du tube de milieu de conservation « gélose nutritive ».
- Culture de cette souche sur le milieu d'utilisation « Muller Hilton ». la durée de l'incubation est de 24 heures à 37°C.

Nous préparons la suspension de chaque souche séparément en prélevant, à l'aide de l'anse de platine stérile, 2 à 3 boucles de culture jeune, que l'on dépose dans un tube de solution physiologique stérile ; nous agitons énergiquement pour bien mélanger.

#### 2.4.1.3. Produits à tester.

##### A. Description du principe

Nous avons utilisé la technique de diffusion sur gélose. [Bauer et al, (1966), Sanogo et al, (2006)], Cette méthode consiste à déposer un disque en papier absorbant imprégné de la substance à tester sur une boîte de géloseensemencée de culture à étudier. Cette substance diffuse sur la surface de la gélose à partir du disque et un gradient décroissant s'établit autour de ce dernier.

- La suspension bactérienne est étalée en stries serrées sur la gélose en faisant pivoter la boîte de Pétri horizontalement à 60° pour couvrir toute la surface. Nous avons ensemencé 4 boîtes.

Le disque de papier absorbant est trempé dans l'extrait d'éther de pétrole (fraction apolaire) à l'aide d'une pince stérile. Un second disque est trempé dans le produit de décoction et un troisième disque est trempé dans l'huile essentielle pure. Les disques sont déposés au centre de chacune des 3 boîtes cultivées, la 4<sup>ème</sup> boîte servira de témoin. Les boîtes sont étiquetées et mises à incuber à 35°± 2° C pendant 18 à 24 heures selon les souches.

## **2.5. Etude de la toxicité de l'*Arenaria rubra* L.**

La toxicité de l'*Arenaria rubra* L. a été testée conformément à la pharmacopée sur des souris NMRI comme suit :

- Lot N°01 : composé de cinq souris à qui nous avons administré par voie orale 0,5 ml

De décoction à 3% telle qu'elle est prescrite par les herboristes.

- Lot N°02 : composé de cinq souris à qui nous avons administré 0,5 ml

De décoction à 5% pour augmenter la concentration de la décoction.

- Lot N°03 : composé également de cinq souris à qui nous avons administré 0,5 ml

De décoction à 8% pour augmenter la concentration de la décoction.

Les souris ont été mises sous surveillance pendant deux semaines.

## 2.6. Etude de l'effet diurétique de *Arenaria rubra* L.

Afin de mettre en évidence l'effet diurétique de la plante nous avons suivi la démarche:

a) Matériel végétal : 5g de poudre végétale de *Arenaria rubra* L. sont mis en décoction dans 100 ml d'eau distillée. Après une ébullition de 4 à 5 mn la décoction est refroidie à température ambiante et filtrée. Elle servira à tous les essais.

b) Matériel animal : notre étude a porté sur 12 rats WISTAR de poids variant entre 200 et 250 g. Ils sont élevés en cage et répartis en 4 lots de trois rats chacun. Ils sont maintenus à une température ambiante de 20°C.

- Lot N°01 : les rats reçoivent quotidiennement de l'eau distillée par gavage à raison de 5ml/kg pendant 04 semaines. Ce lot représente le placebo (T-).

- Lot N°02 : les rats reçoivent du Furosémide® par voie intraveineuse (par la veine caudale) une fois par semaine.

- Lot N°03 : les rats reçoivent quotidiennement de la décoction à raison de 100 mg/kg par voie orale (gavage) pendant 04 semaines. Sachant qu'un ml de décoction correspond à 50mg de plante.

- Lot N°04 : les rats reçoivent quotidiennement de l'infusion à raison de 200 mg/kg par voie orale (gavage) pendant 04 semaines. La diurèse a été relevée toutes les 24h.

Vue à l'absence des cages métaboliques pour la récupération des urines, on calcule les volumes de l'eau consommée par les rats chaque 24h.

## **Chapitre III : Résultats et Discussion**

### **1. Résultats de l'étude botanique de la plante**

#### **1.1. Etude macroscopique**

Après comparaison du spécimen récolté au niveau de la région de Bouarfa Wilaya de Blida avec ceux répertoriés au niveau de l'herbier de l'ENSA, nous avons pu constater que les deux échantillons sont identiques (Figure 12).

##### **1.1.1. La fleur**

Elle est petite, de quelques mm de diamètre, aux pétales de couleur violette, plus grands que les sépales. Ceux-ci sont au nombre de 5 et leur extrémité est en pointe (Figure 13).

Les sépales sont aussi au nombre de 5, recouverts d'un film argenté parsemé de poils épidermiques à pointe vésiculaire (Figure 14).

Les sépales et les pétales présentent des extrémités en pointe. Le nombre d'étamines varie d'une fleur à l'autre. Elles sont généralement au nombre de huit disposées sur deux verticilles (Figures 15 et 16). Sur le premier, les étamines sont alternées avec les pétales, sur le second elles se font face. Nous notons la présence d'un filet au niveau de l'étamine (Figure 17)

Nous avons noté également la présence de une à deux petites étamines non fertiles restées à l'état embryonnaire. (Figure 18).

Pour ce qui est de l'androcée, nous notons la présence de trois stigmates (Figure 17), d'un ovaire infère (Figure 19) comportant plusieurs loges contenant des ovules (Figure 20).

##### **1.1.2. La tige**

De 25 à 30 cm de longueur, elle est ligneuse à la base et devient herbacée vers le sommet. A la loupe binoculaire, nous notons la présence d'un tapis de poils épidermiques sécréteurs à bout vésiculaire (Figure 21).

##### **1.1.3. La racine**

La racine est pivotante, elle porte quelques ramifications chevelues, de quelques cm de longueur (< à 5 cm) (Figure 22).



**Figure 12.** Spécimens d'*Arenaria rubra* L. De l'herbier de l'ENSA El Harrach (A, B, C, D, E) ; Echantillon d'*Arenaria rubra* L. Récoltée dans la région de bouarfa (F)



Figure13: Fleur vue de face (loupe Gx 4.5)



Figure14 : Calice vue de face (loupe Gx 4.5)



Figure15 : Fleur vue de profil (loupe Gx 4.5)



Figure16 : Etamine au nombre de huit (loupe Gx 4.5)

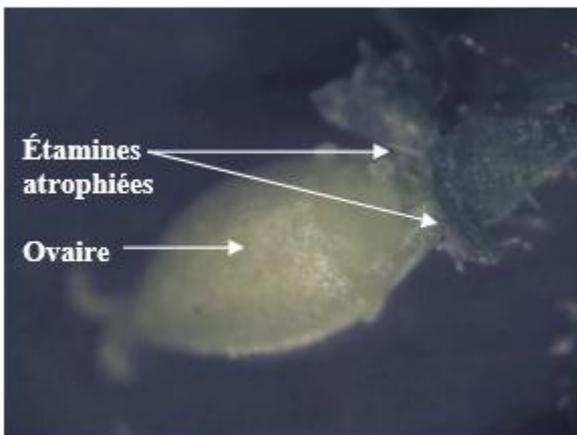


Figure17 : Androcée vue de profil (loupe Gx 4.5)



Figure18 : Etamine munie d'un filet (loupe Gx 4.5)



Figure17 : Androcée présentant trois stigmates Gx 4.5



Figure19 : Ovaire isolé Gx 4.5



Figure20 : Ovaire contenant des ovules Gx 4.5

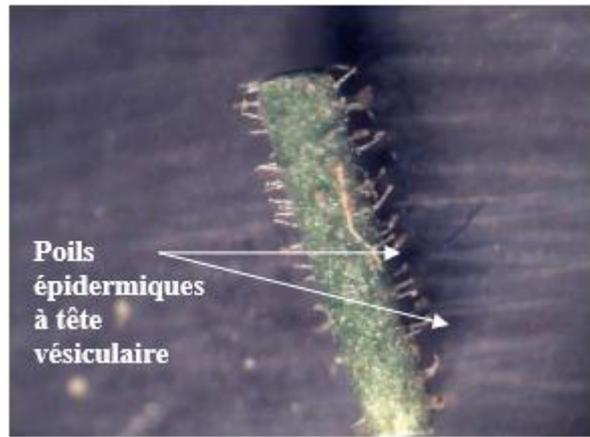


Figure21 : Vue d'une tige à la loupe Gx 4.5



Figure22 : Vue d'ensemble de l'*Arenaria rubra* L.

## 1.2. Etude microscopique

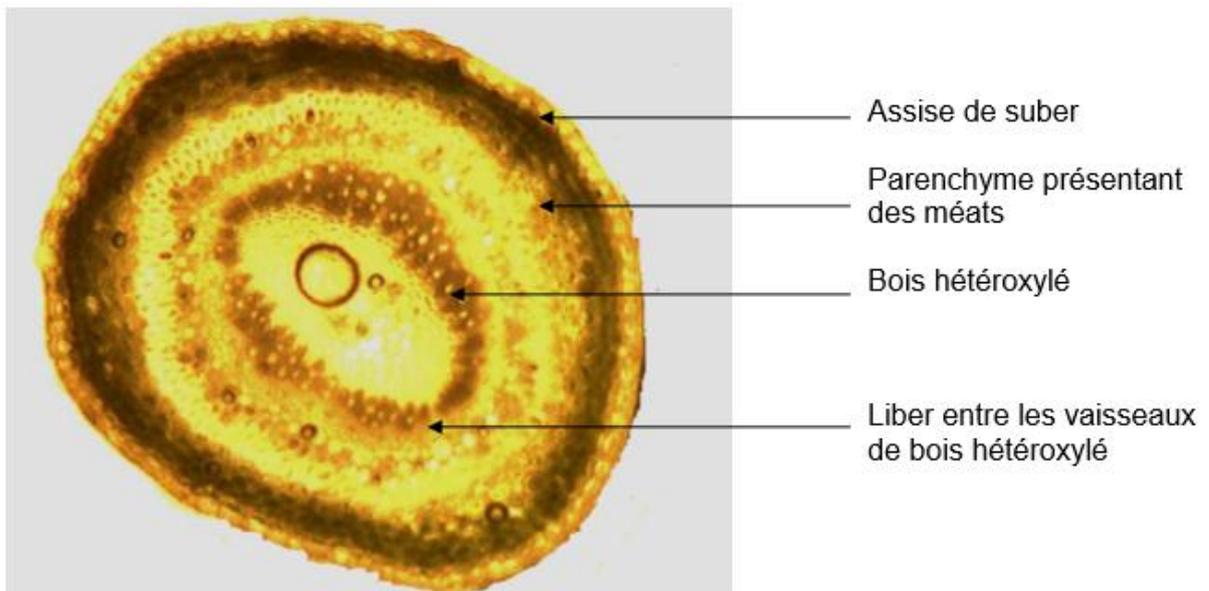
Afin de détecter ou de localiser des structures particulières, nous avons effectué des coupes minces et nous avons colorées. Nous avons obtenus les résultats sur :

### 1.2.1. Les racines

De la périphérie vers le centre on observe les tissus :

- Une couche de subérine.
- Un parenchyme à méat présentant de grandes lacunes
- Une particularité a attiré notre attention : cette racine présente des couches concentriques de bois entrecoupées de couches de liber (figure 23).

**Figure 23: coupe transversale de la racine Gx10 à l'état frais**



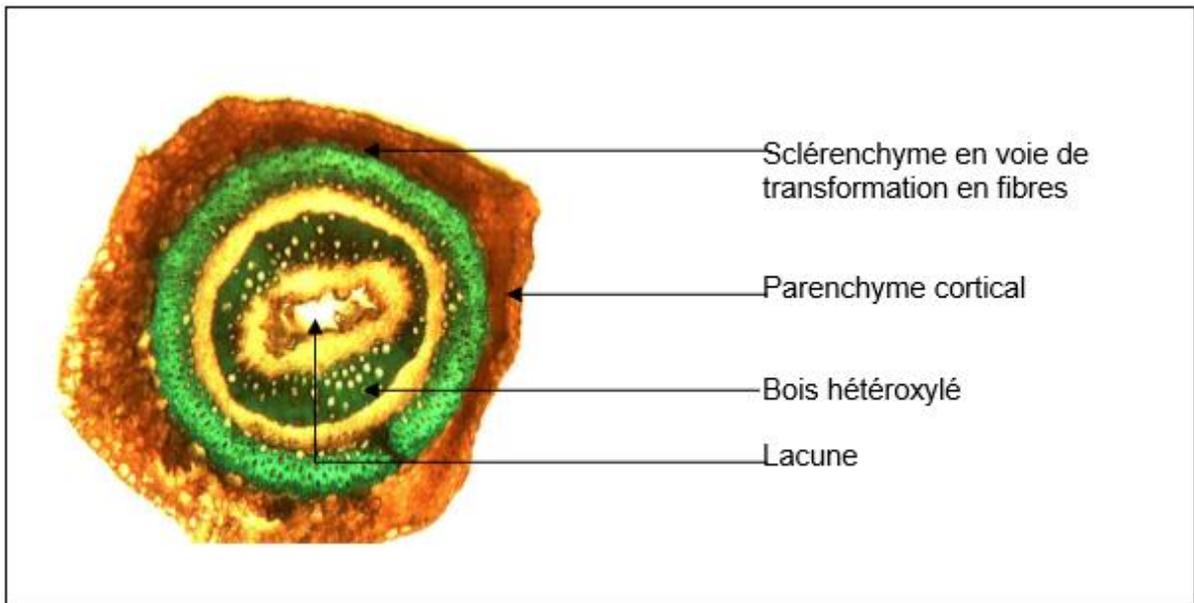
### 1.2.2. Les tiges

La tige se présente comme :

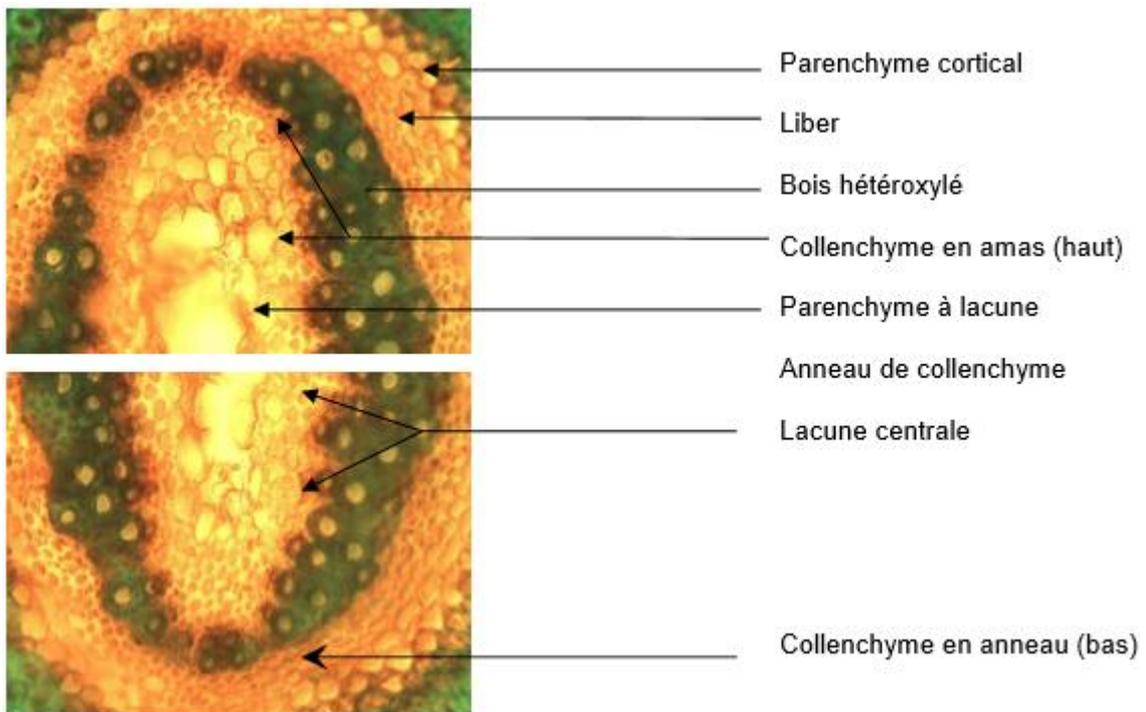
- Une cuticule striée (Figures 24) suivi d'un parenchyme cortical présentant des méats,
- du sclérenchyme en voie de transformation en fibres,
- du liber suivi de bois hétéroxylé.

Dans le cylindre central, nous remarquons la présence de petits îlots de collenchyme de part et d'autre d'une lacune centrale ainsi que tout autour, suivi d'un parenchyme

La présence de collenchyme dans le cylindre central est très inhabituelle. Ce tissu sert probablement de soutien pour le maintien de la lacune (Figure 25)



**Figure 24: coupe transversale de la tige Gx10 après double coloration (original)**



**Figure 25 : coupe transversale de la tige Gx40 après double coloration Zone centrale**

## 2. Résultat de l'étude phytochimique de l'*Arenaria rubra* L.

### 2.1. Détermination de la teneur en eau

Le matériel végétal a été lavé, pesé et séché à l'étuve ventilée à 60°C.

**Tableau I.** La teneur en eau de l'*Arenaria rubra* L.

Prise d'essai(g) J <sub>0</sub> (plante fraîche)	Pesée J <sub>1</sub> (24H) (g)	Pesée J <sub>2</sub> (48H) (g)	Pesée J <sub>3</sub> (72H) (g)	Teneur en Eau en % de Poids frais
10	7,3	4,7	4,2	58%

Une fois le poids constant obtenu, nous avons pu calculer la teneur de la plante en eau et nous avons obtenu une valeur de 58%. Ces résultats sont conformes à ceux rapportés par la pharmacopée européenne [Pharmacopée européenne, (1992), Paris, Moysse, (1976)].

## 2.2. Etude des principes actifs de l'*Arenaria rubra* L

### 2.2.1. Etude des composés volatils

#### A. Résultats de l'extraction de l'hydro-distillation

L'hydro-distillation a été réalisée afin d'extraire de la plante toutes les substances volatiles et particulièrement son huile essentielle.

Ce procédé nous a permis d'obtenir une huile essentielle dont les caractères organoleptiques de l'odeur, la couleur et l'aspect.

Tableau II. Caractères organoleptiques de l'huile essentielle de *l'Arenaria rubra* L.

	Les composés volatiles des feuilles et tiges de <i>Arenaria rubra</i> L.
Aspect	Liquide légèrement visqueux
Couleur	jaune clair
Odeur	très forte, pas très agréable, piquante, propre à la plante

Nous avons pu constater que l'odeur de l'huile a légèrement viré rappelant l'odeur du caramel malgré que l'huile essentielle ait été conservée dans un flacon hermétiquement fermé et à l'abri de la lumière. Nous n'avons pas pu trouver d'explication à ce phénomène. L'huile essentielle présente aussi la propriété d'être liquide, légèrement visqueuse aux températures ambiantes. Elle se solidifie légèrement dès que la température devient inférieure à 12°C

#### B. Analyse de l'huile essentielle par CG-MS

L'analyse de l'huile essentielle de *l'Arenaria rubra* L. Par CG-MS nous a permis d'obtenir les chromatogrammes suivant (Figure 26).

L'analyse de la composition chimique de la fraction volatile de *l'Arenaria rubra* L. révèle que cette dernière est composée essentiellement d'un mélange d'ester d'acides gras, d'alcane et de paraffine, indices permettant de dire que ce n'est pas une huile essentielle.

Ainsi, nous avons obtenu une fraction lipidique volatile qui a été entraînée par la vapeur d'eau, sachant qu'une huile essentielle est composée principalement de mono et de sesquiterpènes.

Nous pouvons alors conclure que *l'Arenaria rubra* L. ne contient pas d'essences aromatiques n'étant pas répertoriée comme plante aromatique mais diurétique.

L'analyse de la composition chimique de la fraction volatile de *Arenaria rubra L.* révèle qu'elle est composée essentiellement d'un mélange d'ester d'acides gras (diisooctylphthalate), butylatedhydroxytolune, comaran et d'erucylamide. Ainsi, nous avons obtenu une fraction lipidique volatile en utilisant l'hydro-distillation,

Selon (Bruneton, 1999) huiles essentielle est constituée de mono et sesquiterpènes. Ainsi, *Arenaria rubra L.* ne contient pas d'huiles essentielles. Les mêmes résultats ont été obtenus par KEBBAS 2009.

*Arenaria rubra L.* est considérée comme une plante qui présente un effet diurétique (VIDAL, 2007).

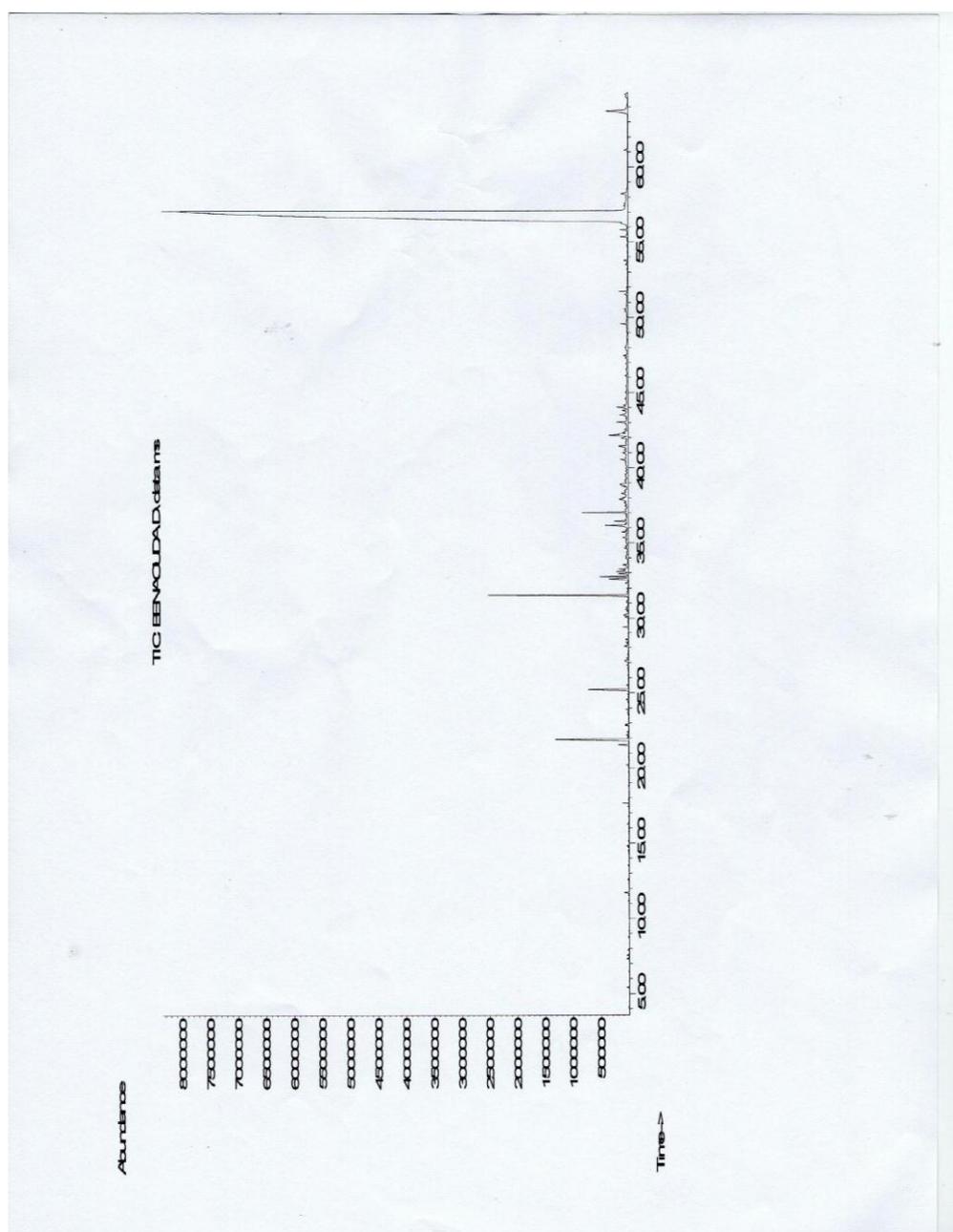


Figure 26. Chromatogramme de la fraction volatile de *l'arenaria rubra L.* extraite par l'hydrodistillation analysée par CG-MS.

Tableau III. La composition chimique de l'huile

N°	Temps de Retention	Taux de Presence	Composition chimique	Synonymes	Taux de reconnaissance
1	21.90	2.05	"Benzofuran, 2,3-dihydro-", "2-Methoxy-4-vinylphénol",	Coumaran p-Vinylguaiacol	72 91
2	25.21	0.92	"ButylatedHydroxytoluene",	BHT	97
3	31.53	3.53	"1-Methyl-1-(2-pentyl oxy)-1-silacyclopentane",	NA	43
4	32.58	0.46	2H-Benzocyclohepten-2-one, 3,4,4a,5,6,7,8,9-octahydro-4a-méthyl-, (S)-"	4a-Méthyl-3,4,4a,5,6,7,8,9-octahydro-2H-benzol[a]cyclohepten-2-one	50
5	32.75	0.64			
6	36.17	0.63	5-Hepten-3-yn-2-ol, 6-méthyl-5-(1-méthylethyl)-	5-Isopropyl-1-6-méthyl-1-5-hepten-3-yn-2-ol	50
7	36.46	0.25	3-Cyclohexen-1-carboxaldéhyde, 3,4-diméthyl-1-	NA	43
8	37.03	0.96	"2(5H)-Furanone, 4-méthyl-5-(2-méthyl-2-propenyl)-	Méthyl-3-(2-méthyl-2-propenyl)-2(5H)-furanone	47
9	42.16	0.22	4,4,8-Triméthyltricyclo[6.3.1.0(1,5)]dodécane-2,9-diol",	NA	99
10	57.03	89.14	1,2-Benzène dicarboxylique acid, diisooctyl ester",	Morflex 100 ou bien le Diisooctylphthalate ou bien le DIOP	91
11	63.72	1.04	13-Docosanamide, (Z)-"	Erucylamide	98

## 2.2.2. Étude des composés non volatiles apolaires et polaires

### A. Résultat de l'extraction au soxhlet

La teneur en substances non volatiles miscibles dans les solvants apolaires est de 5,78% pour la plante entière. Concernant les substances non volatiles miscibles dans les solvants polaires, la teneur est de 16,96% pour la plante entière (Figure 25).

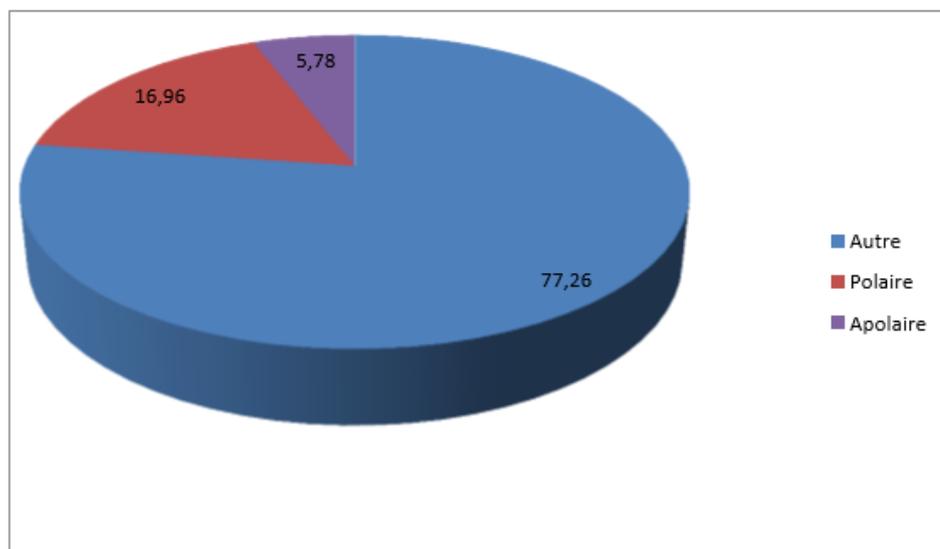


Figure 27. Teneur en substances polaires, apolaires et autres

### C.2. Analyse de la fraction polaire par CCM

Nous remarquons que nous n'avons pas pu obtenir une bonne séparation des composés. Ce résultat pourrait s'expliquer par le fait que les composés contenus dans la fraction méthanolique analysée ont des poids moléculaires très proches (Figure 28).

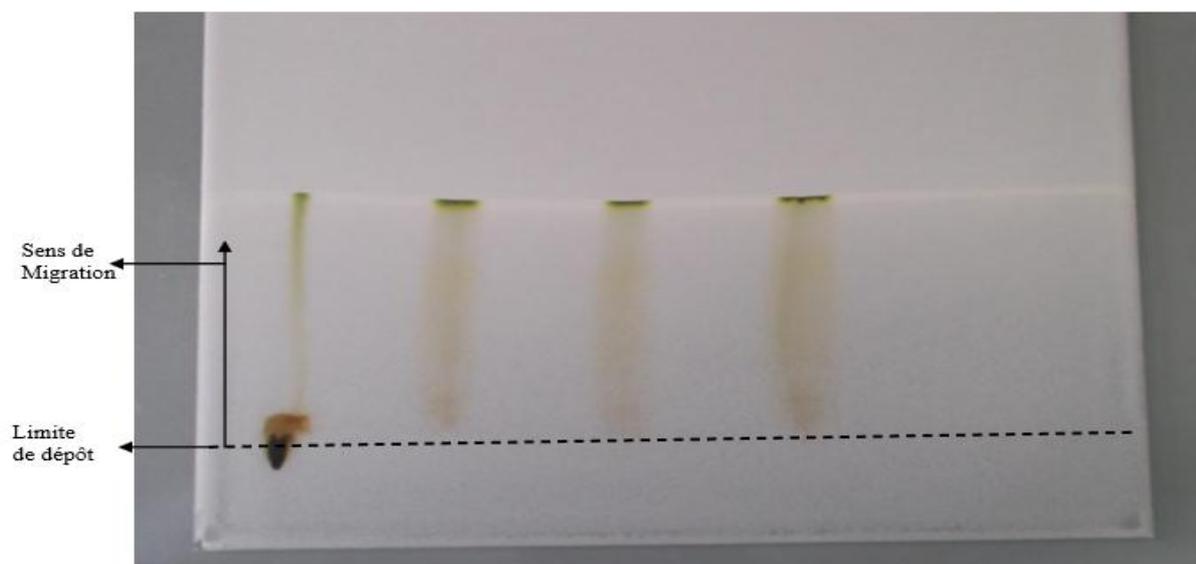
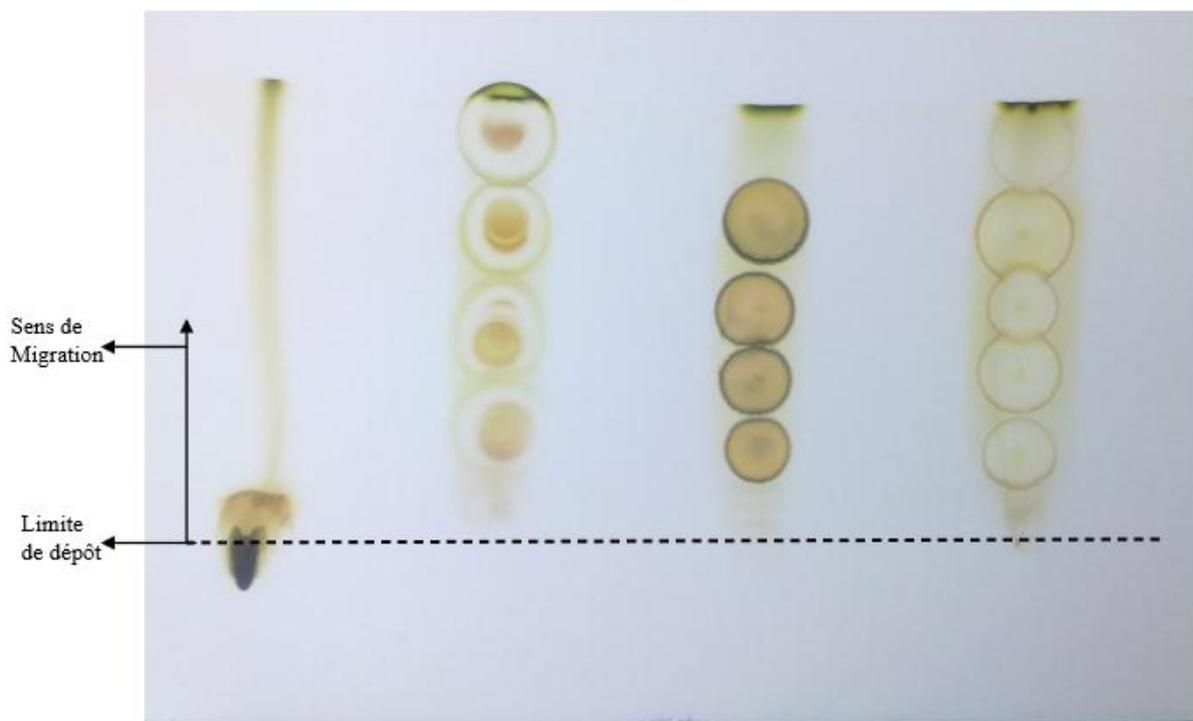


Figure 28. Migration de l'extrait méthanolique

Nous avons donc été dans l'obligation d'utiliser la CCM de manière qualitative pour vérifier la présence ou l'absence des composés actifs les plus répandus et qui seraient présents dans *Arenaria rubra* L. Après révélation par méthodes colorimétriques, nous avons obtenu les résultats suivants (Figure 29 et Tableau IV) :



**Figure 29. Plaques de CCM après révélation**

**Tableau IV:** Résultat de la révélation des plaques de CCM par colorants chimiques :

N° puits	Révéléateur	Famille de métabolite Recherché	Résultats	Interprétation
1	Le FeCl <sub>3</sub>	Tanins et acides Phénols	Taches noir brunâtre	+ pour <i>les tanins catéchiques</i>
2	Vapeur d'ammoniac	flavonoïdes	vertes	+ pour <i>les flavonoïdes</i>
3	La potasse Alcoolique	Coumarines	Vert Jaune	+ pour <i>les Coumarines</i>

Les résultats obtenus montrent la présence de composés phénoliques : tanins catéchiques (coloration noir brunâtre), flavonoïdes (coloration verte) et coumarines (taches jaunes verts) (Paris et Jacquemin, 1976).

Les flavonoïdes ont été observés aussi chez une espèce proche, *Spergularia purpurea* très répandue au Maroc. Cette plante aurait un effet hypotenseur et hypocholestérolémiant (Jouad et al. 2003).

### **2.2.3. Extraction de certains principes actifs de l'*Arenaria rubra L.***

#### **A. Extraction des saponines**

L'indice de mousse de la plante est de 50. Cette valeur montre qu'*Arenaria rubra L.* ne renferme pas de saponines. L'absence de saponines reste un caractère commun à de nombreux genres appartenant à la famille des Caryophyllacées (Jouad et al., 2001).

#### **B. Extraction des hétérosides flavoniques**

Nous avons déterminé la teneur des hétérosides flavoniques au niveau de l'*Arenaria rubra L.* de 1,48%, et cela après une extraction de ces derniers. Ce résultat est proche à celle de KEBBAS, (2009) qui est de 1,94%.

#### **C. Etudes des tanins**

La teneur en tanins dans *Arenaria rubra L.* est de 5,17%, celle-ci est élevée en comparaison avec *Spergularia rubra L.* qui contient 2,78% (KEBBAS, 2009).

#### **D. Etudes des alcaloïdes**

Aucune trace d'alcaloïdes n'a été détectée lors de test de dragendorff. Le même résultat a été obtenu dans l'étude de *Spergularia rubra L.* (KEBBAS, 2009).

### **3. Etude biologique**

L'étude biologique de l'*Arenaria rubra L.* comporte l'effet antibactérien de la plante, sa toxicité ainsi que son effet diurétique.

#### **3.1. Activité antimicrobienne**

Les effets antibactériens de l'huile essentiel, l'extrait méthanolique et la décoction de *Arenaria rubra L.* se sont révélées négatifs (Tableau V), bien que des aseptique et des indications pour les traitements des affections des vois urinaires ont été rapportés par Beloued, (2005).

Tableau V : L'effet antimicrobien de l'huile essentielle, l'extrait méthanolique et la décoction de l'*Arenaria rubra L.*

	Aromatogramme (mm)					
	H E		Extrait méthanolique		Décoction	
<i>E, coli</i>	/	/	11	10	10	10
<i>Serratia marcesens</i>	/	/	11	11	10	10
<i>Pseudomonas sp</i>	/	/	11	10	/	/
<i>Klebseilla pneumoniae</i>	/	/	/	10	/	10
<i>Citrobacter</i>	/	/	/	/	10	10
<i>Staphylococcus aureus</i>	/	/	/	/	/	/

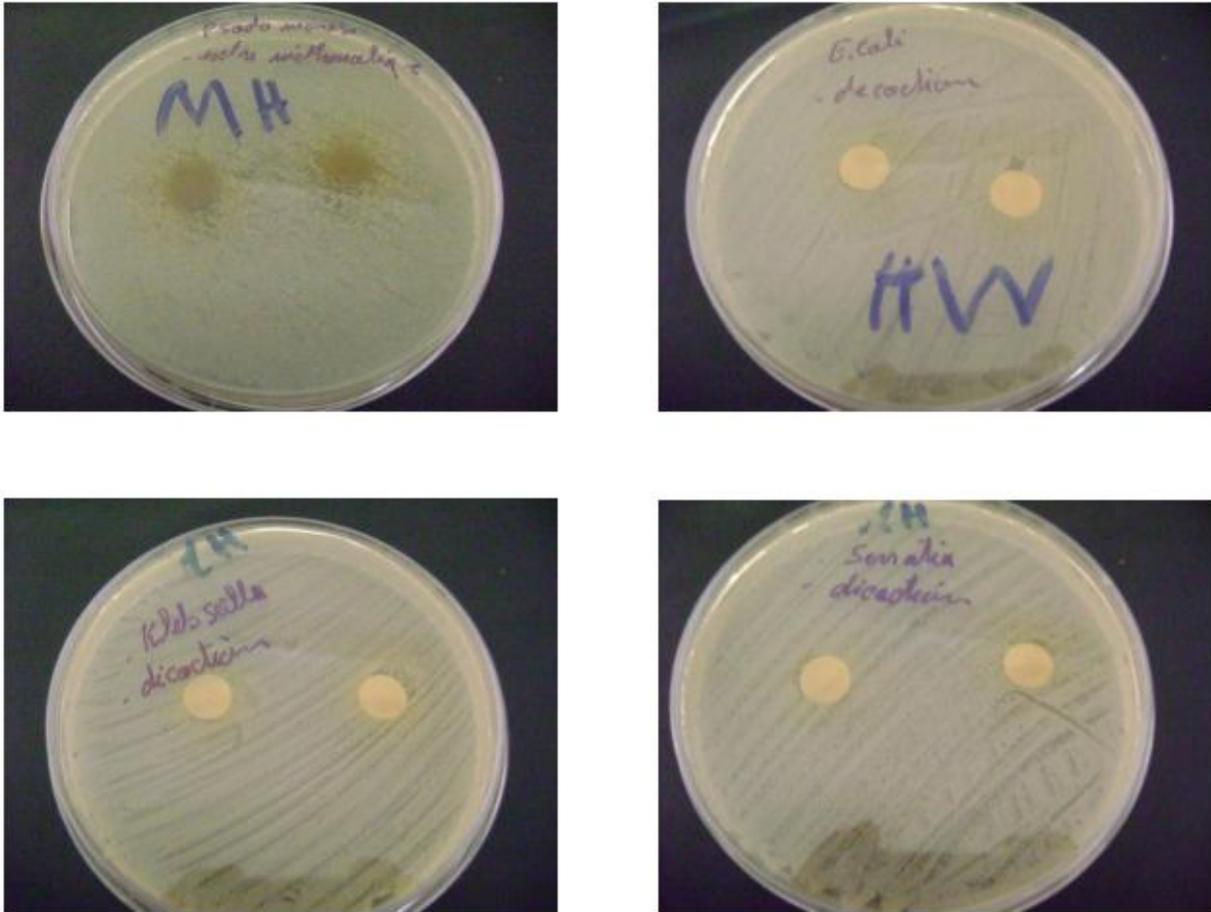


Figure 30. Résultats des incubations

Au terme de cette étude nous aboutissons à une conclusion aucun activité antimicrobienne n'est visible vu l'absence de zone d'inhibition (Figure 30).

### 3.2. Etude de la toxicité de l'*Arenaria rubra L*

La toxicité a été réalisée conformément à la pharmacopée européenne. Sur les trois lots de souris NMRI, nous n'avons observé aucune mortalité durant une période de 15 jours. Ainsi ces résultats nous permettent de dire que la décoction faite à base de l'*Arenaria rubra L*. ne présente aucune toxicité, le même résultat a été obtenu avec *Spergularia rubra L*. (KEBBAS. 2009).

### 3.3. Effet diurétique de l'*Arenaria rubra L*.

Vue de l'absence des cages métaboliques nous avons calculé les volumes d'eau consommés par les rats, durant les 4 les journées ouvrables de dimanche au jeudi.

### Les quatre lots de rats pendant quatre semaines

Après quatre semaines d'administration orale répétée d'extrait aqueux à des doses de 200 et 100 mg/Kg, nous avons remarqué une augmentation de la consommation d'eau. Pour la dose 100 mg de poudre végétal/Kg, l'eau consommée passe de 80 à 100 ml durant 24h. Pour les doses 200mg/ml, la consommation d'eau passe de 70 à 90 ml durant 24h (figure 31).

On remarque que le volume d'eau consommé chez les rats traité par la dose 100mg de poudre végétal /kg est plus important que celui observé par les rats traités avec 200mg de poudre végétal /kg

Il semble que l'augmentation de la consommation de l'eau pour la dose 100mg de poudre végétal /kg est proche de celle provoquée par le Furosale®.

Durant les 4 semaines de traitement au Furosale® la consommation de l'eau moyenne est pratiquement la même chaque semaines. Néanmoins, la consommation de l'extrait aqueux pour 100 mg de poudre végétal/Kg fait augmenter la consommation de l'eau durant les trois premières semaines. Au delà et jusqu'à la 4eme semaine la consommation de l'eau semble se stabilise (Figure 30).

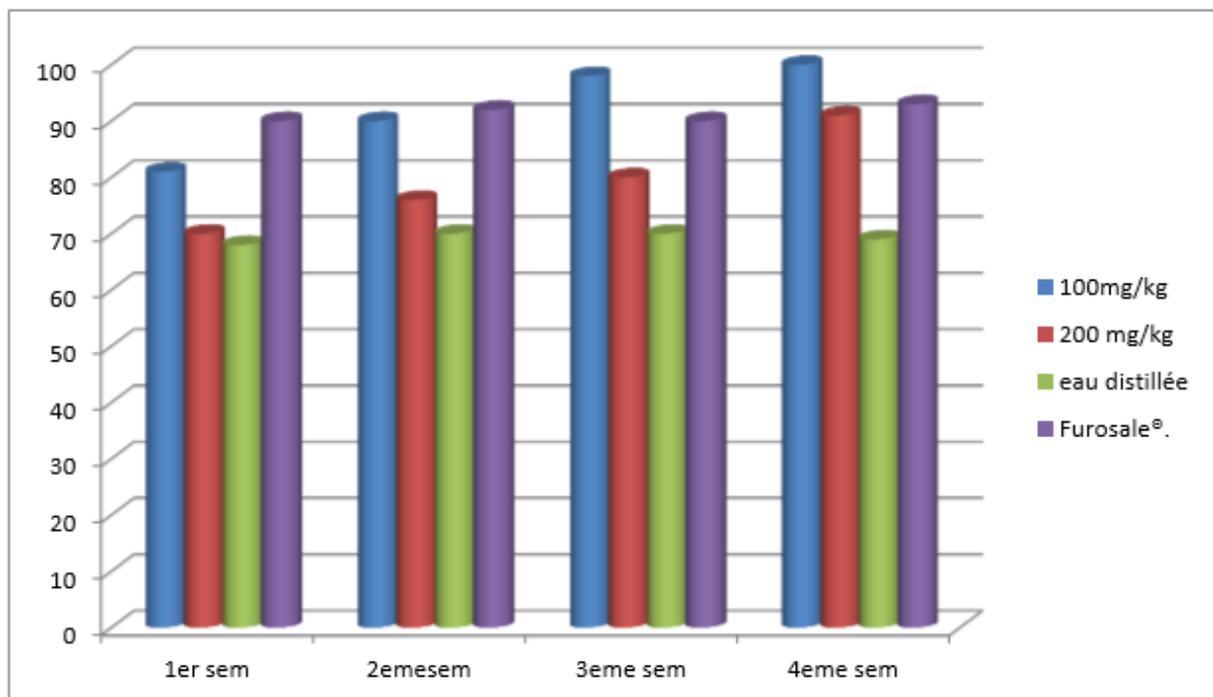


Figure 31. L'Effet de la décoction de *Arenaria rubra* L. sur la consommation de l'eau chez

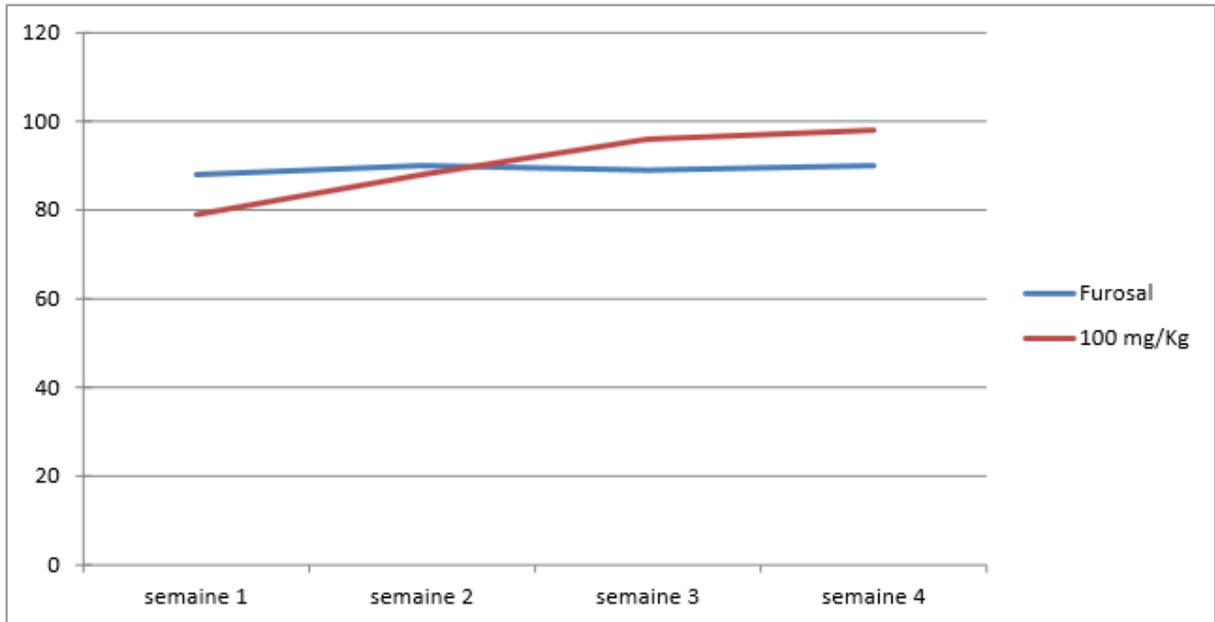


Figure 32: Comparaison de l'effet du Furosale® et de l'extrait aqueux de l'*Arenaria rubra L* (100mg de poudre végétal /kg) sur la consommation d'eau pendant 4 semaines.

Ces résultats sont similaires à ceux obtenus pour des espèces proches de l'*Arenaria rubra L* *Spergularia rubra L.* et *Spergularia purpura L.* [KEBBAS, (2009) Jouad et al., (2001)].

## Conclusion

Notre étude a porté sur une plante médicinale connue scientifiquement sous le nom de l'*Arenaria rubra L.* En Algérie on l'appelle Fatat el Hdjar. Ce travail avait pour objectif de déterminer la composition chimique de cette plante et d'étudier certains effets éventuellement thérapeutiques.

Les coupes histologiques réalisées au niveau des racines et des tiges n'ont pas été concluantes car, nous n'avons pas pu observer les sites sécréteurs.

Il se pourrait que ces organes en soient dépourvus. Toutefois, il serait souhaitable de faire une étude des feuilles pour tirer une meilleure conclusion.

L'extraction de l'huile essentielle à l'aide d'un hydro-distillateur puis nous avons identifié sa composition chimique en utilisant la technique de la CGMS.

La fraction polaire a été extraite à l'aide d'un Soxhlet. La chromatographie sur couche mince n'a pas pu mettre en évidence les métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les tanins et les coumarines.

Ce résultat nous a conduits à utiliser une méthode colorimétrique, qui a révélé séparément la présence de flavonoïde à 1,48% et les tanins à 5,17%.

*Arenaria rubra L.* n'a aucune activité antimicrobienne sur les souches testées dont :

*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas sp*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus*, *Citrobacter*

La plante ne présente aucun effet toxique même à des concentrations élevées. L'effet diurétique de la plante est similaire à celui provoqué par le Furosémide®. Au terme de ce travail, il serait intéressant d'approfondir nos connaissances et d'étudier dans de meilleures conditions cette plante afin de mettre en évidence ses vertus thérapeutiques.

## Références

1. « Nouveau dictionnaire de médecine et de chirurgie pratique » Tome quatrième, Librairie Baillière et fils, Paris, 1886, pp. 56-58.
2. Amar, Z. « Ibn al-Baytar and the study of the plants of Al-Sham » Journal Qatedrah letôldôtEresYísra'el el we-yîššûbah, no76, 1995, pp. 49-76.
3. Amrani O. « Valeur nutritive du Chardon marie (*silybummarianum*) » Mémoire de magistère agronomie, université de batna, 2006.
4. Andon.R et Bernard. M, « plantes thérapeutique ». 3eme édition, ed Tech et doc. Paris, 2003:692p.
5. Attele, A.S., Wu, J.A., Yuan, C.S. « Ginseng pharmacology. Multiple constituents and multiple actions ». Biochem. Pharmacol. 58, 1999,1685– 1693.
6. Baba Aissa F. « Encyclopédie des plantes utiles ». Ruiba :Librairiemoderne, 1999 :368p.
7. Baba Aissa, F. « Encyclopédie des plantes utiles ( Flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique, d'orient et d'occident) », Edition EDAS-Librairie Modernes- Rouiba, 2000, p. 97.
8. Balas, L., Vercauteren, J. « Extensive high resolution reverse 2D NMR analysis allows structural elucidation of procyanidin oligomers. »Magazin of Research in Chemistry.vol33, 1994, pp. 386–393.
9. Bauer, S.W., Kirby, W.M., Sherris, J.C., Thurck, M., « Antibiotic susceptibility testing by standardized single disc method. » American Journal of Pathology., vol 45, 1966, pp. 493-6110.
10. Beloued A. «Plantes médicinales d'Algérie ». Edition 2005.284pp. P190-191.
11. Borgi, W., Recio, M.C, Ríos J.L., Chouchane, N. « Anti-inflammatory and analgesic activities of flavonoid and saponin fractions from *Zizyphus lotus* (L.) Lam. ». South African Journal of Botany, 2007.
12. Bouchelta, A., Boughdad, A., Blenzar, A. « Effets biocides des alcaloïdes, des saponines et des flavonoïdes extraits de *Capsicumfrutescens* L.(Solanaceae) sur *Bemisiatabaci*(Gennadius) (Homoptera :Aleyrodidae) » *Biotechnologie et Agronomie. Soc. Environ.*, 2005, N° 9 (4), pp.259–269.
13. Boullard, B. « Plantes médicinales du monde Réalités & Croyances » Edition Estem, 2001, p. 497.

14. Bouquet, A. et Paris, R. « Note sur le *Dionchqbyllumtholloniibaill.* »,Plantes médicinales et phytothérapie, Tome I, no 4, 1967, pp. 214-220.

Bruneton J. « Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales ». 2eme édition, ed Tech et doc. Paris, 1993:895p. 58 Bruneton, J. « Pharmacognosy: phytochemistry and medicinal plants » Edition Lavoisier, 1999, 1119 pp.

15. Carillon, E. « Phytothérapie : Mode d'emploi » ; <http://sfpa.club.fr/phyto2000.html>, 2000

16. Cecchini, T. et Ticli, B. « Encyclopédie des plantes médicinales » Edition De VECCHI. Paris, 2003, 351 pp.142

17. Chandler RF. « Canadian pharmaceutical journal ». 1985:118-420-424.

18. Chebaki R. « étude phytochimique de *Scrophulariasaharae*(deserti.Coss) » Mémoire de magistère en chimie, université de Batna.,2006, p 46.

19. Cooper Driver, A.G. “Contribution of Jeffery Harborne and coworkers to the study of anthocyanins”, Phytochemistry, N° 56, 2001 , pp.229-236

20. D'Anglade, S., Vivant A.C., 2006  
<http://quasimodo.versailles.inra.fr/inapg/reactdef/const/metsecon.htm>

21. Documents de référence - Histoire et art pharmaceutique, 1996, 2pp.

22. Dohou, N., Yamni, K., Tahrouch, S., Idrissi Hassani, L.M.,( 3 ) ,Badoc, Gmira , N. « Screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine, *Thymelaelythroïdes* » Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, vol. 142, 2003, , pp. 61-78.

23. Duraffourd, C. Lapraz J.C. « Traité de phytothérapie, clinique endobiogénie et médecine, » Masson, Paris, 2002, 827pp.

24. Fouché J.G., Marquet A., Hambuckers A. « Les plantes médicinales de la plante au médicament conception et réalisation », Exposition à l'Observatoire du Monde des Plantes Sart-Tilman, Liège, Septembre 2000.

25. Goodwin TW, Academic Press Londres, 1988, p.229-313.

26. Guignard, J.-L. « *Biochimie végétale* ». Masson, Paris, 1996, 255 p.

27. Hall, J.H. « Dictionnaire of American Régional English » Harvard University Press, 2002, p.1040

28. Harborne, J.B., “The flavonoïds : recent advances” , in “plant piment” ,

29. Harborne, J.B., « Phytochemical methods, a guide to moderne technics of plants analysis » Ed. Chapman and Hall, London, 1973, p.227.
30. Haslam, E. « Practical polyphenolics: from structure to molecular recognition and physiological action. » Cambridge University Press, Cambridge, New York, Melbourne, 1998.
31. Haslam, E. « Secondary metabolism – evolution and function; products or processes » Chemoecology, vol. 5 (6), 1995, pp. 89–95. 59
32. Haslam, E. « Shikimic acid, metabolism and metabolits », John W., Sons Edition, 1993.
33. Haslam, E. « Symmetry and promiscuity in proanthocyanidin biochemistry. » Phytochemistry, Vol. 16, 1977, pp.1625–1640.
34. Haslam, E. « Vegetable tanins – Lessons of a phytochemical lifetime » Phytochemistry Vol.68, 2007, pp. 2713–2721
35. Hostettmann, K., Marston, A. “Saponins. Chemistry and pharmacology of natural products”. Cambridge University Press, Cambridge, isbn-10: 0521020174, 2005.
36. [http://fr.wikipedia.org/wiki/Image:Soxhlet\\_extractor.png](http://fr.wikipedia.org/wiki/Image:Soxhlet_extractor.png)
37. [http://www.dijon.inra.fr/bga/hyppa/hyppa-f/spbru\\_fh.htm](http://www.dijon.inra.fr/bga/hyppa/hyppa-f/spbru_fh.htm).
38. Joslyn, M.A., Goldstein, J.L., “Astringency of fruits and fruit products in relation to phenolic content”. Adv. Food Res. 13, 1964, pp. 179–217.
39. Judd, W.S. , Bouharmont, J., Campbell, C.S., Évrard, C.M., Kellogg, E. A., Stevens, P. « Botanique systématique : Une perspective phylogénétique » Edition De Boeck Université, 2002, p.240 ,488 pages
40. Judd, W.S., Bouharmont, J., Campbell, C.S., Évrard, C.M., Kellogg, E. A., Stevens, P. « Botanique systématique : Une perspective phylogénétique » Edition De Boeck Université, 2002, p.240 ,467 pages.
41. Kassel, D. « Des hommes et des plantes », <http://www.ordre.pharmacien.fr>
42. Keller-Didier, C. « Les plantes médicinales » ALS, 2004, pp. 57-64.
43. Krief, S. « Métabolites secondaires des plantes et comportement animal :
44. Lasztity, R., Hidvegi, M., Bata, A. “Saponins in food”. Food Rev.Int. 14, 1998, pp. 371–390.
45. Le Maire, R. « Encyclopédie biologique flore de l’Afrique du nord » Edition Paul Lechevalier, Paris, 1963, pp 119-124.

46. Linard, A., Jacquemin, H., et Paris, R. « plantes malgaches n° XXI sur les flavonoïdes du *Xyrissemifuscata* (Xyriadacées) » *Plantes médicinales et phytothérapie*, Tome X, n°4, 1976, pp. 267-275
47. Lonchamp, J.P., Unité de Malherbologie & Agronomie INRA. Dijon, 2000
48. Macrocompartmentation of total creatine in cardiomyocytes revisited. *Molecular and cellular Biochemistry*. 220, 149-159.
49. Maghami P. « Culture et cueillette des plantes médicinales ». Hachette. 1979 :217p.
50. Mahmoudi, Y. « La thérapeutique par les plantes communes en Algérie » Edition Palais du livre de Blida, 1990, p.80
51. Mahmoudi, Y. « La thérapeutique par les plantes communes en Algérie » Edition Palais du livre de Blida, 1990, p.80
52. Matsuura., 2001. Saponins in garlic as modifiers of the risk of cardiovascular disease. *Journal of nutrition*. 131, 1000S-1005S.
53. Mengoni F, Lischtnerattinelli L, Marzi M, Mastroianni CM, Vullo V and Mzzanti G., 2002- In vitro anti-HIV activity of oleanolic acid on infected human monoclear cells. *PlantaMedica* 68, 111-114.
54. Menin L, Panchichkina M, Keriel C, Olivares J, Branu U, Seppert EK and Sakas VA. 2001-
55. Morrissey JP et Osbourn AE. « Fungal resistance to plantes antibiotics as a mechanism of pathogenesis ». *Microbiological and Molecular Biological Reviews*, 1999.
56. Moyse, H. « Précis de matière médicale ; Pharmacognosie générale, Pharmacognosie spéciale: Schizophytes (bactéries) – Actinomyocétales – Thallophytes, ptéridophyte – spermaphytes » Edition Masson, 1976.
57. Nivsarkar M., N. Shrivastava, M. Patal, Padh H., C. Bapu. *Membran.*, 2002- Sperm modulation by *Sapindus mukorossi* during maturation. *Asian J. Androl.* 4, 233-235.
58. Oda, K., Matsuda, H., Murakami, T., Katayama, S., Ohgitani, T., Yoshikawa, M. « Adjuvant and haemolytic activities of 47 saponins derived from medicinal and food plants. » *Biology Chemistry*. 2000, pp. 381, 67-74.
59. Oleszek, W., Bialy, Z. « Chromatographic determination of plant saponins—an update (2002–2005) », *Journal of Chromatography A*, 1112, 2006, pp. 78–91
60. Oleszek, W.A. « Chromatographic determination of plant saponins. » *Journal of Chromatography. A* 967, 2002, pp. 147–162.
61. Paolini, J., Leandri, C., Desjobert, J.M., Barboni, T. and Costa, J. « Comparison of liquid–liquid extraction with headspace methods for the characterization of volatile

fractions of commercial hydrolats from typically Mediterranean species » *Journal of Chromatography A*, N°1193,2008, pp. 37–49.

62. Paris, R.R., Moyses, H. « Précis de matière médicale ; Pharmacognosie générale, Pharmacognosie spéciale : Schizophytes (bactéries) – Actinomycétales – Thallophytes, ptéridophyte – spermaphytes » Edition Masson, 1976.
63. Paris, R.R., Moyses, H. « Précis de matière médicale ; Pharmacognosie générale, Pharmacognosie spéciale : Schizophytes (bactéries) – Actinomycétales – Thallophytes, ptéridophyte – spermaphytes » Edition Masson, 1976
64. Paul Ozenda. « Fleurs du Sahara » Edition de CNRS, 1977,622pp, P206.209.
65. Petit PR,Savaire Y, Ponsin G, Manteghetti M, Fave A and Ribes G ., 1993- Effects of fenugreek seed extract on feeding behaviour in the rat : metabolic endocrine correlates. *Pharmacology Biochemistry and Behaviour*.45, 369-374.
66. Petit, P.R., Sauvaire, Y.D., Hillaire-Buys, D.M., Leconte, O.M., Baissac, Y.G., Ponsin, G.R., Ribes, G.R. « Steroid saponins from fenugreek seeds: extraction, purification, and 61 pharmacological investigation on feeding behaviour and plasma cholesterol. » *Steroids* 60, 1995, pp. 674–680.
67. Pharmacopée européenne, 2<sup>o</sup> Edition, , Paris. 1 999
68. Plock A, Sokolowska-Kohler W and Prescher W., 2001- Application of flow cytometry and microscopical methods to characterize the effect of herbal drugs on *Leishmania* spp. *Experimental Parasitology*. 97, 141-153.
69. Porter, L.J. « Flavans and proanthocyanidins ». In: Harborne, J.B. *The Flavonoids: Advances in Research Since 1980*. Chapman and Hall, London, 1988, pp. 21–62.
70. Porter, L.J. « Tannins ». In: Harborne, J.B. (Ed.), *Methods in Plant Biochemistry, Plant Phenolics* », Vol. 1. Academic Press, London and New York, 1989, pp. 389–419.
71. Potter SM, Jimenez-Flores R, Pollack J,Lone TA and Berber-Jimenez MD., 1993- Protein saponin interaction and its influence on blood lipids. *Journal of agricultural and food Chemistry*, 41,1287-1291.
72. Quezel, R. et Santa, S. « Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques Méridionales » Tome, Edition Centre National de la Recherche Scientifique, 1962 pp 322-325.
73. Rudakewich M, Ba F and Benischin CG., 2001- Neurotrophic and neuroprotective actions of Ginsenosides Rb (1) and Rg (1). *Planta Medica*. 67, 533-537.
74. Sanogo R., Diallo D., Diarra S., Ekoumou C., Bougoudogo F. « Activité antibactérienne et antalgique de deux recettes traditionnelles utilisées dans le

traitement des infections urinaires et la cystite au mali. Ed. Mali Médical, T XXI N° 1, 2006, pp. 18-23

75. Schauembry P. « Guide des plantes médicinales : Analyse, description et utilisation de 400 plants ». Delachaux et Niestle, 3eme édition. 1977 :396p.
76. Schmidt, O.Th., Mayer, W. « Natu" rlichegerbstoffe ». AngewandteChemie 68, 1956, pp.103–115.
77. Sparg, S.G., Light, M.E., van Staden, J. “Biological activities and distribution of plant saponins.” J. Ethnopharmacol. 94, 2004, pp. 219–243.
78. Staprns I, Rapp JH, Pan XM, Kim KY and Feingold KR. « oxidized lipids in the diet are a source of oxidized lipids chylomicrons of human serum. Arteriosderois and Thrombosis, 14. 1994.
79. Surveillance sanitaire et observations de l'alimentation de chimpanzés (pantroglodytesschweinfurthii) en Ouganda, activités biologiques et étude chimique de plantes consommées » Thèse de Doctorat du Muséum d'Histoire Naturelle, Septembre 2003.
80. Tahrouch, S., Rapior, S., Mondolt-Cosson, L., Idrissi-Hassani, L.A.,Bessière J.M., Andray, C. « *Peganumharmala*: source combinéed'arome et de colorant » Review in Biology and Biotechnology by the Maroccan Society of Biology in Canada, vol 2, n°2, 2002, pp. 33-37 “Wikipedia, encyclopédie en ligne”
81. Temani, Y. « La sabeline rouge, *Arenaria rubra* L. « Fettat lahdjar » », Quotidien El Watan, Rubrique Santé, 12 mars 2006.
82. Teuscher, E., Anton, R., Labstein, A., « Plantes aromatiques, épices, aromates et huiles essentielles », Ed. Tec &Doc, Lavoisier 2005, 522 pp
83. Togola, A., « étude de la phytochimie et de l'activite antipaludique de *alchorneacordifoliaschmach*.(euphorbiaceae ) », These de doctorat en pharmacie, Université de Bamako, 2002
84. Uematsu, Y., Hirata, K., Saito, K. « Spectrophotometric determination of saponin in Yucca extract used as food additive. » Journal of AOAC Int; 2000, pp.83, 14 51–1454.
85. Valnet, J. « Traitement des maladies par les plantes » 6° édition, Edition MALOINE, 1992.
86. Vanney JR. « La terre ». Pris 6e Larousse. 1983 :298p.
87. Verdrager J. « ces médicaments qui nous viennent des plantes ». maloine S.A, 1978 :164p
88. Volàk J et Stodola J. « Plantes médicinales ». Paris, Grund, 1983 :298p.

89. Weinges, K., Bahr, W., Ebert, W., Goritz, K., Marx, H.-D. « Konstitutionenstehung und bedeutung der flavonoid-gerbstoffe. »FortschritChemestry. Organic Natural, vol. 27, 1969, pp.158–260.
90. Weinges, K., Marx, H.-D., Kaltenhauser, W., Nader, E., Nader, F.,Perner, J., Seiler, D. “Procyanidineausfru“chten.” LiebigsAnnals vol.711, 1968, pp. 184–204.
91. Wichtl M. et Anton R. « Plantes Thérapeutiques : tradition, pratiques officinales » Tec & Doc, 2003, 692 pp.
92. Wolff et Norooz-zadeh., 1996),-UK consumption of dietary lipid hydroperoxides- apossible contributory factor to atherosclerosis. Atherosclerosis. Hypothesis. 119 ,261,-263 .
93. Wyler, H. « Introduction au laboratoire de chimie organique » Université de Lausanne, 1991.

## Annexe



**Balance de précision**



**Appareil CG-MS**