

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



UNIVERSITÉ SAAD DAHLEB BLIDA 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la vie

Département de Biotechnologie Agro-Ecologie

Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Spécialité : Biotechnologie et Valorisation des Plantes

Thème

Étude phytochimique et évaluation des activités antibactériennes et antifongiques des deux plantes médicinales :
Hibiscus Sabdariffa L et Atriplex Halimus L

Présenté par :

Boukaada Hadil

Mekaoui Asma

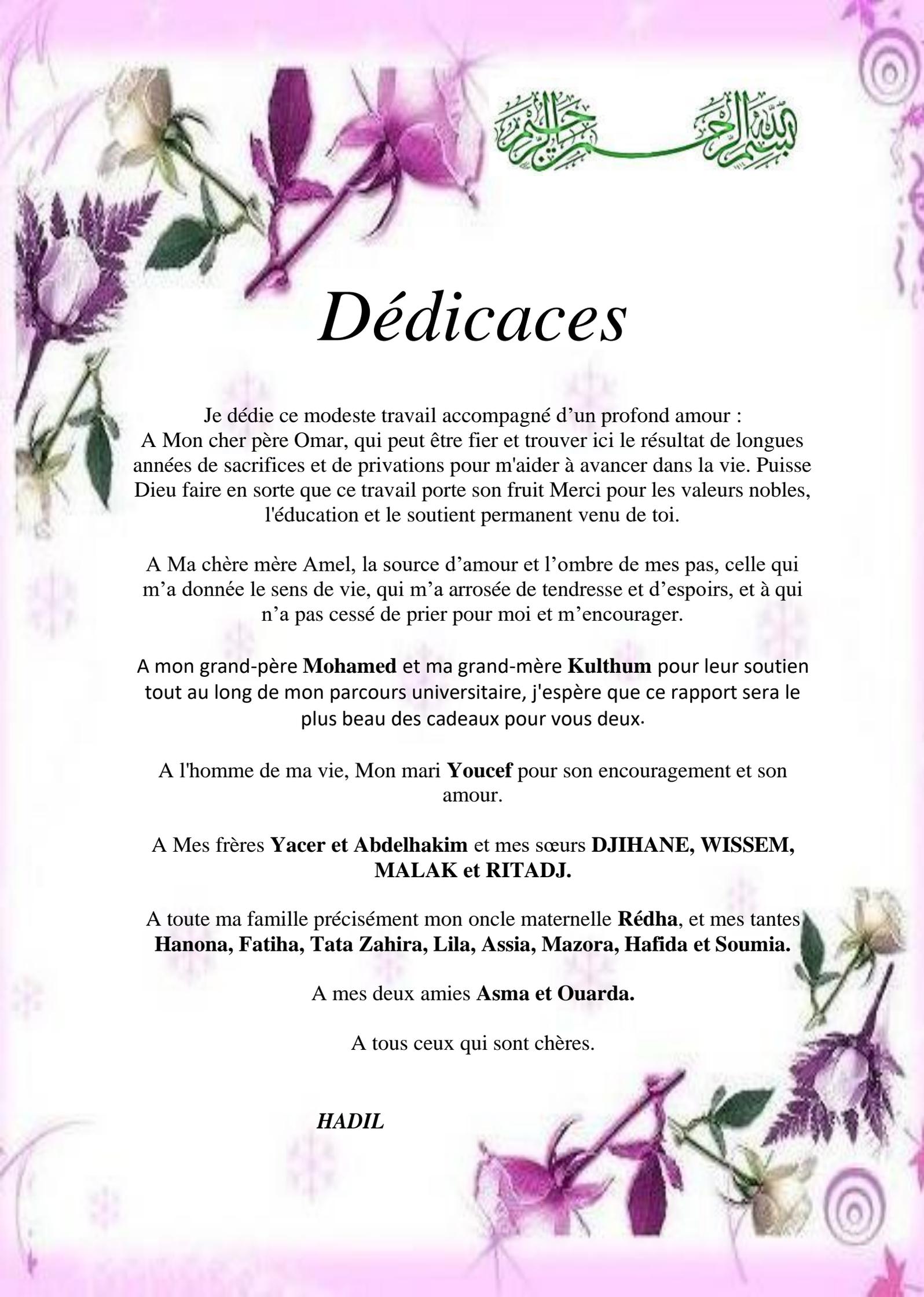
Bennour Ouarda

Devant le jury composé de :

Président :	Mr Abbad M	M.C.A	Université Blida -1-
Examinatrice :	Mme Ghanai R	M.C.B	Université Blida -1-
Promoteur :	Mr Bendali A	M.A.A	Université Blida -1-

Année universitaire : 2021/2022

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail accompagné d'un profond amour :

A Mon cher père Omar, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.

A Ma chère mère Amel, la source d'amour et l'ombre de mes pas, celle qui m'a donnée le sens de vie, qui m'a arrosée de tendresse et d'espairs, et à qui n'a pas cessé de prier pour moi et m'encourager.

A mon grand-père **Mohamed** et ma grand-mère **Kulthum** pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire, j'espère que ce rapport sera le plus beau des cadeaux pour vous deux.

A l'homme de ma vie, Mon mari **Youcef** pour son encouragement et son amour.

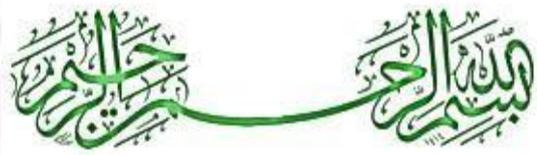
A Mes frères **Yacer et Abdelhakim** et mes sœurs **DJIHANE, WISSEM, MALAK et RITADJ.**

A toute ma famille précisément mon oncle maternelle **Rédha**, et mes tantes **Hanona, Fatiha, Tata Zahira, Lila, Assia, Mazora, Hafida et Soumia.**

A mes deux amies **Asma et Ouarda.**

A tous ceux qui sont chères.

HADIL



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail de fin d'étude :

A ma mère qui m'as donné la vie, la tendresse et le courage pour réussir et qui n'a pas cessé de prier pour moi. Je te remercie pour tes sacrifices et l'affection dont tu m'as toujours entourée. Que Dieu tout puissant te protège et te garde pour nous.

A mon père : Tous les mots ne sauraient exprimer ma gratitude et ma Reconnaissance, pour ton dévouement et tes sacrifices. Tu as toujours été à mes côtés pour me soutenir et m'épauler. Que Dieu te préserve et te procure santé et longue vie inchallah.

A ma chère grand-mère, Je prie Dieu de te protéger et de te garder pour nous.

A mes sœurs et mes frères **Soumia, Selma, Oussama et Mohamed**, je n'oublierai jamais votre encouragement et sacrifice pour moi.

A Mes amies **Hadil, Asma, Imen, Amel, Chaima, Yasmin et Safa** et mes cousines **Asma, Rania, Hadjer, Ferial, Lobena, Imene et Khawela** Je vous souhaite une vie plein Du succès.

À tous ceux qui aiment la science.

OUARDA



Dédicaces

Merci le grand dieu de m'avoir donné la santé, le courage et la capacité de déterminé ce travail et de me donner la patience d'aller jusqu'au bout.

A l'âme de mon père immaculé, «رحمة الله عليه», que j'ai toujours souhaité son existence et sa joie à moi avec ce succès.

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur **Maman** que j'adore.

A mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, mon frère : **Abd Elrahmane**.

Aux personnes dont j'ai bien aimé la présence dans ce jour, la délicieuse du ma vie à tous mes sœurs : **Zahra, Somaia et Ahlem**.

A l'homme de ma vie, mon cher mari : **Nabil** et sa famille.

A mon amie d'enfance qui s'est toujours distinguée par la fidélité et la fraternité : **Safa**.

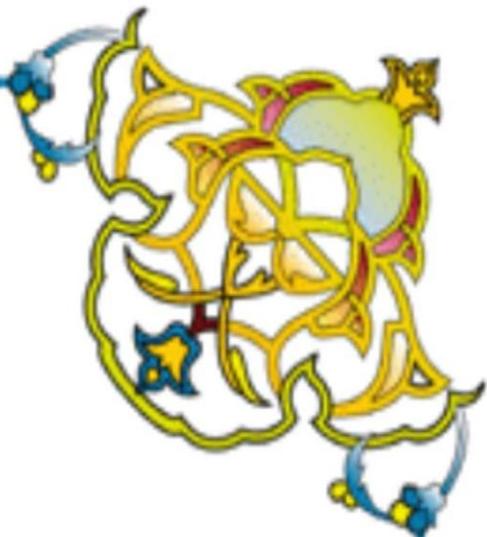
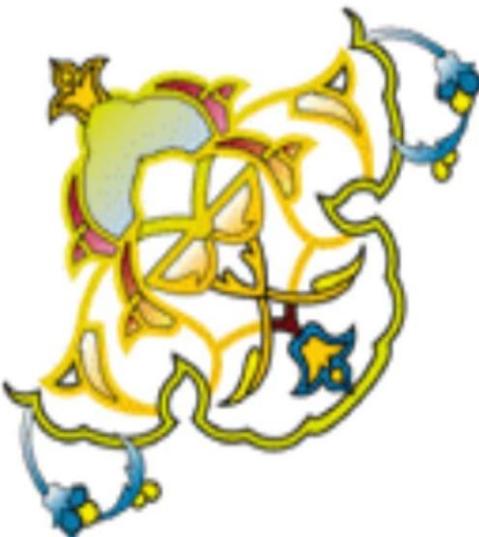
Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient toujours à mes côtés, et qui me prend l'adorable sœurs de cœur :

Ouarda et Hadil .

A mes aimables amies, Collègues d'étude, et mes copines **Ihcane et Amina**.

A tous ceux qui ont oublié la plume et sauvé le cœur.

Asma



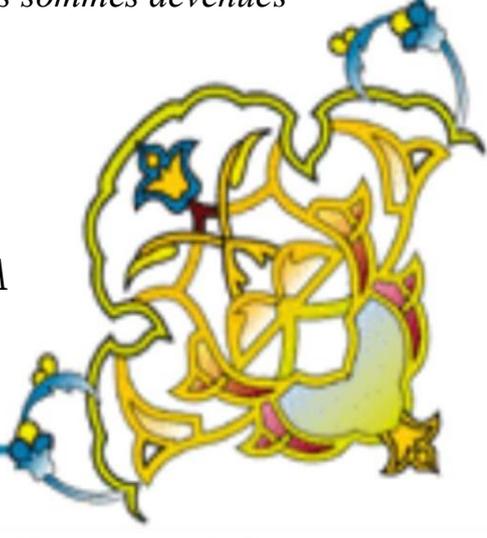
Remerciement

*Nous profitons par le biais de ce rapport pour exprimer nos vifs remerciements premièrement à **Allah** tout puissant de nous avoir donné le courage, la force et la volonté pour la réalisation de ce mémoire.*

*Nous exprimons nos remerciements les plus sincères à notre promoteur **Mr Bendali Abdelaziz** pour avoir accepté de nous encadrer, et son critique exigence, la confiance et le soutien qu'il a accordé jusqu'à la fin de notre travail.*

*Nous tenons également à remercier les membres du jury : **Mr Abbad Et Mme Ghanai**, d'avoir accordé de leur temps précieux pour examiner notre travail, nous espérons qu'ils en soient satisfaits.*

Nous remercions aussi nos familles respectives pour leur soutien, présence et sacrifices qu'ils ont dû faire de nous ce que nous sommes devenues aujourd'hui.



HADIL, ASMA & OUARDA

Résumé

Ce travail s'inscrit dans le cadre de l'étude du patrimoine botanique national surtout les plantes médicinales dont une grande partie reste encore vierge et nécessite des études approfondies ; alors notre objectif sera autour l'étude phytochimique et les activité biologique (antibactérienne et antifongique) des deux plantes Hibiscus Sabdariffa L et Atriplex Halimus L.

Le screening chimique a mis en évidence la présence des flavonoïde, alcaloïde ; tannins, triterpène, stérol ... etc. dans les deux plantes étudiées.

L'activité antibactérienne a été déterminée sur plusieurs souche bactérienne (Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa) gram- et (Bacillus subtilis et staphylococcus aureus) gram+.

Les résultats obtenus montrent que les souches testées possèdent une sensibilité variable pour les deux extraits par contre ces résultats restent très faible par rapport aux antibiotique utilisées (Amoxicilline, céftazidine, oxacilline, gentamicine).

L'activité antifongique a été déterminée sur deux levures : saccharomyces cerevisiae et candida albicans.

Les résultats montrent que l'extrait de l'espèce hibiscus sabdariffa L a une sensibilité active contre la souche fongique candida albicans et non sensible contre saccharomyces.

Mots clés : composées phénolique, Hibiscus Sabdariffa L, Atriplex Halilmus L Pouvoir antibactérienne, pouvoir antifongique.

Abstract

This work is part of the study of the national botanical heritage, especially medicinal plants, a large part of which is still virgin and requires in-depth studies; then our objective will be around the phytochemical study and the biological activity (antibacterial and antifungal) of the two plants hibiscus sabdariffa L and Atriplex Halimus L .

The chemical screening has highlighted the presence of flavonoid, alkaloid, tannins, triterpene, sterol ... etc. in the two plants studied.

The antibacterial activity was determined on several bacterial strains. (Escherichia coli, Pseudomonas sp) gram- and (Bacillus subtilus and staphylococcus sp) gram+.

The results obtained show that the tested strains have a variable sensitivity for the two extracts, but these results remain very low compared to the antibiotics used (Amoxicillin, ceftazidime, oxacillin, gentamicin).

The antifungal activity was determined on two yeasts: saccharomyces and candida albicans.

The results show that the extract of the species hibiscus sabdariffa L has an active sensitivity against the fungal strain candida albicans and not sensitive against saccharomyces.

Key words: phenolic compounds, hibiscus sabdariffa L, Atriplex Halimus L antibacterial power, antifungal power.

ملخص

هذا العمل هو جزء من دراسة الوراثة النباتية الوطني وخاصة النباتات الطبية، و الكثير منها ال يزال يتطلب دراسات متعمقة، ول هذا س يتمحور هدفنا حول الدراسة الكيميائية النباتية والنشاط البيولوجي (المضاد للبكتيريا ومضاد الفطريات) للنبات
Atriplex Halimus L و Hibiscus sabdariffa L.

وكشف الفحص الكيميائي على وجود مركبات الفانورونية والقلويدات والتربينات والستيرول... إلخ في النباتات المدروسين.

تم تحديد النشاط المضاد للبكتيريا على العديد من السالات البكتيرية et
(Bacillus subtilis) و - غرام (Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa)
+. غرام (staphylococcus aureus)

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن السالات المختبرة لها حساسية متغيرة للمستخلصين، لكن هذه النتائج تظل منخفضة جداً مقارنة بالمضادات الحيوية المستخدمة (ألموكسيسيلين، السيفنازديم، اوكساسيلين، الجنتاميسين).

تم تحديد النشاط المضاد للفطريات على الخميرة Saccharomyces Cerevisiae و
Candida Albicans

أظهرت النتائج أن مستخلص ألزواع Hibiscus Sabdariffa L له حساسية نشطة ضد Candida
Albicans وغير حساسة ضد Saccharomyces Cerevisiae.

الكلمات المفتاحية: المركبات الفينولية، Atriplex Halimus L، hibiscus sabdariffa L، القوة
المضادة للبكتيريا، القوة المضادة للفطريات.

Table des matières

Introduction générale	16
Première Partie : Etude bibliographique	18
Chapitre 1 : l'étude botanique	20
I La plante Hibiscus Sabdariffa L	20
I.1 La famille des malvacées	20
I.1.1 Description botanique	20
I.1.2 Utilisation	22
I.2 Genre Hibiscus	22
I.3 Espèce Hibiscus	22
I.3.1 Description botanique	22
I.3.2 Origine et répartition géographique	23
I.3.3 Écologique	23
I.3.4 Non vernaculaire	24
I.3.5 Classification phylogénique APG III	24
I.3.6 Constitutions chimique	24
I.3.7 Indications et utilisations	25
I.3.7.1 Utilisation alimentaire	25
I.3.7.2 Utilisation médicale	26
II Atriplex Halimus	26
II.1 La famille des chénopodiacés	26
II.2 Mise en culture des Atriplex	27
II.3 Physiologie des Atriplex	28
II.4 Intérêts des Atriplex	28
II.4.1 Intérêts fourrager	28
II.4.2 Intérêt écologique	28
II.4.3 Intérêt économique	29
II.4.4 Autres intérêts	29
II.5 Présentation de l'Atriplex Halimus L	29
II.5.1 Systématique de l'espèce	29
II.5.2 Origine de l'espèce	30
II.5.3 Description morphologique	30
Chapitre 2 : les métabolites secondaires	34

I	Le métabolite secondaire	34
I.1	Introduction	34
I.2	Synthèse de métabolites secondaires chez les végétaux.....	35
I.3	Fonctions des métabolites secondaires.....	35
I.4	Classification des métabolites secondaires	35
I.4.1	Les composés phénoliques.....	36
I.4.1.1	Classification des composés phénoliques.....	36
I.4.1.1.1	Les acides phénoliques	36
I.4.1.1.2	Les coumarines.....	37
I.4.1.1.3	Les quinones.....	38
I.4.1.1.4	Les tanins.....	38
I.4.1.1.5	Les flavonoïdes	39
I.4.1.1.6	Les anthocyanes	40
I.4.2	Terpénoïdes.....	41
I.4.3	Les stérols.....	41
I.4.4	Les alcaloïdes.....	42
I.4.4.1	Distribution des alcaloïdes.....	42
I.4.4.2	Localisation des alcaloïdes.....	43
I.4.4.3	Intérêts des alcaloïdes	43
	Chapitre 3 : les activités biologiques	45
I	Les activités biologiques.....	45
I.1	Activité antibactérienne	45
I.1.1	Généralités	45
I.1.2	Culture des bactéries.....	46
I.1.3	Description de bactéries étudiées	46
I.2	Activité antifongique	48
I.2.1	Les levures étudiées	48
	Deuxième Partie : Etude expérimentale.....	50
	Chapitre 1 : matériels et méthodes.....	52
I	Matérielles et méthodes	52
I.1	Matérielle végétale	52
I.1.1	Macération De La Matière Végétale	52
I.1.2	Extraction	53
I.2	Tests phytochimiques.....	54
I.2.1	Détection de polyphénols.....	55
I.2.1.1	Détection de quinones	55

I.2.1.2	Détection des Anthraquinones	55
I.2.1.3	Détection des flavonoïdes	55
I.2.1.4	Détection des Anthocyanes	55
I.2.1.5	Détection des tannins	55
I.2.2	Détection des Alcaloïdes	56
I.2.3	Détection des stérols et triterpens	56
I.2.4	Détection de coumarines	57
I.2.5	Chromatographie sur couche mince.....	58
I.2.5.1	Principe.....	58
I.2.5.2	Dépôt de l'échantillon	58
I.2.5.3	Développement de la plaque.....	59
I.2.5.4	Révélation.....	59
I.3	ACTIVITES BIOLOGIQUES	60
I.3.1	Activité antibactérienne	60
I.3.1.1	Echantillonnage	60
I.3.1.2	Préparation de milieu de culture	61
I.3.1.3	Préparation de l'inoculum	62
I.3.1.4	Préparation du milieu de culture	62
I.3.1.5	Préparation des disques	63
I.3.1.6	Incubation.....	63
I.4	Activité antifongique	63
I.4.1	Application	63
	Chapitre 2 : résultats et discussion.....	65
I	Résultats et discussion	65
I.1	Screening phytochimique des métabolites secondaires.....	65
I.1.1	Les polyphénols	66
I.1.1.1	Criblage des quinones et anthraquinones	67
I.1.1.2	Criblage des flavonoïdes et anthocyanes.....	68
I.1.1.3	Criblage de tanins	70
I.2	Criblage des alcaloïdes	71
I.3	Criblage des stérols et triterpènes	72
I.4	Criblage de coumarines	73
II	Activité biologique	74
II.1	Evaluation de l'activité antibactérienne	74
II.2	Evaluation de l'activité antifongique	78
	CONCLUSION.....	81

Liste des figures

Figure 1: Répartition géographique de la famille des malvacées	20	
Figure 2: Répartition géographique de la famille des malvacées	21	
Figure 3: Répartition géographique de la Hibiscus Sabdariffa.....	24	
Figure 4: Arbuste d'Atriplex halimus L.....	31	
Figure 5: Feuilles d'Atriplex halimus L	Figure 6: Fructification d'Atriplex halimus L.....	31
Figure 7: Graines d'Atriplex halimus L décortiquées	32	
Figure 8: Quelques dérivés de l'acide hydroxybenzoïque	37	
Figure 9: Quelques dérivés de l'acide hydroxycinnamique	37	
Figure 10: Structure des bases de flavonoïdes	39	
Figure 11: Biosynthèse des flavonoïdes	39	
Figure 12: Squelette des anthocyanes	40	
Figure 13: Structure de bactérie.....	45	
Figure 14: Culture des bactéries dans deux milieux.....	46	
Figure 15: Bactérie Escherichia coli.	Figure 16: Bactérie staphylococcus aureus.....	47
Figure 17: Bactérie Bacillus subtilis.	Figure 18: Pseudomonas aeruginosa	47
Figure 19: Les étapes de l'activité antifongique.....	48	
Figure 20: Saccharomyces cerevisiae	49	
Figure 21: Candida albicans.....	49	
Figure 22: Hibiscus Sabdariffa L	Figure 23: Atriplex halimus L.....	52
Figure 24: Méceration de la matière végétale de chaque espèce pour les tests.	53	
Figure 25: Filtration de l'extrait par rotavapeur de l'espèce Hibiscus Sabdariffa.....	54	
Figure 26: Filtration de l'extrait par rotavapeur de l'espèce Atriplex halimus	54	
Figure 27: Extraits brutes concentrés de deux plantes	54	
Figure 28: Réactif utilisés pour la détection alcaloïdes	56	
Figure 29: La première étape pour détecter les stérols, stéroïdes, tritèrènes.....	57	
Figure 30: Le développement du chromatogramme	57	
Figure 31: Le développement de la plaque	59	
Figure 32: Préparation des milieux cultures.....	61	
Figure 33: Payasse de travail au laboratoire de bactériologie.....	62	
Figure 34: Détection des polyphénols.....	66	
Figure 35: Détection des quinones	67	
Figure 36: Détection des anthraquinones.....	68	
Figure 37: Détection des flavonoïdes.....	69	
Figure 38: Détection des anthocyanes.....	69	
Figure 39: Photographie des alcaloïdes d'Atriplex Halimus L	71	
Figure 40: Criblage des tritèrènes et stérols d'hibiscus sabdariffa L	72	
Figure 41: Criblage des tritèrènes et stérols de l'Atriplex halimus.....	73	
Figure 42: L'effet de l'extrait Hibiscus sabdariffa et Atriplex Halimus sur les souches bactériennes à gram -	75	
Figure 43: L'effet de l'extrait d'hibiscus sabdariffa et Atriplex halimus sur les souches bactériennes à gram +	76	
Figure 44: Sensibilité des 2 souches Gram (-) vis-à-vis des extraits EM.Hib et EM.Atr.....	77	
Figure 45: L'effet de l'extrait d'hibiscus sabdariffa et Atriplex halimus sur les candida albicans	78	
Figure 46: L'effet de l'extrait d'hibiscus sabdariffa et Atriplex halimus sur saccharomyces	78	
Figure 47: Sensibilité des deux souches fongique envers les différents extraits de hibiscus sabdariffa L et Atriplex halimus L	79	

Liste des tableaux

<i>Tableau 1: Les différents systèmes solvants utilisés pour la CCM.</i>	58
<i>Tableau 2: Souches testés dans l'activité antibactérienne</i>	60
<i>Tableau 3: Représente les matériels utilisés.</i>	61
<i>Tableau 4: Préparation des champignons.</i>	63
<i>Tableau 5: Mise en évidence de la présence ou l'absence de certaines familles de métabolite secondaire</i>	65
<i>Tableau 6: Résultat de criblage des quinones et anthraquinones</i>	67
<i>Tableau 7: Résultat de criblage de flavonoïdes et anthocyanes</i>	68
<i>Tableau 8: Résultats de criblage des tannins</i>	70
<i>Tableau 9: Résultats de criblage des alcaloïdes</i>	71
<i>Tableau 10: Résultats de criblage de stérol et triterpène</i>	72
<i>Tableau 11: Montre que les deux plantes hibiscus sabdariffa et artiplex halimus sont très riches en différentes composés de coumarines</i>	73
<i>Tableau 12: Taux d'inhibition de l'extrait hydrométhanolique de deux extrais (hibiscus sabdariffa L, Atriplex halimus L).</i>	74
<i>Tableau 13: La sensibilité des souches bactérienne vis-à-vis les extraits.</i>	75
<i>Tableau 14: Antibiotiques testés sur les quatre souches.</i>	77
<i>Tableau 15: Zones d'inhibition des souches fongique en présence de l'EM Hib et l'EM Atr</i>	78

Introduction Générale

Introduction

Introduction générale :

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité, pour soulager et guérir les maladies humaines. En fait, leurs propriétés thérapeutiques sont dues à la présence de centaines, voire des milliers de composés naturels bioactifs appelés : les métabolites secondaires. Ces derniers sont par la suite accumulés dans différents organes et parfois dans des cellules spécialisées de la plante, malgré le progrès de la pharmacologie, l'usage thérapeutique des plantes médicinales est très présent dans certains pays du monde et surtout les pays en voie de développement, en l'absence d'un système médical moderne (Tabuti et al., 2003).

Actuellement, le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques ont conduit les chercheurs à puiser dans le monde végétal et particulièrement les plantes médicinales et culinaires en quête de molécules naturelles efficaces et dénuées de tout effet adverse. De nombreuses études ont mis en évidence la présence de métabolites secondaires doués d'activités biologiques telles que les polyphénols, alcaloïdes, terpènes ...etc. La flore algérienne, avec ses différentes espèces appartenant à plusieurs familles botaniques, reste très peu explorée tant sur le plan phytochimique que sur le plan pharmacologique (Merzoug, 2009).

Le présent travail a pour objectif de criblage des métabolites secondaires, avec la détermination de la concentration de certains groupes, comme il vise à tester les activités biologiques des différents extraits organiques surtout l'activité antifongique et l'activité antibactérienne. Dans ce contexte et notamment dans le cadre du programme de recherche sur les plantes médicinales, nous nous sommes intéressées à l'étude de deux espèces médicinales, appartenant au genre Hibiscus et Atriplex.

Ce manuscrit est divisé en trois parties :

✚ La première partie est consacrée à une étude bibliographique. Nous avons entamé cette partie par une enquête ethnobotanique, en vue d'évaluer l'intérêt et l'usage de ces plantes chez la population sur les aspects botaniques et phytochimiques de deux plantes. Des généralités, sur les activités antibactériennes et antifongiques, ainsi que sur les alcaloïdes et les composés phénoliques et notamment les flavonoïdes, tannins, quinone, anthraquinone...etc.

Introduction

Elle contient trois chapitres :

✚ Chapitre 1 : Etude botanique.

✚ Chapitre 2 : Métabolites secondaires.

✚ Chapitre 3 : Activités biologiques.

✚ La deuxième partie : étude expérimental illustre le matériel et les méthodes utilisés dans les différentes étapes de notre travail : Des tests phytochimiques préliminaires sont ensuite effectués sur les parties aérienne et souterraine des deux plantes, justifiant notre choix porté sur les alcaloïdes et les composés phénoliques de ces plantes, en vue de leurs extractions et de leurs analyses. Et enfin l'application des extraits des extraits de Hibiscus Sabdariffa et l'extrait d'Atriplex halimus sont testés pour leurs activités antibactériennes et antifongiques.

- Elle contient deux chapitres :

✚ Chapitre 1 : Matériel et méthode.

✚ Chapitre 2 : Résultats et discussions.

✚ Enfin, notre manuscrit est ponctué d'une conclusion générale et de perspectives envisageables.

Première Partie :
Etude
bibliographique

Chapitre 1 :

Etude botanique

Chapitre 1 : l'étude botanique

I La plante Hibiscus Sabdariffa L

I.1 La famille des malvacées :

Plus de 1000 espèces dans le monde répartis dans plus de 80 genres : dans la région, on compte une douzaine d'espèces appartenant à 5 genres : famille présente dans les régions chaudes et tempérées : le nom de la famille dérive du genre *Malva* qui désigne les mauves : ce nom provient du grec "malacos" qui signifie "Mvu" en référence aux propriétés des mauves (émolliente) (Morine al, 2009).



Figure 1: Répartition géographique de la famille des malvacées

I.1.1 Description botanique :

Caractéristiques générale permettant de reconnaître une plante appartenant à cette famille :

- ✚ La fleur : entomophiles, sont solitaires ou groupées en inflorescences variables axillaires ou terminales, cymes colymbiformes ou paniculiformes, fasciculées

Elles sont pentamères et actinomorphes, très exceptionnellement zygomorphes, elles sont axillaires par des bractées involucrales, en nombre supérieur à 3 faisant office de calice.

- ✚ Le calice : a une préfloraison valvaire, et possède 5 sépales libres ou connés

- ✚ La corolle : une préfloraison conflortée à imbriquée, et se compose de 5 pétales libres ou fréquemment légèrement soudés à la base, on assiste là à un étendard de gamopétale.

- ✚ L'androcée : est très particulière, il est monadelphé.

Les étamines s'unissent par leur filet pour former un tube qui porte au sommet des anthères réduites à une loge, le pollen est épineux

Les étamines ne sont pas encore toutes groupées au sommet, comme chez le genre *Malva*, mais réparties tout le long du tube staminal.

✚ Les carpelles : fermés sont soudés en un ovaire à placentation axiale.

✚ Les fruits : des espèces tropicales et primitives qui ont conservés un ovaire à 5 carpelles individualisés, sont des capsules déhiscents à 5 fentes, chez les genres évolués, ayant réalisé la complète fusion de carpelles, les fruits sont schizocarpiques libèrent à maturité de nombreux à Kénes, exceptionnellement, le genre *Malva viscosa* produit des baies.

✚ Les graines : sont souvent couvertes de poils fins, qui peuvent être disposés en touffes comme chez *Gossypium*. Elles sont peu ou pas d'albumen et un embryon courbé ou droit (Marine Laval et Mathieu Menand 2009).

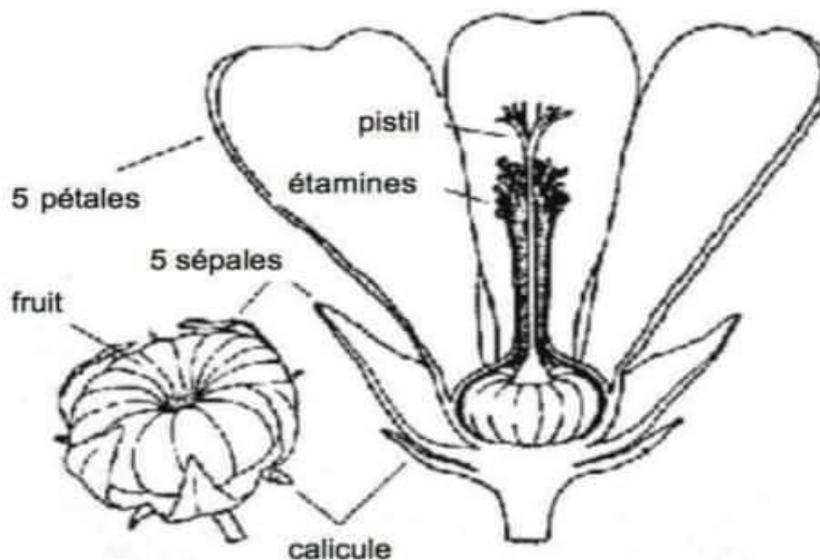


Figure 2: Répartition géographique de la famille des malvacées

I.1.2 Utilisation :

Le genre Hibiscus, Malva et Althaea sont connus surtout par leur espèce ornementale, la rose de la chine (*Hibiscus rosa-sinensis*), la rose trémière (*Althaea rosea*) etc.

Certains Abutilon sont aussi cultivés pour l'ornementation. D'autre espèce sont, en raison de leur richesse en mucilage, utilisée dans le régime alimentaire tropicaux (gombo-Hibiscus exultent) ou en herboristerie (guimauve officinale, *Althaea officinales*). De nombreux Hibiscus sont appréciés aussi, localement pour leur fibre textile, comme exemple le da, ou chanvre de Guinée, tiré de la tige d'hibiscus cannabius. Les Uranus, en particulier *Urena lobata*, pantropical fournissent de même après rouissage, des fibres de bonne qualité textile., mais les Malvaceae économiquement les plus importants sont les cotominés (*Gossypium*) l'élément textile dont l'embryon est par surcroît, riche en huile alimentaire (Marine al, 2009).

I.2 Genre Hibiscus :

L'hibiscus est un arbuste à fleurs originaire d'Asie issu de la famille des Malvaces,. Il est composé de plus de 30000 variétés, et de plus de 200 espèces, dont seuls deux sont cultivables en Europe, la rose de la Chine, et l'hibiscus syriacus l'arbuste est composé de feuilles simples, ovales et dentés, et de fleurs à la gymetion centrale, dont les cinq étamines sont fleuri qui mesure entre 40 et 70 cm. Plante tropical, l'hibiscus supporte très mal le gel, et droit être planté en pot dans les régions d'Europe un peu trop fraîches pour lui, il se remporte au milieu du printemps, il sa floraison a lieu entre mars et octobre, l'hibiscus pour s'épanouir a besoin d'une terre riche en humus placez des billes d'argile au fond du pot afin d'optimiser le drainage, son développement nécessite par ailleurs une grande exposition au soleil (Tela Botanica, 2014).

I.3 Espèce Hibiscus :

I.3.1 Description botanique :

Hibiscus sabdariffa est une plante herbacée annuelle a port de sous-arbrisseau atteignant 1 à 1,50m et plus suivant les types et le monde de culture. La tige est robuste, verte ou rougeâtre suivant les variétés glabre ou hispide, parfois avec quelques poils tuberculés épineux (Kerharo et Adan, 1974). Elle porte des feuilles glabrexents, ovales ou trilobées, les fleurs sont axillaires de 3 aa 4 cm de diamètre caractérisées par un calice a cinq sépales de 3 à 4 cm de long dont la couleur vert ou rouge correspond à celle de la tige et par une corolle a cinq pétale faunes, mouchetes de brun-rouge. A maturité le fruit capsulaire est

entouré par le calices persistant devenu charnu.

I.3.2 Origine et répartition géographique :

Hibiscus Sabdariffa était cultivé à l'origine en Afrique, il a été largement distribué en Asie, où l'espace s'est adapté (Clydesdale et al, 1979).

Hibiscus Sabdariffa est présent dans Thaïlande, au Vietnam, en Malaisie, en Chine au Soudan et au Mexique, il est aussi présent dans d'autres pays, tels que l'Égypte le Sénégal, la Tanzanie, le Mali, le Tchad et la Jamaïque qui en produisant en petite quantité (thèse de la pharmacie Seydore TANGARA 62).

I.3.3 Écologique :

La plante Hibiscus Sabdariffa a des besoins de température situés entre 18 et 35 °C La croissance de la plante s'arrête à 14°C Et elle meurt alors au bout de 15 jours, à 10 °C La mort suit au bout de 2—3 jours seulement. La production de fleurs et de calices diminue en dessous de 17 °C. Les cultures ne supportent pas les températures inférieures à 10 °C Pendant plus de 2_3 heures.

L'H Sabdariffa est une plante photosensible qui fleurit mieux lorsque la longueur du jour est inférieure à 12 heures, elle a besoin de 13 heures de lumière par jour pendant sa croissance végétative pour empêcher sa floraison prématurée pourvue d'un système racinaire profond la roselle a besoin d'une profondeur de sol appropriée, elle est types de sols très variés, les meilleures étant des limons friables retenant beaucoup d'eau.

L'hibiscus Sabdariffa pousse bien dans les régions recevant 800—1600 mm de pluie par an et a besoin d'au moins 100_150 mm par mois pendant sa croissance végétative ou 300_400 mm répartis sur une période de 3_4 mois, ses périodes sèches au cours des derniers mois de croissance favorisent une bonne production de calices tandis qu'une précipitation ou une humidité trop abondante sont susceptibles de faire baisser la qualité des calices. Les plantes de roselle à pigmentation anthocyanique sont capables de supporter les rudes environnements sahéliens mieux que les plantes à coloration jaune-verte.

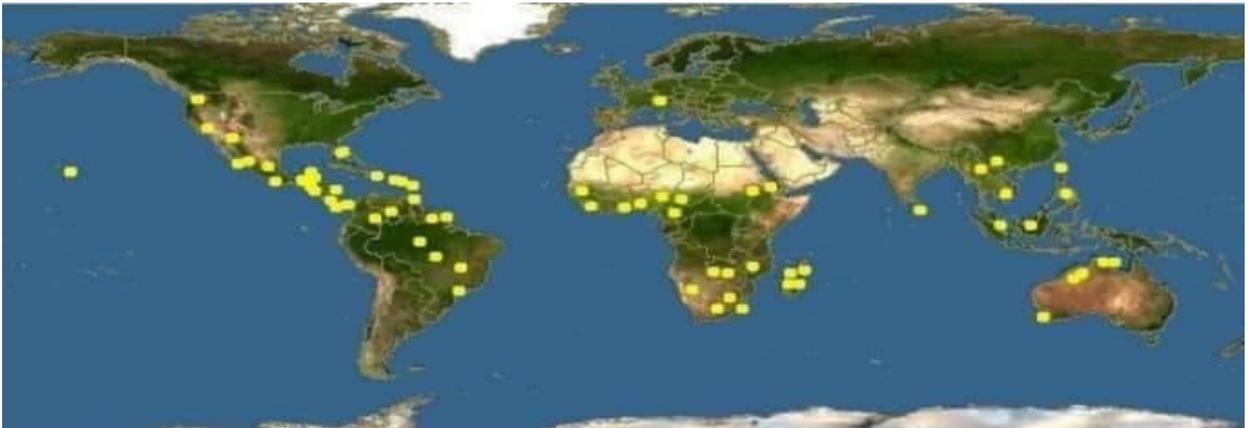


Figure 3: Répartition géographique de la Hibiscus Sabdariffa

I.3.4 Non vernaculaire :

Français : Oseille de Guinée, thé rose d'Abyssinie, Roselle, anglais sorell, Arabe Karkadé au Sénégal, elle est appelée en Wolof : bissap ; sérère : bondo.

I.3.5 Classification phylogénique APG III

- + Embranchement : Spermaphyte.
- + Sous-embranchement : Angiosperme.
- + Série : Thalamiflore.
- + Classe : Dicotylédone.
- + Sous-classe : Dialypétale.
- + Ordre : Malvale.
- + Famille : Malvaceae.
- + Genre : Hibiscus.
- + Espèce : Hibiscus Sabdariffa.

I.3.6 Constitutions chimique :

Beaucoup d'études ont été menés en vue de de déterminer la composition chimique des feuilles, des calices, des graines et des racines de Hibiscus Sabdariffa, nous allons nous intéresser particulièrement aux calices.

Le calice : l'étude de la composition en élément minéraux des calices de Hibiscus Sabdariffa mise en parallèle avec les concentrations maximales autorisés dans l'alimentation humaine révèle une forte variabilité en fonction de la zone géographique de production.

Les sucres présents dans les calices de Hibiscus Sabdariffa sont constitué de glucose fructose et saccharose, le glucose avec près de 40% des sucres totaux est le sucre majoritaire, ils étaient également riches en acide organique : l'acide succinique, oxalique, tartrique et malique étaient présents à des concentrations respectives de (0,51g : 0,43g 0,17g et 0,12) par

100g (Wong et al 2002). Les acides succinique et oxalique constituent les deux acides organiques majoritaires de Hibiscus Sabdariffa à eux deux, ils représentent 76% des acides organiques totaux (Babalola et al 2001). La présence de β -carotène et de lycopène à des concentrations respectives de 1,9 mg par 100g et 164,3 mg par 100g de matière fraîche a été signalé dans des calices de H, Sabdariffa (Wong et al 2002), également des mucilages et des pectines (Tsai, 1995).

Lin et al (2003) ont aussi montré dans les calices secs de H Sabdariffa la présence d'acide protocatechique et des composés polyphénoliques, une des caractéristiques de H, Sabdariffa est également sa richesse en anthocyanes (calices rouge) dont le teneur peut atteindre 1,5 g par Kg de calice sec teneur supérieure à la plupart d'autre végétaux comestibles (Hazza et Miniati, 2000).

Deux à quatre anthocyanes ont été identifié selon les variétés de H Sabdariffa considérées (Du C. T et Francis), 1973 palé et al, 2004) il s'agit de la dephinidine-3-Smbabioside ou hibiscine, la cyandine-3-sambubioside ou gossypicyanine, la de lphinidine-3-glucoside et la cyandine-3-glucoside. La de lphinidine-3-sambubioside est l'anthocyne majoritaire responsable de la couleur rouge violette des calices. Il représente 70% de la teneur totale en anthocyanes (Francis, 1990).

I.3.7 Indications et utilisations :

Hibiscus Sabdariffa est utilisé pour ses calices, feuilles et graines.

I.3.7.1 Utilisation alimentaire :

Les calices du fait de leur concentration élevée en acide pectines vitamine C et surtout en anthocyanes, constituent la partie de la plante le plus utilisée. Ils interviennent dans la production de besoins en Afrique et en Asie.

Cette boisson est connue selon le pays sous plusieurs appellations :

- ✚ Bissap au Sénégal, sa consommation est maximale pendant le moins du ramadan.
- ✚ Da Bilenni au Mali en Côte d'Ivoire et au Burkina Faso.
- ✚ Boisson des pharaons en Égypte.
- ✚ Thé. De Kaikadé au Soudan.

Quant aux calice, ils sont utilisés comme tisane confitures, gelés, boissons aromatisant et colorant (Seaforth et Tikasingh 2005).

En Allemagne, les calices rouges sont de plus en plus utilisés comme colorants naturelle dans la confiserie, l'extrait sous forme de filtrat concentrée ou de poudre séchée, est utilisé

comme colorant dans l'industrie alimentaire ou pharmaceutique.

Les colorants de *Hibiscus Sabdariffa* sont préférés à ceux de la betterave d'un rouge trop foncé, ou à ceux du raisin moins éclatant, ou encore à ceux de la cochenille qui sont trop chers (Poug et Al, 1990).

Les graines de *Hibiscus Sabdariffa* permettent la fabrication d'huiles qui est traditionnellement utilisée en cuisine au Tchad, en Tanzanie, et en Chine. Elle peut entrer également dans la fabrication de savon et de produits cosmétiques (Meclinotock et Al, 2004).

I.3.7.2 Utilisation médicale :

L'infusion d'*hibiscus Sabdariffa* pouvait faire baisser la pression artérielle diminuant ainsi le risque de maladie cardio-vasculaire, les études phytochimiques ont montré la présence d'acide organique, d'anthocyanosides de flavonoïdes, de mucilages, de pectine et d'une huile essentielle (eugénol). Ces composants expliquant l'action anti inflammatoire, adoucissante, antiasthénique antispasmodique et légèrement laxative de l'*Hibiscus*. On utilise pour apaiser l'irritation des voies respiratoire, les spasmes gastro-intestinaux, lutter contre la fatigue. L'espèce a des vertus amincissantes, tonifiantes grâce à la vitamine C et diurétique (Flore de la réunion _2009).

II Atriplex Halimus :

II.1 La famille des chénopodiacés :

Les chénopodiacées sont répandues dans le monde entier, mais ont une préférence marquée pour les terrains salés (Grêté, 1965) vivant surtout sous climat arides et semi-aride (Ozenda 1958). Ces espaces dites "Halophiles" Pour s'adapter à la salinité des sols, élèvent leur concentration osmotique à une concentration supérieure à celle du sol, elles accumulent en conséquence une grande quantité de sels (Goldhirs et Al-1990 Achour, 2005 Roeder, 2006).

De nombreuses espèces appartenant à cette famille sont xérophiles, elles doivent leur résistance particulière à l'éventuel épaississement et à la succulence de leur tige et à l'état plus au moins charnu de leur feuille ou au contraire à la réduction de leur système foliaire (Gété, 1965). Ces plantes sont en majorité pérennes une forme en boule ou en coussinet afin de réduire l'échauffement (Smail _Saadoun 2005).

Les chénopodiacées sont des plantes à fleurs sans pétales, peu visibles hermaphrodites. Ou unisexuelles, elles sont regroupées en inflorescence en épi ou à cyme (Mulas et Mulas

2004). D'autre part, les feuilles sont souvent recouvertes par des trichomes, ce sont des glandes pédicelles à tête formée par une grosse cellule remplie d'eau (suc vasculaire riche en sels) en période sèche ces poils fonctionnent comme réserve d'eau et quand celle-ci est épuisée le calice des poils flétris forme un revêtement blanchâtre, farineux caractéristique des chénopodiacées (Deysson et Mascré, 1951, Smail _Saadoun, 2005 : Ighilhauz,2008).

Certaines feuilles des chénopodiacées ont la forme d'une patte d'Oie (chénopodium) d'où le nom de cette famille (du grec : Khen =oie, podo=pied) (Guignard et Dupont 2004).

Les chénopodiacées se caractérisent par une structure anatomique des Dicotylédones dans certains espaces bisannuelles ou vivaces, les tiges peuvent présenter des faisceaux libéro_ligneux dispersés ou groupés en plusieurs anneaux concentriques, cette disposition est due à ce que les premières assises, cambiales sont actives peu de temps, d'autre faisceaux se différencient grâce au fonctionnement d'un nouveau cambium surnuméraires permettant de concentrer plus de soluté, ce qui est propre aux halophytes, afin de s'adapter au milieu salé et sableux (Ighilhariz, 2008).

Des formations libéro_ligneuses surnuméraires peuvent également prendre naissance dans les racines (Crété, 1965).

La famille des chénopodiacées englobe environ cent (100) genres qui peuvent être divisés suivant la forme de l'embryon, en deux tribus (Chadefaud et Emberger 1960 : Grété 1965 : Rosas, 1989).

- ✚ Spirolobae, qui présente un embryon enroulé en spirale et l'albumen est divisé en deux parties par l'embryon
- ✚ Cyclobae qui présente un embryon en forme de fer à cheval ou en demi-cercle Comprenant l'albumen en entier ou en partie. A cette dernière tribu appartient le genre *Atriplex* qui est un genre cosmopolite et qui englobe un grand nombre d'espaces distribuées dans toute les régions aride et semi-aride du monde (Grété 1965, Rosas,19.89, Reyes-vera et Al 2008).

II.2 Mise en culture des *Atriplex* :

Les *Atriplex* sont des plantes qui préfèrent les soles frais, riche en en humus la multiplication se fait par semis sur sable, au printemps de mars à main (Achour, 2005). La température de la germination varie selon l'espace et son origine, elle est de 20 à 25 °C pour *Atriplex halimus* originaires d'Utah (USA) peuvent germer à 0 _3 °C (Springfield, 1970).

II.3 Physiologie des Atriplex :

Le genre *Atriplex* caractérisé par une anatomie foliaire de type Kranz (présence d'une graine de cellule de grandes dimensions qui entourent les tissus vasculaire) appartient au groupe des plantes C4 (Mulas et MULAS .2004 : Smail Saadon , 2005 ; Ighilhariz 2008) Les feuilles des plantes en C4 sont généralement plus minces que celle des plantes en C3 (Ighilhariz ,2008) .De nombreux recherche ont démontré que ce type de plantes est caractérisé par une grande productivité (Mulas et Mulas ,2004)

Les plantes soumises aux contraintes engendrées par la salinité ou la sécheresse, réagissent par une modification de leur teneur en certains composés organique appelés osmolytes ou osmoprotecteurs (Hubac et Vieira Dasilva, 1980, Hubac 1990, Ighilhariz 1990, Monneveux et This 1997). Ces réactions d'adaptation sont destinées à rétablir l'équilibre hydrique dans la plante.

II.4 Intérêts des Atriplex :**II.4.1 Intérêts fourrager :**

C'est une source des minéraux, vitamines et protéines pour le bétail (EL-Shatnawi et Mohawesh ,2000), ce qui permet de les utiliser comme une réserve fourragère en été et en automne, comblant la carence de fourrage qui se manifeste avant la croissance printanière des espèces fourragères herbacés (Kessler ,1990). Différentes observations expérimentales ont démontré que grâce à cet arbuste, le bétail peut supporter de longues périodes de carence alimentaires dues à la sécheresse (Le Houérou 1980), en effet une bonne formation d'*Atriplex Halimus* peut produire jusqu'à cinq tonnes par hectare de matière sèche et par an sur des soles dégradé ou salins inutilisables pour d'autres cultures (Dutuit et al ,1991).

II.4.2 Intérêt écologique :

Mulas et Mulas (2004) rapportèrent que l'association des cultures de céréales a des arbustes fourragers qui grâce à la capacité de leurs racines de s'enfoncer dans le sol , ont des effets bénéfique sur l'environnement et rétablissement de la fertilité de l'écosystème .En plus les plantes de genre *Atriplex* jouent un rôle important comme brise-vent , pour la protection du sol et la création d'un microclimat favorable, permettant aux autres espèces fourragères (l'avoine , la luzerne), d'augmenter leur productivité (El Mzouri , et al ,2000) selon Abbad et al ,(2004b) le système racinaire très ramifié ,chez les *Atriplex* joue un rôle important dans la réhabilitation des soles dégradé la lutte contre l'érosion des sols et la désertification par ailleurs certaines espèces d'*Atriplex* ,cas d'*Atriplex canescens* Purch Nutt sont mycorhizées par des champignons fixateurs de phosphore (Barrow et Osuna 2002). Ces

champignons prélèvent du carbone à partir des racines de la plante et lui fournissent en échange du phosphore, elle augmente également la capacité d'absorption des racines, ce qui augmentent leur tolérance a la sécheresse (Barrow et Osuna,2002, Barrow et Al 2004b)

II.4.3 Intérêt économique :

De nombreuses étude ont mise e évidence le fait qu'en associant la culture de céréales aux arbustes fourrages appartenement au genre *Atriplex* la production des céréales a augmenté de 25% (Brandl, 1987) de plus en été et en automne.

Le bétail peut éventuellement brouter les chaumes d'orge et les arbustes d'*Atriplex* (Mulas et MULAS 2004). Par ailleurs, la structure ligneuse des *Atriplex* constituent une source d'énergie intéressante (Abbad et al 2004b)

II.4.4 Autres intérêts :

Selon Dutuit et al (1991) l'*Atriplex Halimus L* est utilisé comme plante médicinale dans la pharmacopé traditionnelle , en effet elle agit sur la maladie du sommeil (trypanosomiase) (Bellakhdar 1997) et elle possède également un effet antidiabétique notamment sur le diabète type 2 car selon Dey et al (2002) 3g /jour de feuille d'*Atriplex Hamilus L* diminue le taux du glucose dans le sang , Sais et al (2008) rapportèrent que l'utilisation du «Glucoselevel » un médicament formé par l'association d'extraits de feuilles de 4 plantes a effet antidiabétique à savoir *Atriplex Hamilus* , *Olea Europea* *Juglans Regia* et *Urtia Dioica* , agit positivement sur le diabète type 2 et sans effets secondaires .

D'autre part les jeunes pousses et les feuilles d'*Atriplex Halimus L* étaient déjà consommés par les Egyptiens et les Grecs et les Angleterres où on conservait les feuilles dans du vinaigre à la manière des cornichons.

Les jeunes pousses et les feuilles un peu charnus ont une saveur salée due au milieu où elles croissent, elles sont bonnes crues dans les salades composées qu'elles relèvent alors que mangés seules elles ont tendance à éviter la gorge (la salinier,99) sa décoction donne une teinture rouge d'emploi analogue à celui du henné pour les mains et les pieds

II.5 Présentation de l'*Atriplex Halimus L* :

II.5.1 Systématique de l'espèce :

Selon Chad faud et Emberger (1960) *Atriplex Halimus* est classé comme suit :

✚ Règne :	végétal
✚ Sous règne :	phanérogames
✚ Embranchement :	spermaphytes
✚ Sous – embranchement :	Angiosperme
✚ Classe :	Dicotylédones

✚	Sous classe :	caryophyllidées
✚	Ordre :	centrospermales
✚	Famille :	chénopodiacées
✚	Genre :	Atriplex
✚	Espèce :	Atriplex Halimus subsp, Halimus
✚	Nom commun :	pourpier de mer, Arroche maritime
✚	Nom arabe :	Guettaf القطف

II.5.2 Origine de l'espèce :

Atriplex Halimus L, originaire d'Afrique du nord est bien adaptés aux terrains salino-argileux et aux milieux caractérisés par des précipitations annuelles inférieures à 150 mm (le ouréou,1980) .Elle s'étend également aux gones littorales méditerranéennes de l'Europe et aux terres intérieures gypso-salines d'Espagne (Dutuit 1999) grâce ce à sa valeur nutritive (tableau 1) elle appartient aux espèces d'Atriplex les plus appréciées par le bétail dans les zones arides du Wana (l'Ouest Asiatique et l'Afrique du nord) (Tiedeman et Chouki 1989)

II.5.3 Description morphologique :

L'Atriplex Hamilus est un arbuste de 50 à 200 an de haut (Quezel et Santa 1962) (figure 1) et selon Nègre (1961) elle peut atteindre 4m de hauteur si elle n'est pas broutée par le bétail .Les tiges sont assez grandes de 2 à 5cm (figure 2) , en général 2 fois plus longues que larges (Quezel et Santa 1962) .Cette espèce est caractérisé par un polymorphisme foliaire important (Ozenda ,1977 :Dutuit 1999) concernant la dimension et la forme des feuilles (Ben Ahmed et al ,1996) elle sont ovales , ovales rhomboïdales ou ovales triangulaires , parfois hastés plus ou moins atténuées ou un peu sinuées dentées lancéolées, toutes plus ou moins atténuées entières ou un peu sinuées lancéolées , toutes plus ou moins trinervés a la base à nervure médiane seule un peu saillante en dessous (Maire,1962) , la forme des feuilles varie selon la provenance de l'individu et selon l'état physiologique de la plante ou la position de la feuille sur un axe (Dutuit ,1999).Chez l'Atriplex Hamilus L ,les feuilles sont couvertes par des vésicules spécialisés appelés trichomes , ces derniers présent sur les deux face de la feuille sont très nombreux sur les feuilles âgées donnant à celle-ci son aspect blanchâtre plus ou moins luisant (Smaoui 1971) grâce à l'accumulation de grandes quantités de sels dans leurs tissus (Mozafar et Goodin ,1970).

Les fleurs sont vertes et petites (Aganga et al 2003) groupés en panicule terminale (Maire 1962). Selon Abbad et al (2004), il existe une très grande variabilité phénotypique, qui est d'autant plus importante que les populations sont éloignées géographiquement et situés dans des climats différents. Un seul individu peut porter à la fois des fleurs unisexuées males,

unisexuées femelles et bisexuées. En effet *Atriplex Hamilus* et polygames particulièrement trimonoïque (Talamali et al 2001). Les graines sont des akènes rougeâtres a noire (figure 4) de 1,5 à 2mm de diamètre (Maire 1962) contenu dans des valves fructifères coriaces, arrondies et lisses (Quezel et Santa ,1962).



Figure 4: Arbuste d'*Atriplex halimus* L.



Figure 5: Feuilles d'*Atriplex halimus* L



Figure 6: Fructification d'*Atriplex*



Figure 7: Graines d'*Atriplex halimus* L décortiquées.

Chapitre 2 :

**Les métabolites
secondaires**

Chapitre 2 : les métabolites secondaires

I Le métabolite secondaire

I.1 Introduction

On désigne par « métabolite secondaire » toute substance présente chez un organisme et qui ne participe pas directement aux processus de base de la cellule vivante. Ce concept est historiquement attribué à Kossel (Kossel, 1891) qui l'introduisit par opposition à celui de métabolites primaires, ces derniers étant directement impliqués dans les grandes voies du métabolisme basal de la cellule.

Chez les végétaux, ces composés secondaires regroupent plusieurs dizaines de milliers de molécules différentes, généralement rassemblés en superfamilles chimiques tel que les polyphénols, les terpènes et stérols, les alcaloïdes, les polycétides, etc. Outre la très grande diversité chimique qu'ils représentent, ces métabolites secondaires se caractérisent généralement par de faibles concentrations dans les tissus végétaux (généralement quelques pourcents du carbone total, si on exclut la lignine de cette catégorie) ainsi que par leur stockage souvent réalisé dans des cellules ou organes dédiés.

Pour ce qui concerne leurs fonctions chez les plantes, les métabolites secondaires exercent un rôle majeur dans l'adaptation des végétaux à leur environnement. Ils assurent des fonctions clés dans la résistance aux contraintes biotiques (phytopathogènes, herbivores, etc.) et abiotiques (UV, température, etc.). Sur le plan agronomique, le rôle de ces composés dans la protection des cultures est connu (résistance aux maladies cryptogamiques, aux infections bactériennes, à certains insectes), mais a été relativement peu exploité pour ce qui concerne le développement de variétés résistantes. Ces métabolites secondaires constituent, aujourd'hui, un des leviers d'une possible intensification écologique de l'agriculture, en substituant notamment l'usage d'intrants chimiques par des mécanismes de défense naturelle des plantes.

D'un point de vue pharmacologique, les métabolites secondaires constituent la fraction la plus active des composés chimiques présents chez les végétaux et on estime aujourd'hui qu'environ 1/3 des médicaments actuellement sur le marché contiennent au moins une telle substance végétale (Newman and Cragg, 2012). Cette efficacité pharmacologique des métabolites secondaires s'est traduite par le développement de médicaments majeurs sur les 30 dernières années, tel que le Taxotère (Sanofi-Aventis), ou la Vinorelbine (Pierre Fabre Médicaments) utilisés dans le traitement de certains cancers.

I.2 Synthèse de métabolites secondaires chez les végétaux

De nombreuses familles de métabolites secondaires ont fait l'objet de recherches actives lors des 30 dernières années et certains processus de synthèse sont aujourd'hui bien décrits, comme dans le cas des flavonoïdes (Pfeiffer and Hegedus, 2011 ; Tanaka et al., 2008), des dérivés d'acide caféique (Weng and Chapple, 2010), des coumarines et furocoumarines, des terpènes et stérols (Lee et al., 2012), ou de certains alcaloïdes (Jirschitzka et al., 2012). Cependant, dans la mesure où les plantes élaborent des dizaines de milliers de composés secondaires, de nombreuses voies restent encore à découvrir aujourd'hui. L'organisation de la synthèse des métabolites secondaires est schématisée au travers de l'exemple des furocoumarines, molécules de défenses bien connues de la famille des Apiacées (céleri, persil, panais, etc.) (Bourgaud et al., 2006). D'une manière générale les stress environnementaux, qu'ils soient biotiques ou abiotiques, provoquent des cascades réactionnelles conduisant à la transcription de certains.

I.3 Fonctions des métabolites secondaires :

Les métabolites secondaires ne sont pas vitaux pour l'organisme mais jouent nécessairement un rôle important de par la machinerie enzymatique complexe nécessaire à leur production. Ils ont des rôles écologiques (allomone, phéromone...). Ces molécules furent sélectionnées au cours de l'évolution pour l'interaction qu'elles ont avec un récepteur d'un autre organisme. Elles représentent donc une grande source potentielle d'agents thérapeutiques (Thomas, 2009).

Ils pourraient jouer un rôle dans la défense contre les herbivores, et dans les relations entre les plantes et leur environnement : plusieurs composés phénoliques participent à la filtration des UV, les pigments floraux sont essentiels aux processus de pollinisation Bruneton, J., (1999).

I.4 Classification des métabolites secondaires :

Les métabolites secondaires sont produits en très faible quantité, il existe plus de 200 000 métabolites secondaires classés selon leur appartenance chimique en l'occurrence, les terpènes, les alcaloïdes, les composés acétyléniques, les cires, et les composés phénoliques (Cuendet, 1999 ; Vermerris, 2006). On distingue trois classes principales.

I.4.1 Les composés phénoliques :

Les composés phénoliques ou les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des plantes, largement distribués possédant plusieurs groupements phénoliques, avec ou non d'autres fonctions et comportant au moins 8000 structures connues différentes (Bahorun, 1997), allant de molécules phénoliques simples de bas poids moléculaire tels que, les acides phénoliques à des composés hautement polymérisés comme les tannins. Ils font partie intégrante de l'alimentation humaine et animale (Martin et Andriantsitohaina, 2002). Les composés phénoliques sont des molécules hydrosolubles présentes dans tous les végétaux. Ils ont divers effets sur la physiologie végétale de par leurs actions antibactériennes et antifongiques. Ils participent à la pigmentation des fleurs, des légumes et de quelques fruits

(Raisins, agrumes, etc...). Certains d'entre eux sont responsables d'amertume et d'astringence (Adrian et al, 1991 ; Milane, 2004). Les fonctions principales attribuées à ces composés chez les végétaux sont la protection contre les pathogènes et les herbivores ainsi que la limitation des dommages dus aux radiations UV. Dans ce cas, ils agissent par effet d'écran et par effet antioxydant (Lebham, 2005).

I.4.1.1 Classification des composés phénoliques :**I.4.1.1.1 Les acides phénoliques**

Ils ne possèdent pas de squelette flavane. Ils sont solubles dans l'éther. Ils peuvent être associés à la lignine, présents sous forme d'ester, ou bien localisés dans la partie de la feuille insoluble dans l'alcool (Barboni, 2006). Ils présentent des propriétés biologiques intéressantes: anti-inflammatoires, antiseptiques urinaire, antiradicalaires, cholagogues, hépatoprotecteurs, cholérétiques, immunostimulants (Bruneton, 1999). On distingue : Les dérivés de l'acide benzoïque (constitués d'un squelette à sept carbones). Les dérivés d'esters hydroxycinnamiques (constitués d'une structure de type C6-C3) (Barboni, 2006).

➤ Les acides benzoïques

Les acides benzoïques sont formés d'un squelette à sept atomes de carbones. Ils sont principalement représentés par les acides p-hydroxybenzoïques, protocatéchiques, vanilliques, galliques, syringiques, salicyliques, o-hydroxybenzoïques et gentsiques.

Les acides protocatéchiques et galliques (Figure4) ont probablement une origine et des fonctions différentes dans la plante. Le premier est très largement répandu, le second est plus rare, on le rencontre dans la nature surtout sous forme de dimère (Ribereau, 1968).

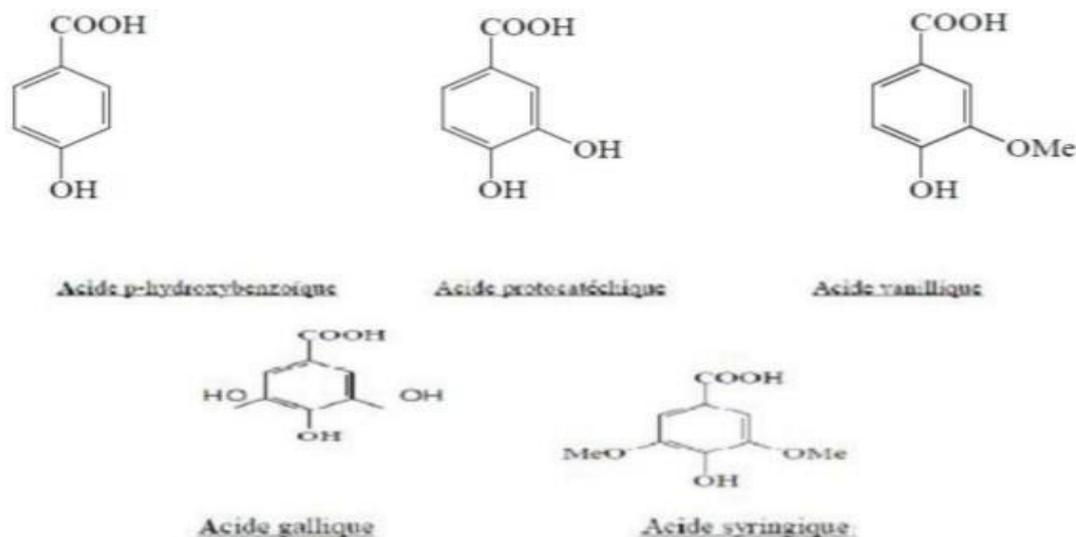


Figure 8: Quelques dérivés de l'acide hydroxybenzoïque.

➤ Les acides cinnamiques

Ces acides possèdent une structure du type C6-C3. Les composés les plus fréquents sont l'acide p-coumarique, l'acide caféique, l'acide fertarique et l'acide cinnamique (Ribereau, 1968).

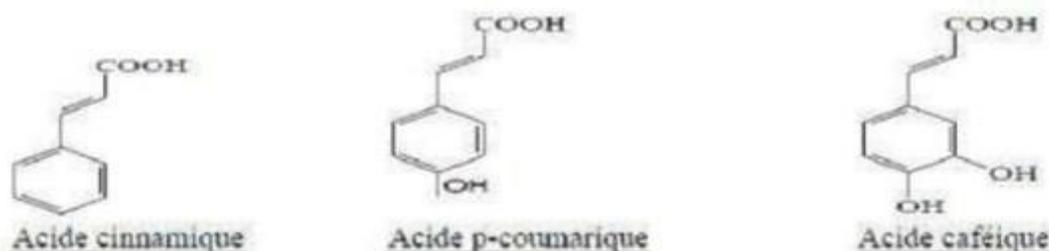


Figure 9: Quelques dérivés de l'acide hydroxycinnamique.

I.4.1.1.2 Les coumarines :

Les coumarines sont parmi les composés phénoliques les plus connus (Figure 6). Elles sont substituées en C-7 par un hydroxyle. La 7-hydroxycoumarine, connue sous le nom d'ombelliférone, est le précurseur des coumarines 6,7-di- et 6, 7,8-trihydroxylées. Les coumarines, de différents types, se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses. Elles sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes (Igor, 2002).

Les coumarines sont connues par leurs activités cytotoxiques, antivirales, immunostimulantes, tranquillisantes, vasodilatatrices, anticoagulantes (au niveau du cœur), hypotensives, elles sont également bénéfiques en cas d'affections cutanées (Gonzalez et Estevez-Braun, 1997).

I.4.1.1.3 Les quinones :

Ce sont des substances colorées et brillantes, en général rouges, jaunes ou orange et possédant deux fonctions cétones. On trouve les quinones dans les végétaux, les champignons, les bactéries. Les organismes animaux contiennent également des quinones, comme par exemple la vitamine K, qui est impliquée dans la coagulation du sang. Les quinones sont utilisées dans les colorants, dans les médicaments et dans les fongicides (Kansole, 2009).

I.4.1.1.4 Les tanins :

Les tanins sont des polyphénols que l'on trouve dans de nombreux végétaux tels que les écorces d'arbre et les fruits (raisin, datte, café, cacao...). Leur structure complexe est formée d'unités répétitives monomériques qui varient par leurs centres asymétriques, leur degré d'oxydation (Hemingway, 1992).

Ces tanins sont des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques produits au cours de la peroxydation. Des radicaux tanniques plus stables sont alors formés, ce qui a pour conséquence de stopper la réaction en chaîne de l'auto oxydation des lipides (Cavin, 1999).

Les tanins sont divisés en deux groupes :

- Les tanins condensés, formés de proanthocyanidines (sous forme d'oligomères)
- Les tanins hydrolysables, esters des acides phénols et de glucose.
 - Propriétés biologiques : Ils découlent essentiellement de leurs propriétés à former des complexes avec les macromolécules. Les propriétés biologiques des tannins sont :"
 - Astringente qui correspond à la précipitation des glycoprotéines. Action C'est la propriété la plus importante des tannins."
 - Action antidiarrhéique : Les tannins vont imperméabiliser les couches externes de la peau et les muqueuses et surtout la muqueuse intestinale d'où cette action."
 - Propriétés « vitaminiques P » qui correspondent à des propriétés Veinotoniques communes à tous les polyphénols."
 - Effet vasoconstricteur notamment au niveau des vaisseaux superficiels"
 - Action antiseptique qui se traduit par des effets antibactériens et antifongiques."

- Piégeurs de radicaux libres comme tous les polyphénols (propriétés antioxydantes). En effet, ils vont inhiber la formation d'ions peroxyde et surtout la peroxydation des lipides et ils vont également inhiber la formation des ions superoxydes."

I.4.1.1.5 Les flavonoïdes :

Occupant une place prépondérante dans le groupe des phénols, les flavonoïdes sont des métabolites secondaires ubiquistes des plantes. On estime que 2 % environ du carbone organique photo-synthétisé par les plantes, soit quelques 109 tonnes par an, est converti en flavonoïdes (Lhuillier, 2007).

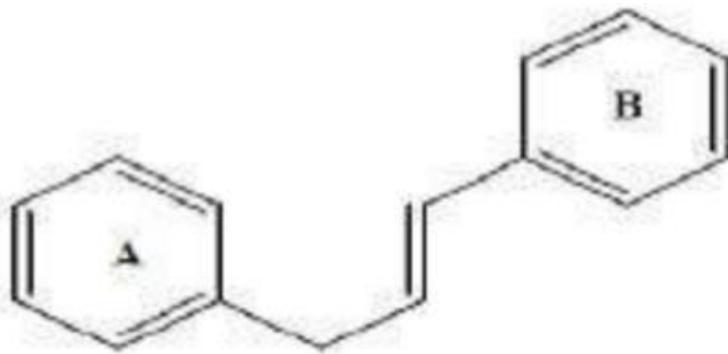


Figure 10: Structure des bases de flavonoïdes

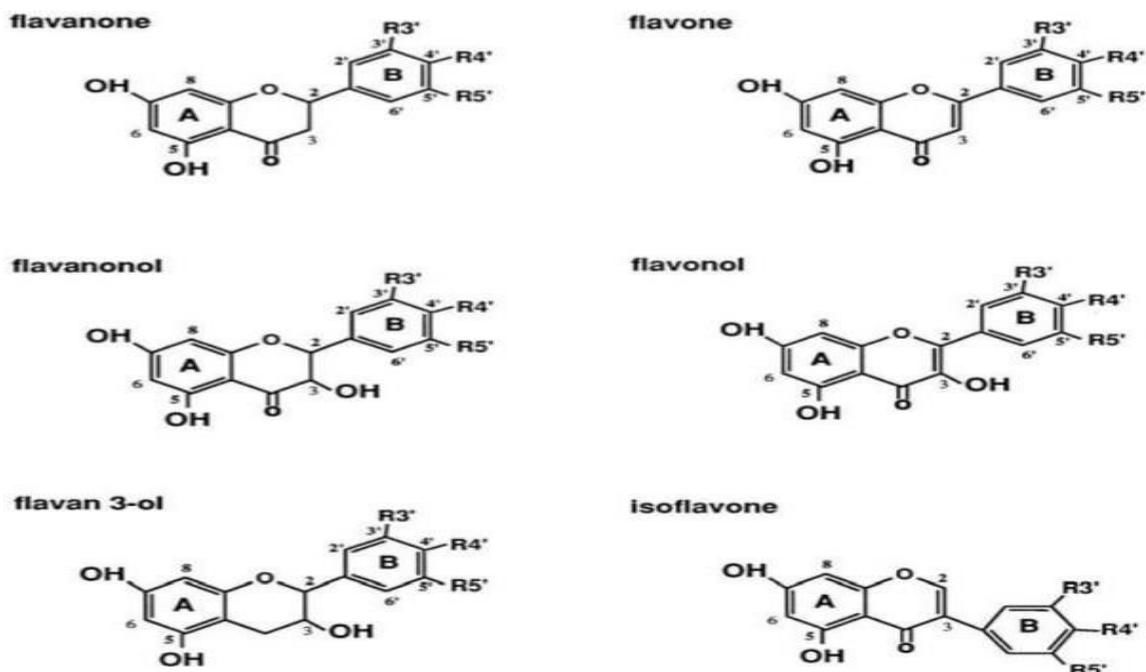


Figure 11: Biosynthèse des flavonoïdes

- **Propriétés biologiques**

La principale propriété initialement reconnue aux flavonoïdes est d'être "veino-actifs", c'est-à-dire capables de diminuer la perméabilité des capillaires sanguins et de renforcer leur résistance (Bruneton, 1999).

De nos jours, les propriétés les flavonoïdes sont largement étudiées dans le domaine médical où on leur reconnaît des activités antivirales, anti-tumorales, anti-inflammatoires, antiallergiques, antioxydantes et anti-cancéreuses. (Middleton et al, 1993).

La famille des flavonoïdes peut se diviser en six classes qui diffèrent par leurs structures chimiques : flavanols, flavones, flavonols, flavanones, isoflavones et anthocyanidines.

I.4.1.1.6 Les anthocyanes

Les anthocyanes (du grec anthos, fleur et Kuanos, bleu violet) terme général qui regroupe les anthocyanidols et leurs dérivés glycosylés. Ces molécules faisant partie de la famille des flavonoïdes et capables d'absorber la lumière visible, ce sont des pigments qui colorent les plantes en bleu, rouge, mauve, rose ou orange. Leur présence dans les plantes est donc détectable à l'œil nu. A l'origine de la couleur des fleurs, des fruits et des baies rouges ou bleues, elles sont généralement localisées dans les vacuoles des cellules épidermiques, qui sont de véritables poches remplis d'eau. On trouve également les anthocyanes dans les racines, tiges, feuilles et graines. En automne, les couleurs caractéristiques des feuilles des arbres sont dues aux anthocyanes et aux carotènes qui ne sont plus masqués par la chlorophylle (Bassas et al, 2007).

- **Structures**

Leur structure de base est caractérisée par un noyau "flavon" généralement glucosylé en position C3. Les anthocyanes se différencient par leur degré d'hydroxylation et de méthylation, par la nature, le nombre et la position des oses liés à la molécule. L'aglycone ou anthocyanidine constitue le groupement chromophore du pigment (Bessas et al.,2007).

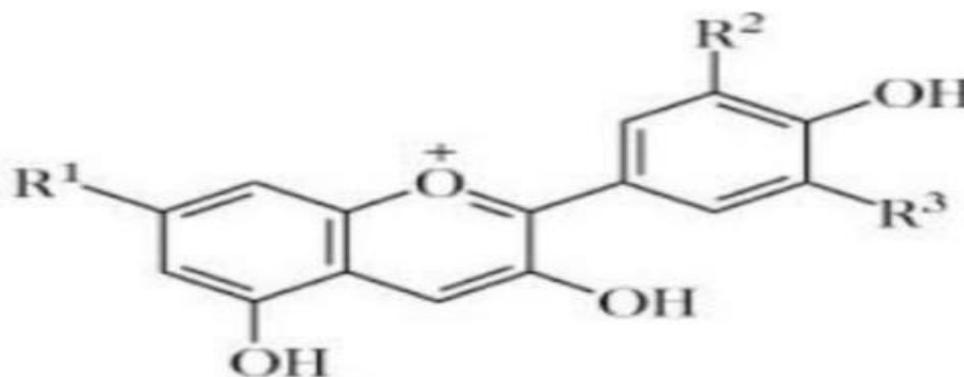


Figure 12: Squelette des anthocyanes

I.4.2 Terpénoïdes :

Les isoprénoïdes sont des composés issus de la condensation d'unités de base à 5 carbones de type isoprène. On parle également de composés terpéniques ou terpenoïdes, l'unité monoterpène correspondant à des molécules à 10 carbones formées à partir de deux unités isoprènes.

De façon analogue à la famille des composés phénoliques, les isoprénoïdes regroupent à la fois des molécules de faibles poids moléculaires, volatiles et composants principaux d'huiles essentielles, et des molécules hautement polymérisées comme par exemple le caoutchouc. Cette voie de biosynthèse donne naissance à de très nombreux métabolites secondaires, mais participe également à la synthèse de composés comme le β -carotène, les chlorophylles, l'ubiquinone ou la plastoquinone, qu'on ne positionne généralement pas dans le métabolisme secondaire (Harbone, 1998 ; Bruneton, 1999).

- **Importance des Terpénoïdes :**

Constituants des huiles et des extraits Ingrédients dans les savons, parfums médicaments ... (l'exemple le plus courant est le camphre disponible à l'état solide, introduit par l'Orient en Europe depuis environ 11 siècles). Agents naturels anti HIV, Insecticides, fongicides, antiappétants pour les insectes, Antitumoraux (taxol) ainsi que des agents modulateurs de la MDR.

Les sesquiterpènes lactones (Asteraceae, Apiaceae) sont particulièrement actifs

- + Antifongiques.
- + Cytotoxiques.
- + Antibactériens.
- + Antitumoraux.
- + Anti-inflammatoires.

Les triterpènes entrent dans la production de médicaments stéroïdiques ayant Des propriétés : contraceptives, anabolisantes, anti-inflammatoires... (D. dehak k avrile 2013).

I.4.3 Les stérols :

Alcools à noyaux cyclopentoperhydrophénanthréniques. On les trouve chez les végétaux, sous forme d'esters : les stérides, ou combinés à des sucres sous forme d'hétérosides :

- + Stérols libres : comme ergostérol de l'Ergot de seigle et de la levure de bière.
- + Hétérosides : Digitales, Scilles (à l'activité cardiotonique ++).
- + Stéroïdes : Dioscoréa, Agave ...

Les monocotylédones semblent plus riches en stérols que les dicotylédones : on les trouve dans la fraction lipidique que l'on peut extraire des végétaux par les solvants organiques non polaires.

Actions importantes :

- ✚ L'ergostérol est la provitamine D2
- ✚ Le sitostérol des céréales est employé contre l'artériosclérose
- ✚ Le stigmastérol sert de matière première pour la synthèse des corticostéroïdes (Jean Yves Henry).

I.4.4 Les alcaloïdes :

Les alcaloïdes Un alcaloïde est un composé organique d'origine naturelle (le plus souvent végétale), azoté, plus ou moins basique, de distribution restreinte et doté, à faible dose de propriétés pharmacologiques marquées. Le regroupement d'un tel ensemble est par ailleurs confirmé par des réactions communes de précipitation avec les « réactifs généraux des alcaloïdes » (Bruneton., 2009).

I.4.4.1 Distribution des alcaloïdes :

Les alcaloïdes sont présents essentiellement chez les Angiospermes dont la plupart sont des Dicotylédones. Cependant, de nombreux alcaloïdes ont également été trouvés chez des Monocotylédones et même chez des Gymnospermes Ephédra. Les Ptéridophytes sont rarement alcaloïdifères (Bruneton, 2009). Les plantes à alcaloïdes ne renferment que très rarement un seul alcaloïde, même si elles contiennent parfois un composé très majoritaire mais, il n'est pas rare que plusieurs dizaines d'alcaloïdes soient présents dans une même drogue. Généralement, tous les alcaloïdes d'une même plante ont une origine biogénétique commune, et ils existent généralement sous la forme, soluble, de sels d'acides végétaux (citrates, malates, tartrates, benzoates...etc.) ou sous celle d'une combinaison avec les tanins (Bruneton, 2009). Les alcaloïdes sont exceptionnels chez les bactéries et assez rares chez les champignons (Bruneton, 2009). Les structures alcaloïdiques existent aussi rarement chez les animaux. Dans certains cas, ce sont des produits formés à partir des alcaloïdes contenus dans les végétaux inclus dans la ration alimentaire de l'animal et dans d'autres cas, ils semblent être des produits du métabolisme de l'animal, c'est en particulier le cas chez des Amphibiens Urodèles ou Anoures (Krief, 2003 ; Bruneton, 2009).

I.4.4.2 Localisation des alcaloïdes :

La synthèse des alcaloïdes s'effectue généralement dans des sites précis (racines en croissance, cellules spécialisées de laticifère... etc.). Ils sont ensuite transportés dans leurs sites de stockage.

Les alcaloïdes sont le plus souvent localisés dans les tissus périphériques ; assises externes des écorces de tige et de racine, téguments des graines et rarement dans les tissus morts. Au niveau cellulaire, la synthèse des alcaloïdes a lieu au niveau du réticulum endoplasmique et le stockage dans les vacuoles (Krief, 2003).

La nature et la teneur en alcaloïdes peut être très inégale selon les organes d'une même plante certains pouvant en être dépourvus (Bruneton, 2009).

I.4.4.3 Intérêts des alcaloïdes :

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

Leurs propriétés pharmacologiques concernent des domaines variés ;

- ✚ Dépresseurs (morphine, scopolamine) ou stimulants (caféine, strychnine) au niveau du système nerveux central.
- ✚ Sympathomimétiques (éphédrine), parasymphomimétique (pilocarpine) au niveau de système nerveux autonome.
- ✚ Anesthésiques locaux (cocaïne), antipyrétique (quinidine), anti-tumoraux (ellipticine), antipaludiques (quinine)...etc. (Bruneton, 2009).

Chapitre 3 :

Les Activités biologiques

Chapitre 3 : les activités biologiques

I Les activités biologiques

I.1 Activité antibactérienne :

I.1.1 Généralités :

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaire classés parmi les procaryotes car ils ne possèdent pas de membrane nucléaire. Ce caractère les distingue des autres organismes unicellulaires classés parmi les eucaryotes (champignons, algues, protozoaires) elles sont divisées en bactéries proprement dites (Bactéria) et bactéries primitives (Archea). Toutes les bactéries rencontrées en pathologie appartiennent aux Bactérie.

Les bactéries ont généralement un diamètre inférieur à $1\ \mu\text{m}$. On peut les voir au microscope optique, à l'état frais ou après colorations, leur forme peut être sphérique (cocci). En bâtonnet (Bacilles) incurvée (Vibrions) ou spiralée (Spirochètes). Les détails de leur structure ne sont visibles qu'au microscope électronique (Nauciel et Vildé, 2005).

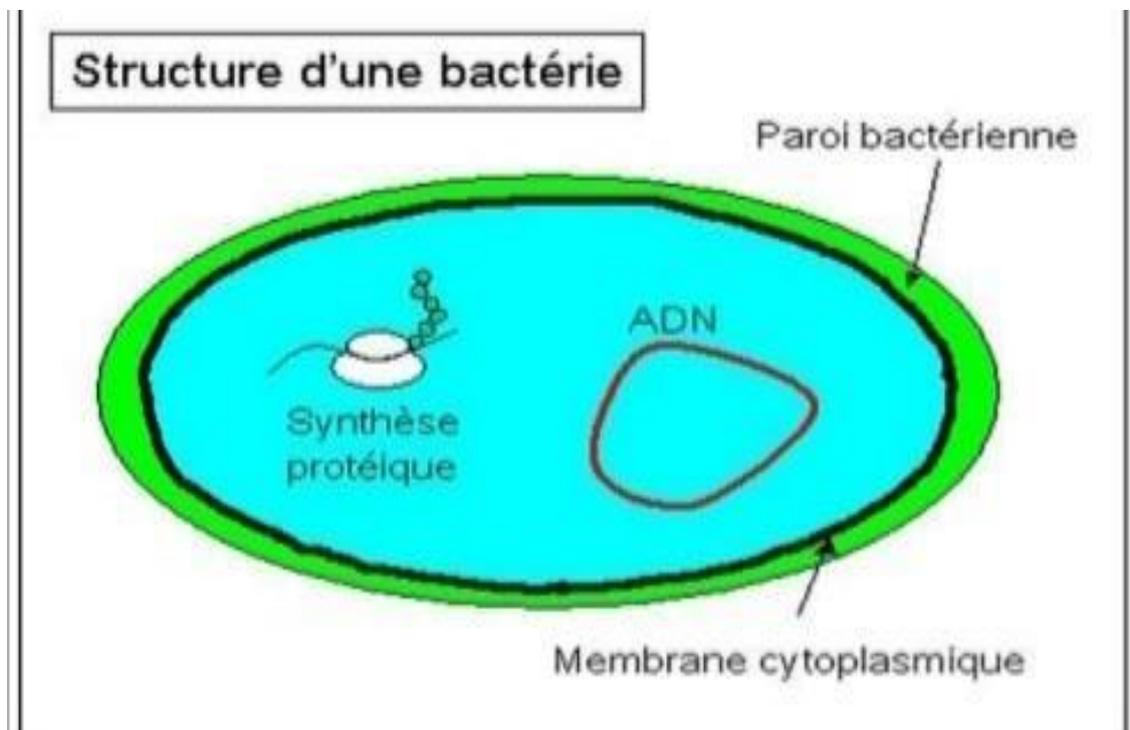


Figure 13: Structure de bactérie

I.1.2 Culture des bactéries :

On utilise habituellement pour cultiver les bactéries des milieux complexes à base d'extraits d'hydrolysats enzymatique de viandes. Ces milieux peuvent être liquide (Bouillons) ou solides, la solidification des milieux est obtenue par l'addition de l'agar, un extrait d'algues qui a la propriété de fondre à l'ébullition et se solidifier à des températures inférieures à 40°C.

En milieu liquide, les bactéries se dispersent librement et leur multiplication se traduit par un trouble, les plus souvent homogène sur un milieu solide lorsque la quantité de bactéries est faible chaque bactérie va pouvoir se multiplier sur place jusqu'à former un amas de bactérie visible à l'œil nu, que l'on appelle colonie (si la densité bactérienne est trop élevée dans l'échantillon ensemencé, les colonies sont confluentes et forment une nappe). L'emploi de milieux solides permet ainsi le dénombrement des bactéries visibles dans un échantillon (Naucléel et Vildé, 2005).

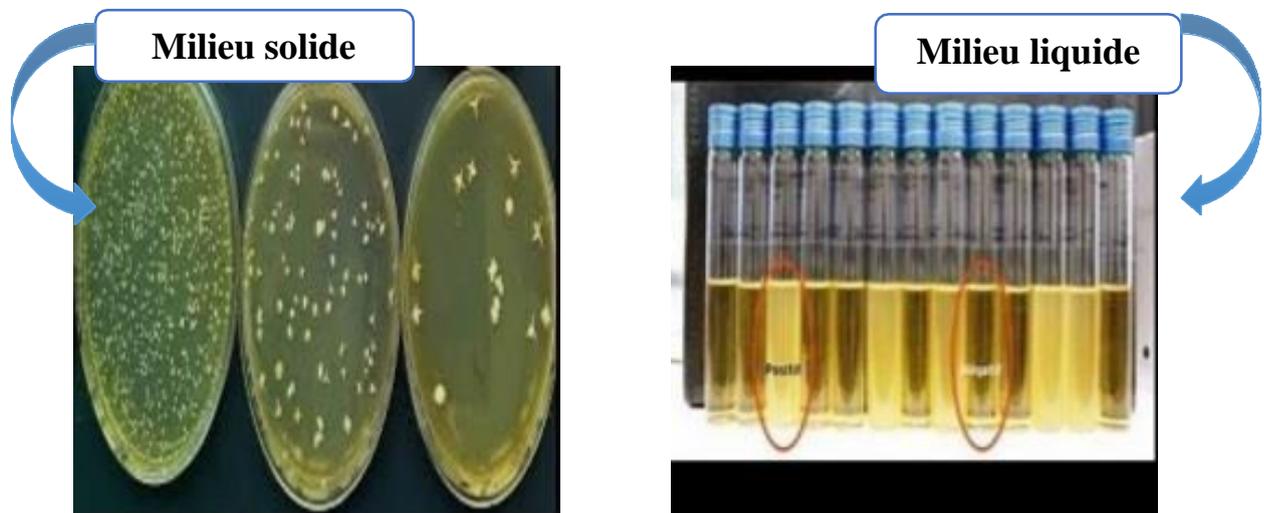


Figure 14: Culture des bactéries dans deux milieux.

I.1.3 Description de bactéries étudiées :

Souches microbiennes expérimentées

- **Staphylococcus aureus** : Elle est responsable d'intoxications alimentaires, d'infections localisées suppurées, et dans certains cas extrêmes de septicémies chez des sujets ayant subi une greffe ou avec une prothèse cardiaque (Delphine, 2008).
- **Bacillus subtilis** : Largement présente dans la nature, elle fait également partie de la flore intestinale microbienne, et est généralement sans danger dans les bonnes conditions de manipulation, et peut être utilisée sans aucun problème dans les laboratoires d'analyse (Danja, 2016).
- **Escherichia coli** : Une bactérie caractérisée par une sporulation non facultative anaérobie, elle se trouve dans l'intestin et les selles des animaux et des reptiles à sangs chauds et le microbiote intestinal (Tenailon, 2010).

Néanmoins, certaines souches d'*E. coli* ont été répertoriées comme pathogènes pour l'Homme car responsables d'affections variées allant d'une simple diarrhée à des infections systémiques parfois mortelles (Dunière et al., 2012).

- ***Pseudomonas aeruginosa*** : C'est l'agent le plus pathogène courant provoquant une infection chronique (Pressler, 2011).

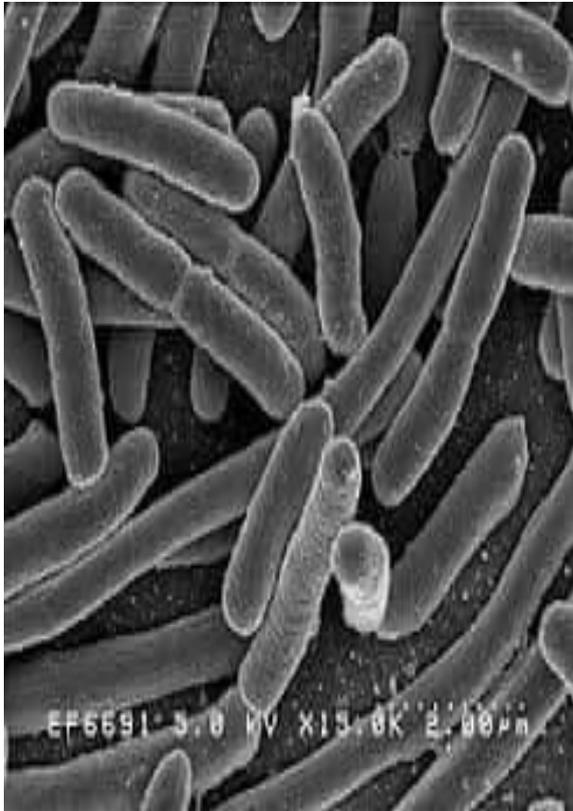


Figure 15: Bactérie *Escherichia coli*.



Figure 16: Bactérie *staphylococcus aureus*.



Figure 17: Bactérie *Bacillus subtilis*.



Figure 18: *Pseudomonas aeruginosa*.

I.2 Activité antifongique :

Les antifongiques (ou antifungiques) tirent leur nom du latin fungus qui signifie champignons, ce sont donc des médicaments capables de traiter les mycoses, c'est à- dire les infections provoquées par des champignons microscopiques

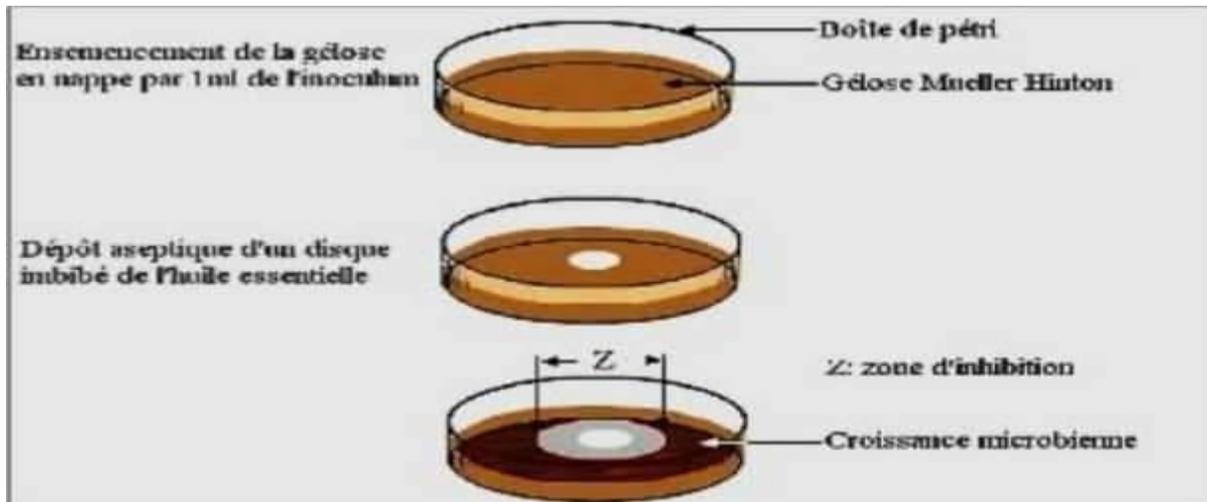


Figure 19: Les étapes de l'activité antifongique.

✓ Comment agissent les antifongiques ?

Un antifongique agira :

- Soit en s'attaquant directement à la paroi fongique, provoquant ainsi la mort de la cellule (action fongicide)
- Soit en bloquant la division cellulaire arrêtant ainsi les reproductions des champignons (action fongistatique) (Tr Harrison, éd Flammarion).

I.2.1 Les levures étudiées :

- **Saccharomyces cerevisiae** : est un genre de champignons ascomycètes ne donnant pas de mycélium (levures) et comprenant un grand nombre d'espèces utilisées dans l'industrie alimentaire comme agents de fermentation.

Est l'espèce la plus connue, certaines souches servent à la fabrication de la levure de bière employée pour l'ensemencement de liqueurs sucrées, destinées à fabriquer la bière ; et d'autres souches servent à la fabrication de la levure de boulanger utilisée dans la fabrication du pain. Les préparations commerciales d'ultra levure contiennent une autre levure *Saccharomyces boulardii* utilisée comme probiotique.



Figure 20: Saccharomyces cerevisiae.

- **Candida albicans** : est un genre de levures (dont l'espèce la plus importante est *Candida albicans*) qui est répandu dans tout le monde habité et forme normalement un commensal parfaitement toléré par l'homme sain dans la bouche, sur la peau, dans le système digestif et dans la flore vaginale, en fonction des espèces. Champignon pathogène, il provoque parfois des mycoses (candidiase ou candidose) chez les humains et d'autres animaux quand l'organisme est affaibli.

Les espèces de *Candida* peuvent provoquer des infections assez bénignes, comme le muguet buccal chez l'enfant ou la candidose vulvo-vaginale chez la femme. Chez les patients dont le système immunitaire est affaibli, par exemple les patients recevant une chimiothérapie contre le cancer ou les patients atteints par le SIDA, les *Candida* peuvent provoquer des infections plus graves, comme des septicémies ou des candidoses digestives.

Dans l'immense majorité des cas pathologiques, c'est *Candida albicans* qui est en cause, mais sont également importants : *Candida pseudotropicalis*, cosmopolite comme le premier, *Candida tropicalis* plus fréquemment à l'origine des candidoses des zones intertropicales chaudes et humides, *Candida parapsilosis* et *Candida guilliermondii*.



Figure 21: Candida albicans

Deuxième Partie :
Etude
expérimentale

Chapitre 01

Matériels

Et

Méthodes

Chapitre 1 : matériels et méthodes

I Matérielles et méthodes :

I.1 Matérielle végétale :

Le matériel végétal est constitué des fleurs sèches de *Hibiscus sabdariffa* et les feuilles d'*Atriplex Halimus L*, obtenus à partir des phytothérapeutes de wilaya de Blida.



Figure 22: Hibiscus Sabdariffa L



Figure 23: Atriplex halimus L

I.1.1 Macération De La Matière Végétale

La macération est une opération qui consiste à laisser la poudre de matériel végétal en contact prolongé avec un solvant, pour extraire les principaux actifs.

Le protocole d'extraction est le même pour les deux espèces

On prend :

- 1g du poids sec en poudre de chaque organe des deux espèces dans 50 ml S.M (solution méthanolique).
- 0,5 du poids sec en poudre de chaque organe des 2 espèces dans 20 ML de solutions chloro formique.
- 0,5 g du poids sec en poudre de chaque des 2 espèces dans 10 ML de H₂SO₄ à 10% et on agite 3 min.

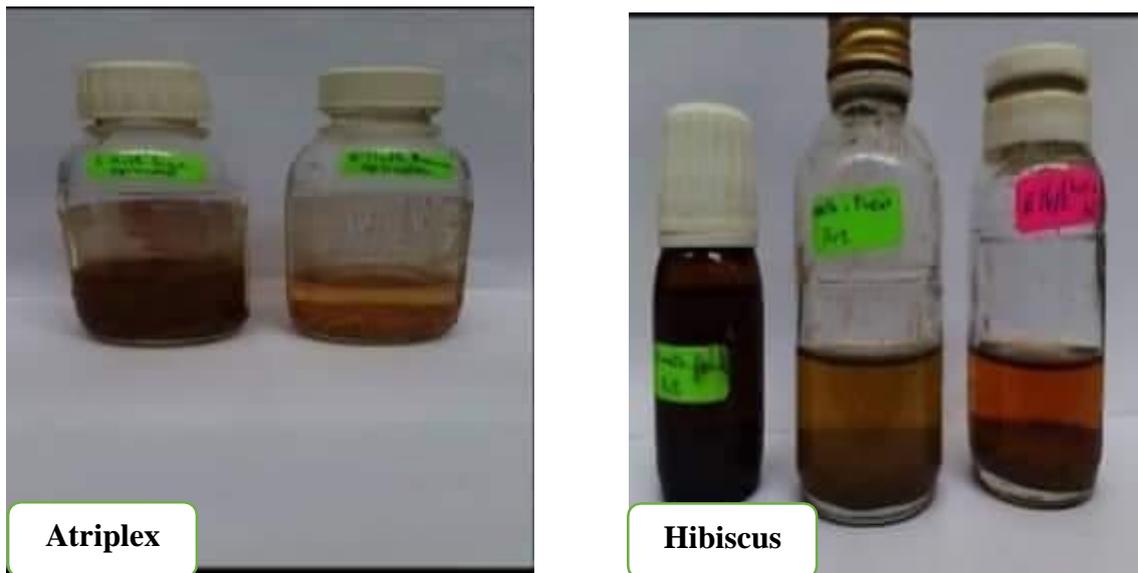


Figure 24: Méceration de la matière végétale de chaque espèce pour les tests.

- On a laissé macérés dans des flacons de petite taille pendant 2 jours 48 h avec agitation douce de temps à autre.

I.1.2 Extraction :

La méthode d'extraction que nous avons adaptée est la macération successive par solvants MEOH (70%), La quantité de solvant doit être appropriée à la quantité de matière végétale à extraire dans notre cas.

- 10 g de plantes hibiscus sabdariffa et 10 g de la plante Atriplex halimus sont broyés et extraits par 100 ml de MEOH (70%), L'extraction est effectuée avec agitation continue et en une température ambiante pendant 24h après filtration sur papier filtre à l'aide d'un entonnoir, les filtrats sont additionnés et concentrés à sec par évaporation relative.

Cette extraction a permis d'obtenir un extrait organique brut qui sera récupéré dans des boîtes de pétri stériles puis conservé jusqu'à l'utilisation.



Figure 25: Filtration de l'extrait par rotavapeur de l'espèce Hibiscus Sabdariffa



Figure 26: Filtration de l'extrait par rotavapeur de l'espèce Atriplex halimus.

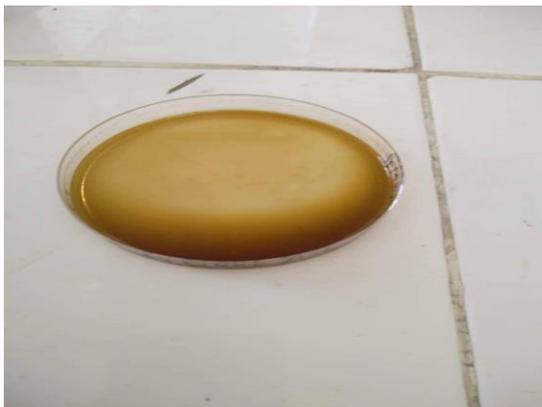


Figure 27: Extraits brutes concentrés de deux plantes.

I.2 Tests phytochimiques :

Les tests phytochimiques sont des techniques qui permettent de déterminer le différent groupe chimique contenu dans un organe végétal, ce sont des réactions phytochimiques qui peuvent identifier la présence des substances chimiques.

Et il existe plusieurs groupes phytochimiques dont les principaux sont :

- ✚ Les alcaloïdes
- ✚ Les polyphénols (flavonoïdes, tannins, quinone, anthraquinones...etc.)
- ✚ Les terpènes
- ✚ Les stéroïdes

I.2.1 Détection de polyphénols

Elles se réalisent à partir 2ml de l'extrait méthanolique de la plante Hibiscus Sabdariffa et de l'Atriplex Halimus Qui seront répartie bandit type étiquettes par organe, puis on ajoute une goutte Des solutions aqueuses de chlore féérique f e cl 3 À 5%, la lecture se fera en quelques minutes, qui montera des polyphénols par l'apparition de d'une couleur bleu noir être au vert.

I.2.1.1 Détection de quinones :

Celle-ci utilisent des extrait d'éther au quel, on rajoute du NOH aqueux et on agite durant 5min, la présence des quinones est confirmée par un virage de la phase aqueuse au faune paille (Ribérreau. 1968).

I.2.1.2 Détection des Anthraquinones :

L'extraie de chloroforme de chaque organe des 2 espèces auquel on rajoute KOH aqueux, après agitation de 5 min, la phase aqueuse Un coloration rouge ou rose qui indique la présence des anthraquinones (Riza, 1982).

I.2.1.3 Détection des flavonoïdes :

Un mélange de 2 ml d'extrait méthanolique et de quelques goutte d'HCL Avec 4 tournures de mg Place dans un tube à essai Durand 3 min, l'apparition 2 la coloration rose, rouge au orange indique la présence des flavonoïdes (Menaces,et pamelio,2003).

I.2.1.4 Détection des Anthocyanes :**✓ Test de Bate -smith :**

Traiter les extraits méthanolique Avec h cl concentré puis place au bain-marie pendant 30 min un 70°C, La présence d'anthocyanes est confirmée par l'apparition d'un couleur rouge ou brune.

I.2.1.5 Détection des tannins :

Les tannins sont Mise en évidence à partir de 1 ml d'extrait végétal étudier, placez dans un tube à essai En présence de quelques gouttes de Fecl3 1% (Préparer au méthanol), Après agitation de l'extrait de quelques minutes la couleur vire :

✚ Au bleu noir en présence de tannin gallique.

✚ Eau brune verdet en présence de tannin caté chique (karumé et Al ,2004).

I.2.2 Détection des Alcaloïdes :

Pour mettre en évidence les alcaloïdes, le réactif de Mayer A été préparé dans un flacon opaque :

- 1 g de poudre végétal de chaque organe dont deux espèces. On ajoute H₂SO₄ à 10%, on agite 3 min puis le filtrat et diviser dans trois tubes à essais :
- Tube 1 : témoin, Contenant uniquement l'extrait végétal.
- Tube 2 : On ajoute 4 gouttes de dragendroff.
- Tube 3 : on ajoute 3 gouttes de Mayer.

La présence des alcaloïdes a été confirmée par les réactions suivantes :

- Un précipite blanc pour le réactif de Mayer.
- Un précipite orange pour le réactive de dragondroff.



Figure 28: Réactif utilisés pour la détection alcaloïdes.

I.2.3 Détection des stérols et triterpens :

En met quelques millimètres d'extraits de chaque organe des 2 espèces, Hibiscus Sabdariffa et Atriplex Halimus banc des boîtes a pétrie on a laissé Si j'ai pendant 24h à la température ambiante, puis dissoudre le produit dans 12 ml de chloroforme, puis repartir le filtrat dans 4 tubes a essais :

- Tube 1 : **Témoin**
- Tube 2 : **Test De Salkowski**

On ajoute 4 gouttes H₂SO₄, le changement de coloration et immédiatement un anneau Rouge indique la présence des stéroïdes insaturés.

➤ Tube 3 : **Test De Libermaun-Burchard :**

Additions de 3 gouttes de l'anhydride, Après agitation on rajoute un goutte H₂SO₄ concentré, le changement est observé en 1h : la coloration bleu vert indique la présence stéroïde Tendit que le rouge violette dératée la présence des triterpens.

➤ Tube 4 : **Test De Badjet-Keddas :**

Addition de quelques graines d'acide pratique l'apparition d'un coloration orange montre des stéroïdes lactonique.



Figure 29: La première étape pour détecter les stérols, stéroïdes, triterpènes.

I.2.4 Détection de coumarines :

✚ Test de Détection :

1 g de matériel végétal on poudre et mélanger dans 10 ml de chloroforme après une agitation de quelques minutes et une filtration dans de coton dans un entonnoir, ce filtrat est soumis à une CCM.

La phase mobile est le mélange de toluène et d'acétate d'éthylène à 18ml et 7ml chacun.

La révélation des plaques se réalisent sous une lampe UV à la longueur d'onde utilisez 254 nm et 365nm (Erik et al,2008).



Figure 30: Le développement du chromatogramme.

I.2.5 Chromatographie sur couche mince

I.2.5.1 Principe

Chromatographie d'adsorption sur couche mince permet d'analyser l'avancement d'une réaction (Erika Bourquet, 2008).

Lorsque la plaque sur laquelle on a déposé l'échantillon est placée dans la cuve, l'éluant (phase mobile) monte à travers l'adsorbant (phase fixe) essentiellement par capillarité. Elle repose sur le phénomène d'adsorption.

Les composés migrent à une vitesse qui dépend de leur nature et de la nature des deux phases.

Elle comprend :

- ✓ **La phase fixe** : Une couche mince d'une matière absorbante gel de silice fixée sur une plaque en aluminium.
- ✓ **La phase mobile ou éluant** : un solvant ou un mélange de solvants qui va entraîner les composés à séparer le long de la phase fixe.

Tableau 1: Les différents systèmes solvants utilisés pour la CCM.

	Systèmes solvants	Proportions
Systèmes essayés	1-Acétate d'éthyle /Méthanol/Eau. 2-Chloroforme/Méthanol.	(11/2/1 ; v/v)
	3-Ether de pétrole/Acétate d'éthyle.	(10/2 ; v/v)
	4-Butanol/Acide acétique/Eau	(16/4 ; v/v)
		(4/1/5 ; v/v)
Systèmes choisis	1-Acétate d'éthyle/Méthanol/Eau. 4-Butanol/Acide acétique/Eau.	(11/2/1 ; v/v)
		(4/1/5 ; v/v)

I.2.5.2 Dépôt de l'échantillon

L'échantillon est dilué dans un solvant volatil, qui est déposée à l'aide d'une pipette pasteur sur un point qui se situe à environ 1cm de la bordure inférieure de la plaque. Le dépôt doit être effectué de façon homogène. (Cours de Me BOUCHOUKH).

I.2.5.3 Développement de la plaque

C'est la migration de l'éluant à travers la plaque.

- ✚ On doit préparer la cuve, elle doit être préalablement saturée de la vapeur de l'éluant.
- ✚ On à placer la plaque dans la cuve verticalement.
- ✚ La cuve doit rester fermée et ne pas être déplacée durant le développement de la plaque.
- ✚ Lorsque le front du solvant (le trait qui représente la migration de l'éluant dans la plaque) arrive à environ 2cm de l'extrémité supérieure de la plaque, on à retirer cette dernière de la cuve et on à marquer avec un crayon le front du solvant avant l'évaporation de l'éluant.

La plaque est séchée à l'air libre. (Cours de Me BOUCHOUKH)

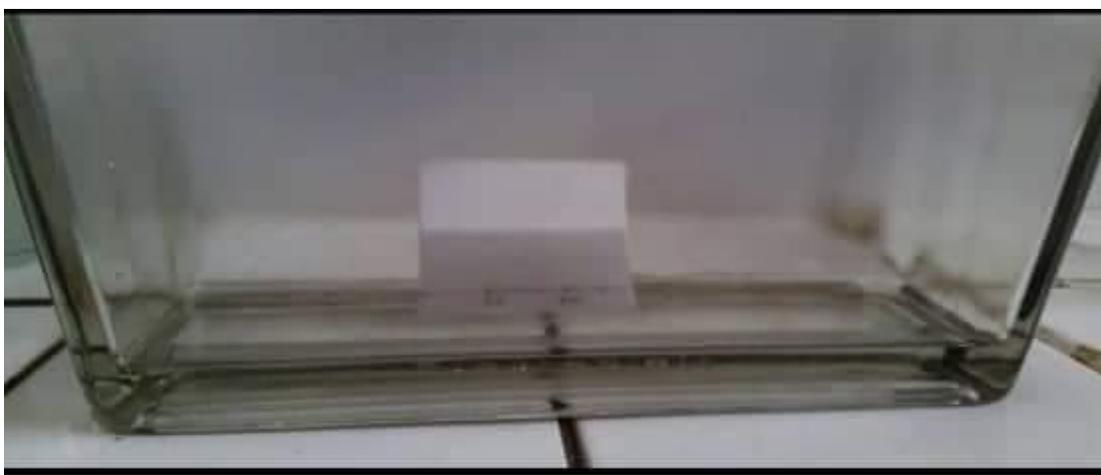


Figure 31: Le développement de la plaque.

I.2.5.4 Révélation

➤ Révélation par UV :

La révélation des plaques se réalise sous une lampe UV à la longueur d'onde utilisée 254 et 365nm (Erik et Al., 2008). Si la plaque est fluorescente, sous une lampe UV, toute la plaque apparaît verte sauf là où sont les taches que l'on entoure au crayon.

Les dérivés aromatiques absorbent dans l'UV. Placer la plaque sous une lampe UV et entourer les taches colorées (Levine S.G.,1990).

I.3 ACTIVITES BIOLOGIQUES

I.3.1 Activité antibactérienne

Pour évaluer cette activité, nous avons opté l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique qui a été testé in-vitro par la méthode de diffusion sur gélose (Celiktas et al., 2007) et (Sacchetti et al., 2005).

Les souches utilisées pour déceler l'activité antibactérienne des extraits d'Hibiscus Sabdariffa L et Atriplex Halimus L. sont quatre souches :

Tableau 2: Souches testés dans l'activité antibactérienne

Les souches	Milieux de conservations	Les durées	Grams	Température	ATTC
Bacillus Subtilis	Eau physiologique	18_24 heures	+	36+- 1°c	6633
Staphylococcus aureus	Eau physiologique	18_24 heures	+	36+- 1°c	6538
Pseudomonas aeruginosa	Eau physiologique	18_24heures	-	36+- 1°c	9027
Escherichia coli	Eau physiologique	18_24heures	-	36+- 1°c	8739

I.3.1.1 Echantillonnage

Nous avons choisi deux espèces des plantes médicinales communes.

- **Hibiscus Sabdariffa L. (Famille : Malvacée).** Nommée localement **Karkadée**
- **Atriplex Halimus. (Famille : chénopodiacée).** Nommée localement arroche halim et pourpier de mer.
- **Autre matériels.**

Dans cette expérimentant nous avons utilisés les matériels est présenté dans le tableau ci-dessous.

Tableau 3: Représente les matériels utilisés.

Verreries	Appareils	produits
Boîtes de pétris	Bain Marie	Eau distillée
Erlenmeyer	Autoclave	Méthanol
Entonnoir	Étuve	Méthanol
Bécher	Bec benzène	Eau physiologique
Pissette	Balance de précision	Milieu TSA(poudre)
Papier filtre	Agitateur	Milieu sabereud(poudre)
Tubes à essai	Rota vape	Milieu MH(poudre)
Falcon	La haute. Pince	Torchant

1.3.1.2 Préparation de milieu de culture

Dans notre travail nous avons utilisé comme milieu de culture, La gélose Mueller-Hinton pour l'étude de la sensibilité des bactéries et le milieu Sabereud pour l'étude de la sensibilité des levures et le milieu TSA pour cultiver les souches bactériennes.

- ✚ Agitation de 40g de MH pour 1000ml d'eau distillée
- ✚ Agitation du 48.75g de Sabereud pour 750ml d'eau distillée.
- ✚ Agitation du 20g de TSA pour 500ml d'eau distillée.
- ✚ Verser les milieux dans des flacons pour la stérilisation.



Milieu MH



Milieu TSA



Milieu sabereud

Figure 32: Préparation des milieux cultures

I.3.1.3 Préparation de l'inoculum :

Cultiver les 4 souches bactérienne séparément des boîtes de pétris contenant un milieu de (TSA milieu gélosé de peptone de caséine et de Soja) a une Température comprise autres 30 à 35 °c Pendant une durée d'incubation approprié pour chaque souche entre 24 à 48 h pour E. Coli et S. aureus,3-5jours et pour Baccilus. Sebtillus et pseudo. aeroginossa, transfère avec une anse de platine des colonie bien isolée dans des tubes stériles contenant un bouillon non sélectif TSE (solution tampon peptone au chlore de sodium à pH 7).

L'inoculum Doit être utilisé dans les 15 min qui suivent sa préparation à la température ambiante, ou dans les 2h s'il et conserver entre 2 et 8 °c (Pharmacopée Européenne 8,0).

I.3.1.4 Préparation du milieu de culture :

Le milieu culture peut être constitué de 2 couches :

Couler une première couche de 2mm d'épaisseur 15 à 20 ml répartie uniformément dans des boîtes et laissez solidifiées, ensemercer un volume de 50 ml de milieu MH avec un ml de suspension bactérienne friable ment préparer et bien mélanger, puis coulis une 2e couche d'environ 4 ml de milieux encensés en une couche uniforme et lisse, puis lisez solidifier environ 30 min avant leur emploi (Pharmacopée Européenne 8,0)



Figure 33: Payasse de travail au laboratoire de bactériologie.

I.3.1.5 Préparation des disques :

Des disques de 9 millimètres de diamètre en été découpé de papier whatman n°1 Puis autoclavées à 120 °C pendant 15 min à l'aide d'une pince stérile et sous une hôte bien propre et stérilisé, les disques ont été déposés sur la surface des milieux ensemencé et rapidement à l'aide d'une micropipette les disques sont changés par 10 ml de chaque extrait préparé précédemment.

I.3.1.6 Incubation :

L'incubation se fait en 37 °C pendant 18 24h (osato ,2009 modifié) et (Choi et Al.2006), une période de diffusion de 1 à 4h à température ambiante peut être nécessaire afin de réduire les effets dû au décalage de temps entre l'application des solutions sur les disques (Pharmacopée européenne 8. 0) les tests doivent être répétés 3 fois.

I.4 Activité antifongique

Pour la réalisation de l'activité antifongique on a adopté la méthode de diffusion de disques (même méthode de l'activité antimicrobienne).

Ce test est réalisé au niveau du laboratoire microbiologie au société Saidal (Gue de Constantine).

Tableau 4: Préparation des champignons.

Levures	Milieu de culture	Atcc	incubation
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Sabereud	9763	48h
<i>Condida albicans</i>	Saberaud	10231	48h

I.4.1 Application

À l'aide d'une pince stérile les disques sont déposés à la surface d'un milieu ensemencé (étalé) par une suspension fongique. Après diffusion, les boites sont incubées fongique2 jours à 37 °C. Après l'incubation l'effet des extraits se traduit par l'apparition autour de disque d'une zone circulaire transparente correspondant à l'absence de la croissance.

Chapitre 02

Résultats et discussions

Chapitre 2 : résultats et discussion

I Résultats et discussion :

I.1 Screening phytochimique des métabolites secondaires :

La mise en évidence de divers groupes de substance existants dans les deux espèces étudiées a été basée sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactions spécifiques. Les tests de précipitations ont permis de mettre en évidence des différents métabolites secondaires successivement les tannins et les alcaloïdes tandis que les tests de coloration en solution pour mettre en évidence les flavonoïdes, les anthocyanes, les terpènes, les quinones et les anthraquinones.

Les résultats des criblages phytochimique sont résumés dans le tableau

Il révèle la présence ou l'absence d'un groupe de métabolite secondaire

- Réaction positive (+++) très abondant.
- Réaction faiblement positive (++) moyenne.
- Réaction négative (-) Absent.

Les résultats sont consignés dans le tableau ci-dessous :

Métabolite secondaire dans les plantes leur confère la protection contre les bactéries, les champignons et les attaques pesticide et sont donc responsable de l'effet d'activité antimicrobienne contre certains micro-organisme (MARJORIE 1999).

Tableau 5: Mise en évidence de la présence ou l'absence de certaines familles de métabolite secondaire

Métabolite secondaire	Hibiscus Sabdariffa L	Atriplex Halimus L
Polyphénol	++	+
Flavonoïde	+++	+++
Anthocyanes	+++	+
Anthraquinones	-	+
Quinones	-	+
Tanins	-	++
Alcaloïde	-	++
Stérols	+	+
Terpène	+	+

I.1.1 Les polyphénols :

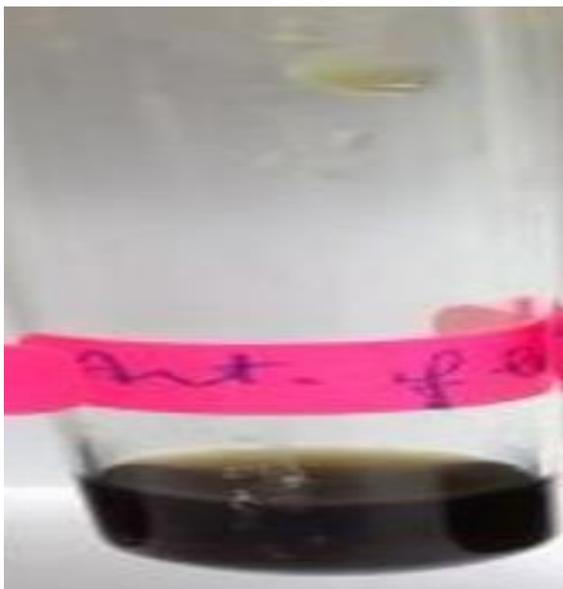
Le criblage des polyphénols a montré que les deux espèce hibiscus sabdariffa et atriplex halimus sont riche en polyphénol.

Les résultats obtenus rêvent que les extraits des deux plantes possèdent presque les mêmes compositions chimiques. La caractérisation chimique des deux plantes a démontré la présence des polyphénols sous forme de tanins, flavonoïdes, anthocyanes ...etc.

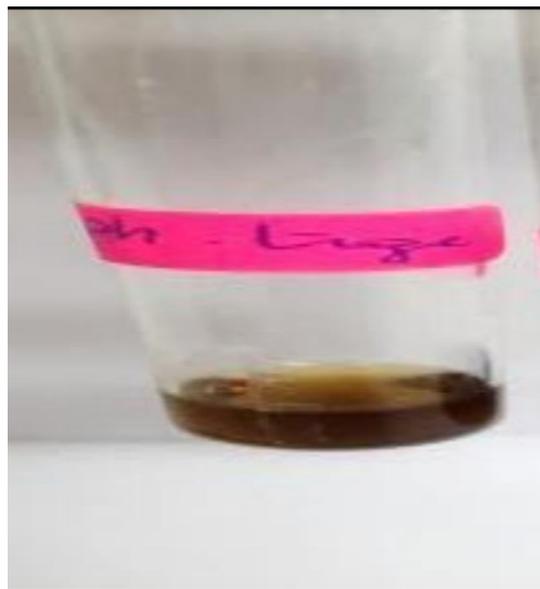
Les même extrais ont réagi positivement vis-à-vis du test chimique recherchant (tableaux ...).

Dans une étude faite sur onze plante médicinale dont hibiscus sabdariffa ont déterminé le teneur en polyphénols d'un extrait éthanolique 70 % ils ont trouvé que la tenure des polyphénols est de 6.3 EAG/g, cette teneur est relativement élevée.

Cette différence dans les teneurs peut être expliquée par les conditions environnementales climatiques et période de collecte ainsi que par les facteurs génétiques et les conditions expérimentales.



Hibiscus sabdariffa L



Atriplex Halimus L

Figure 34: Détection des polyphénols

I.1.1.1 Criblage des quinones et anthraquinones :

Les screening phytochimique a montré l'absence des quinons dans l'espèce d'hibiscus sabdariffa et Atriplex halimus est faiblement positif.

La réactif KOH utilisée pour la détection des anthraquinones a révélé que Atriplex Halimus est faiblement positive en ces métabolites secondaire et il y a une absence d'anthraquinones dans l'espèce Hibiscus Sabdariffa (tableaux 6).

(-) : Teste négatif

(+) : Teste faiblement positif

(++) : Teste positif

(+++): Teste fortement positif

Tableau 6: Résultat de criblage des quinones et anthraquinones

Métabolite secondaire	Hibiscus sabdariffa	Atriplex halimus
Quinones	-	+
Anthraquinones	-	+



Hibiscus sabdariffa L



Artiplex halimus L

Figure 35: Détection des quinons

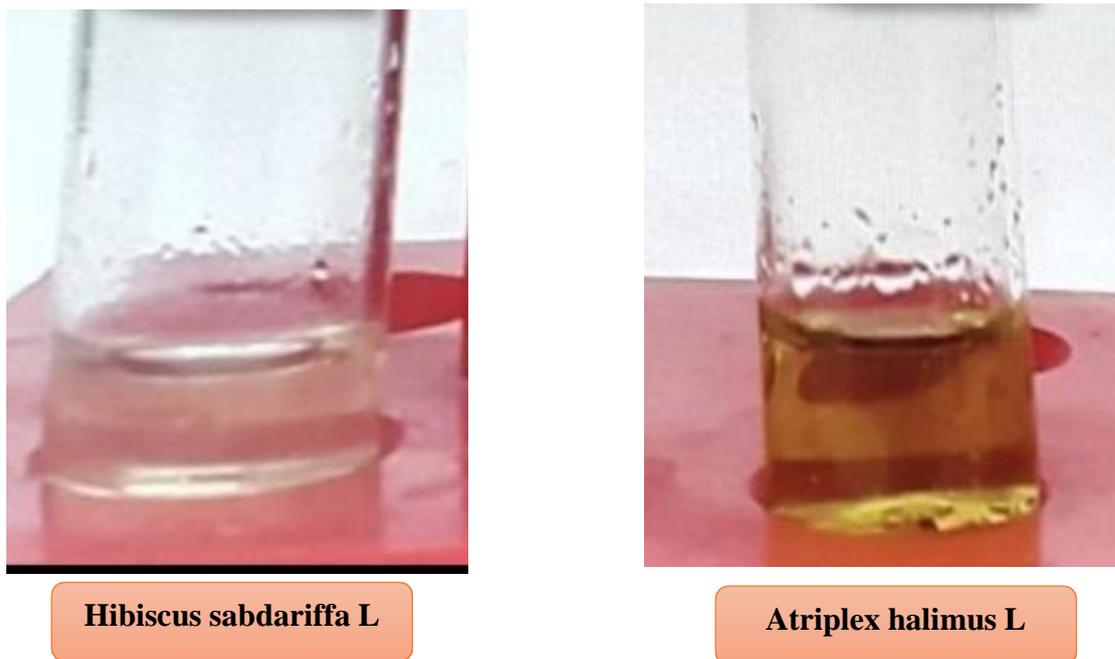


Figure 36: Détection des anthraquinones

I.1.1.2 Criblage des flavonoïdes et anthocyanes :

Les tests phytochimiques ont élucidé que l'Atriplex halimus est fortement positive en flavonoïdes par teneur 3.09 ± 0.13 mg EG/g, et Hibiscus sabdariffa par teneur 20.08 mg EG/g.

Le criblage phytochimique des anthocyanes a révélé une forte concentration de ces molécules dans les deux plantes.

- Teste négatif : -
- Teste faiblement positif : +
- Teste positif : ++
- Teste fortement positif : +++

Tableau 7: Résultat de criblage de flavonoïdes et anthocyanes

Métabolite secondaire	Hibiscus sabdariffa	Atriplex halimus
Flavonoïde	+++	+++
Anthocyanes	+++	+



Hibiscus sabdariffa



Atriplex halimus

Figure 37: Détection des flavonoïdes



Hibiscus sabdariffa L



Atriplex halimus L

Figure 38: Détection des anthocyanes.

I.1.1.3 Criblage de tanins :

Les tanins sont présents avec une intensité importante dans l'extrait méthanolique. Sa présence est confirmée par une réaction positive avec la solution de chlorure ferrique en donnant une coloration bleu verdâtre dans *Atriplex Halimus L*, il s'agit donc des tanins catéchique. Et l'espèce *Hibiscus Sabdariffa L* ne contient pas des tanins.

Tableau 8: Résultats de criblage des tannins

Métabolite secondaire	Réactifs	Hibiscus sabdariffa	Atriplex halimus
Tannins	Gélatine	-	++
	Fecl3	-	++

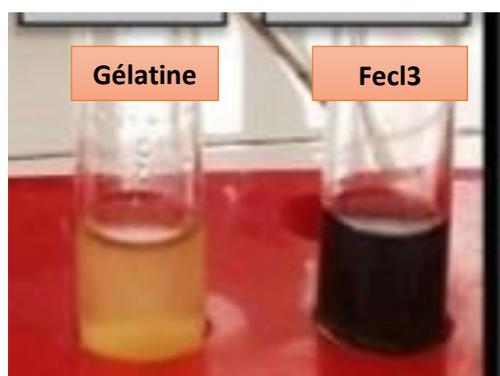
(-) : Teste négatif

(+) : Teste faiblement positif

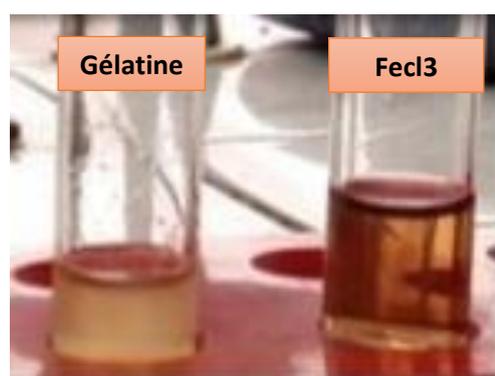
(++) : Teste positif

(+++): Teste fortement positif

Les travaux de (BANSO et ADEYEMO ,2007) ont démontré que les tannins isolés des plantes médicinales possèdent une activité toxique contre les champignons.



Hibiscus sabdariffa L



Atriplex halimus L

I.2 Criblage des alcaloïdes :

L'espèce *Atriplex Halimus* de la famille chénopodiacée paraît riche en alcaloïdes. L'hibiscus sabdariffa de la famille Malvacée ne contiennent pas de ces drogues. Qu'on a observée avec un précipite blanc pour le réactif du Mayer et un précipite rouge pour le réactif de Drangendroff.

Selon KEBILI ZOHRA (2016). Les tests préliminaires réalisées au préalable ont permis de mettre en évidence la présence des alcaloïdes et des composés phénoliques dans les deux plantes les deux classes précédentes de métabolite secondaire sont connues pour leur importance biologique. Les alcaloïdes sont dotés de propriétés pharmacologique et toxicologique marqué alors que les composés phénoliques présent une large gamme d'activité biologique (BRUNTON, 2009 IKAN ,1991).

Tableau 9: Résultats de criblage des alcaloïdes

Métabolites secondaire	Hibiscus sabdariffa	Atriplex halimus
Alcaloïdes	-	++

(-) : teste négatif

(++) : teste positif

(+) : teste faiblement positif

(+++): teste fortement positive



Figure 39: Photographie des alcaloïdes d'Atriplex Halimus L

I.3 Criblage des stérols et triterpènes :

Le test positif des stérols et triterpènes nous a montré leur présence dans les deux plantes (Hibiscus Sabdariffa L, Atriplex Halimus L) avec une apparition d'un anneau rouge brun et une couche surnageant de couleur verte.

Tableau 10: Résultats de criblage de stérol et triterpène

Plante	Tests	Réaction
Hibiscus sabdariffa	H ₂ SO ₄ (pendant 1 h)	+++
	Acide pecrique	-
	Gélatine	++

Plante	Tests	Réaction
Atriplex Halimus	H ₂ SO ₄ (pendant 1h)	+
	Gélatine	-
	Acide pecrique	+

(-) : teste négatif

(+) : teste faiblement positif

(++) : Teste positif

(+++): Teste fortement positif

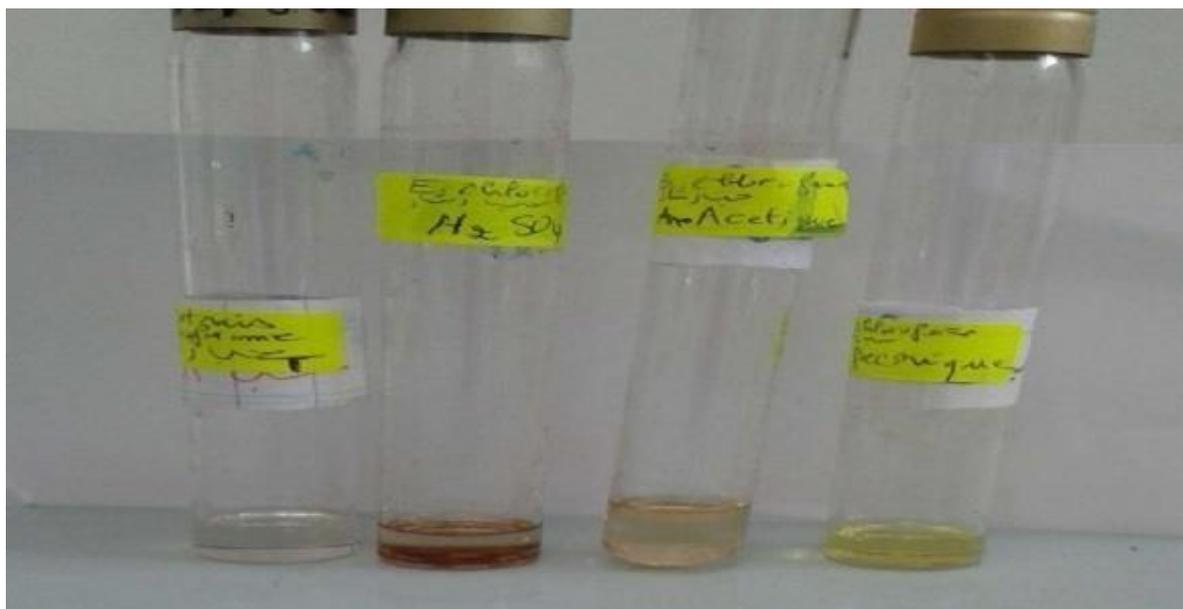


Figure 40: Criblage des tritèrèns et stérols d'hibiscus sabdariffa L



Figure 41: Criblage des tritèrènes et stérols de l'Atriplex halimus.

I.4 Criblage de coumarines :

On a choisi la méthode de chromatographie sur couche mince pour la détection des coumarines avec une révélation sous une lampe UV à deux longueurs d'onde utilisées (254 et 366nm).

Tableau 11: Montre que les deux plantes hibiscus sabdariffa et artiplex halimus sont très riches en différents composés de coumarines

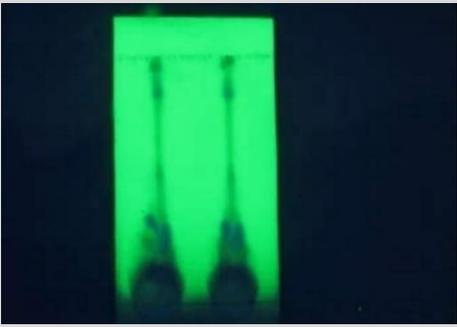
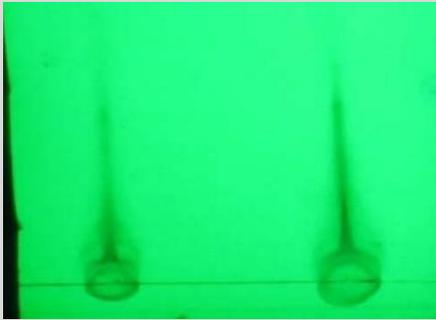
Espèce	Résultat
Hibiscus sabdariffa L	++
Atriplex Halimus L	+

(-) : Test négatif

(++) : Test positif

(+) : Test faiblement positif

(+++): Test fortement positif

Espèce	Observation par UV 254	Observation par UV 366
Hibiscus Sabdariffa L		
Atriplex Halimus L		

II Activité biologique :

II.1 Evaluation de l'activité antibactérienne :

On observe que les différents types de souches réagissent différemment aux extraits hydrométhanolique hibiscus sabdariffa L, et Atriplex halimus L. le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre et d'un extrait à un autre.

La variation de l'activité antibactérienne des extraits explique les variations de leurs compositions climatiques.

Tableau 12: Taux d'inhibition de l'extrait hydrométhanolique de deux extrais (hibiscus sabdariffa L, Atriplex halimus L).

Souche bactérienne	EM Hib	EM Atr
Staphylocoque aureus	1.7	1.9
Bacillus subtilus	0.00	0.00
Escherichia coli	2.8	1.5
Pseudomonas aeruginosa	3.4	0.00

✓ (Diamètre du disque est inclus) les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures.

Tableau 13: La sensibilité des souches bactérienne vis-à-vis les extraits.

Souche bactérienne	EM Hib	EM Atr
Staphylocoque aureus	+	++
Bacillus subtilus	-	-
Escherichia coli	++	+
Pseudomonade areuginosa	+++	-

Non sensible (-)

Très sensible (++)

Sensible (+)

Extrêmes sensible (+++)

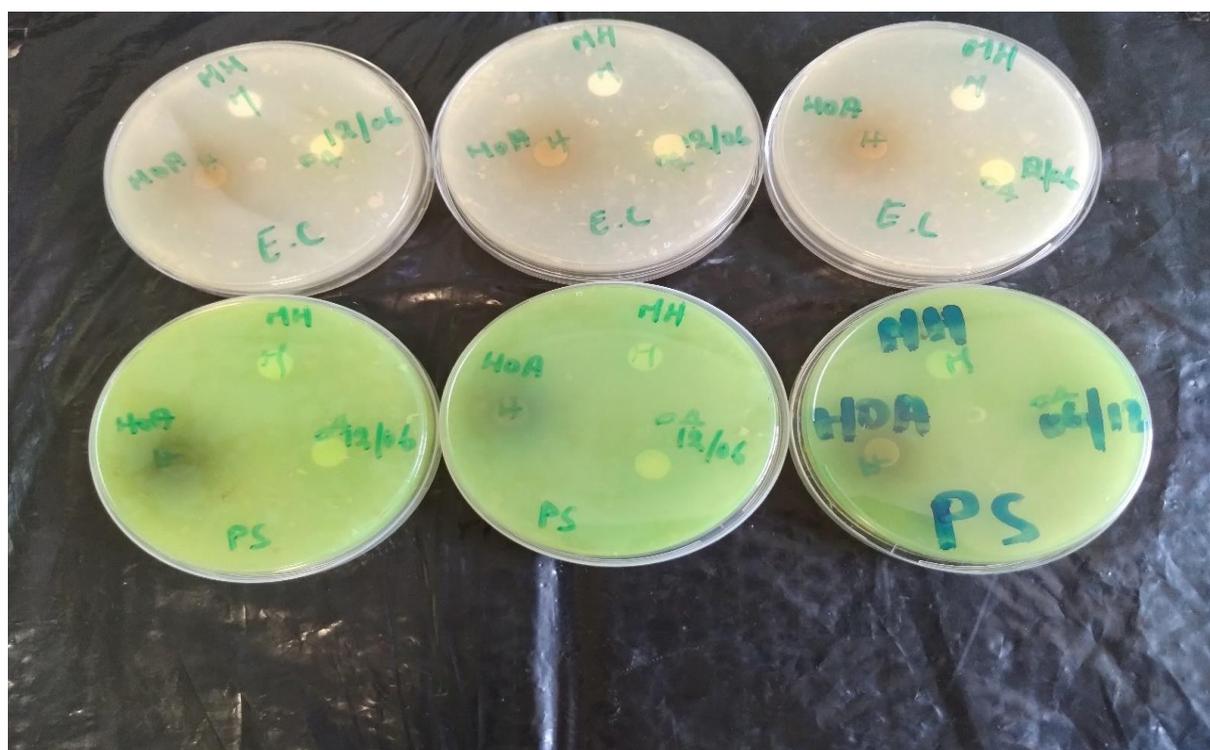


Figure 42: L'effet de l'extrais Hibiscus sabdariffa et Atriplex Halimus sur les souches bactériennes à gram –

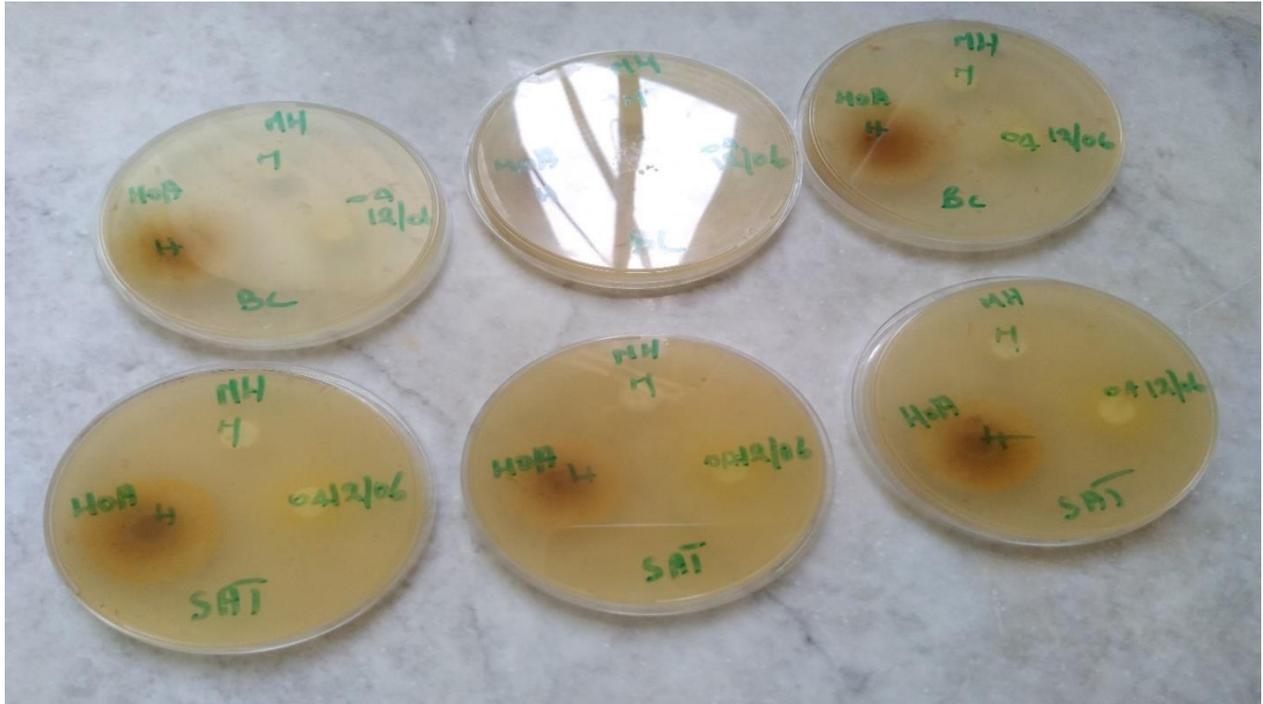


Figure 43: L'effet de l'extrait d'hibiscus sabdariffa et Atriplex halimus sur les souches bactériennes à gram +

L'extrait hibiscus sabdariffa réagit positivement au moins sur une des souches microbiennes testées ce qui confirme qu'est douée de propriétés antimicrobiennes sauf pour la souche *Bacillus subtilus* il y'a une absence de zone d'inhibitions.

Et pour l'extrait *Atriplex halimus* L réagit positivement au *Staphylocoque* sp et *Escherichia coli* et pour *Bacillus subtilus* et *Pseudomonas* sp il y'a une absence de zone d'inhibition.

L'antibiogramme consiste à chercher la sensibilité des souches vis-à-vis des antibiotiques. Les tableaux ... rapportes les valeurs en mm des zones d'inhibition manifestées par les antibiotiques sont les différentes souches étudiées.

Quatre antibiotique standards sont testée sur quatre souche bactériennes gram (+) et gram (-). On observe que les différents types des souches réagissent différemment aux antibiotiques et aux extraits étudiés. Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie a une autre et d'un extrait a un autre. La variation de l'activité antibactérienne des extraits explique les variations de leur composition chimique.

Tableau 14: Antibiotiques testés sur les quatre souches.

Souches bactériennes	Les antibiotiques
Escherichia coli	Amoxicilline
Bacillus subtilus	Céftazidine
Staphylocoque aureus	Oxacilline
Pseudomonas areuginosa	Gentamicine

Escherichia coli et Pseudomonas sp bactéries à gram négatif est plus sensibles à l'extrait hydrométhanolique d'hibiscus sabdariffa de façon très hautement significative par rapport à l'extrait hydrométhanolique d'Atriplex halimus L. pour la bactérie staphylococcus sp présente le même niveau de sensibilité dans les deux espèces. Pour la bactérie Bacillus subtilus est.

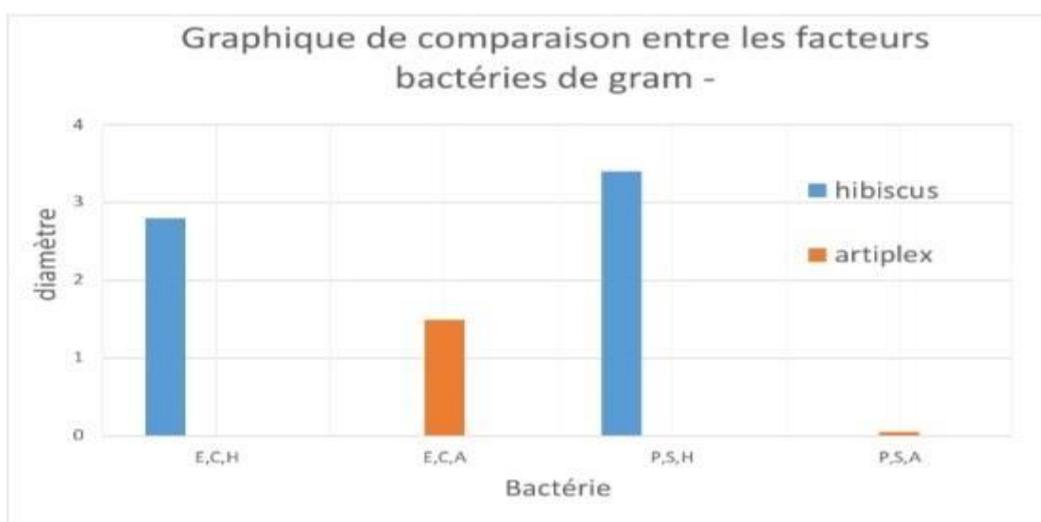


Figure 44: Sensibilité des 2 souches Gram (-) vis-à-vis des extraits EM.Hib et EM.Atr

Solon (Naili et al 2010) a étudié l'activité antibactérienne de l'extrait Méthanolique des plantes médicinales. Ils ont utilisé plusieurs souches les résultats obtenus dans cette étude ont montré que cet extrait possédé un effet inhibiteur sur la plupart des bactéries étudiés.

II.2 Evaluation de l'activité antifongique

L'activité antifongique est révélée par l'absence ou la présence de la croissance mycélienne. Avec les différents extraits hydrométhanoliques des deux plantes hibiscus sabdariffa L et Atriplex halimus L. et les différentes souches, on observe que la croissance mycélienne est remarquable après 48h mais en diamètre différents.

Tableau 15: Zones d'inhibition des souches fongiques en présence de l'EM Hib et l'EM Atr

Levures	EM Hib	EM Atr
Saccharomyces	0	0
Candida albicans	2	0

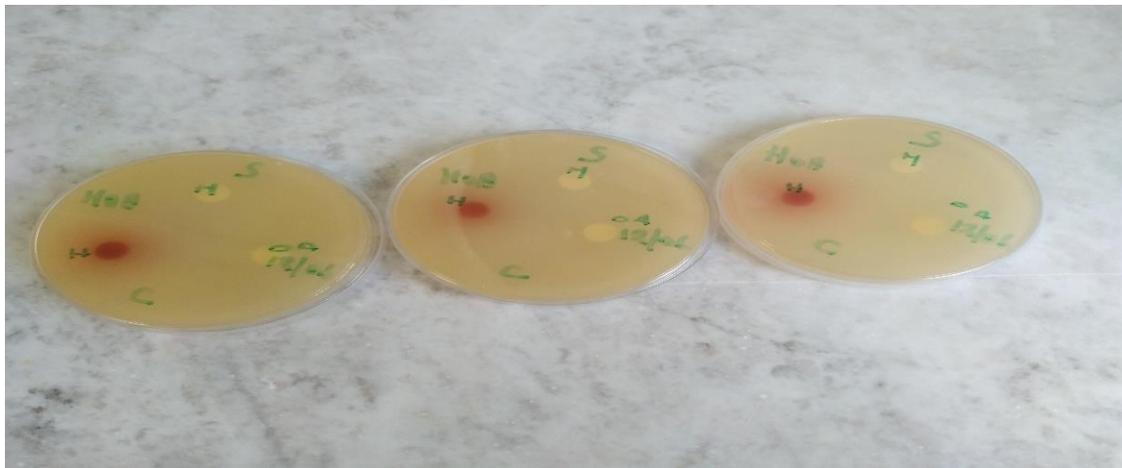


Figure 45: L'effet de l'extrait d'hibiscus sabdariffa et Atriplex halimus sur les candida albicans

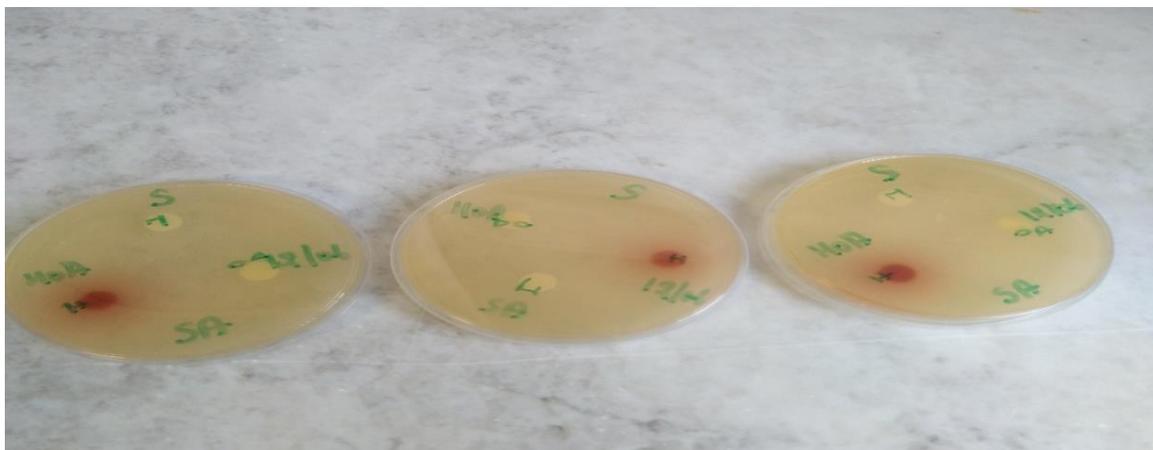


Figure 46: L'effet de l'extrait d'hibiscus sabdariffa et Atriplex halimus sur saccharomyces



Figure 47: Sensibilité des deux souches fongique envers les différents extraits de hibiscus sabdariffa L et Atriplex halimus L.

L'activité antifongique d'extrait méthanolique peut être expliqué par l'effet synergique entre les différents composés d'extrait. En effet les composé majoritaires sont souvent responsables de l'activité antifongique de cette extrait (Giordani et al ;2008).

Ces criblages ont montré que tous les extraits des plantes testés possèdent des propriétés antibactériennes intéressantes ceci explique l'utilisation de ces plantes en médecine populaire pour le traitement de diverses maladies dont les symptômes peuvent implique des maladies infectieuses. Par conséquent, afin d'élucider le composé actif responsable, nous avons actuellement lancé un fractionnement bio guidé des extraits.

CONCLUSION :

Conclusion

CONCLUSION :

De nos jours un grand nombre de plantes aromatique et médicinales possédés des propriétés biologique très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et l'agriculture. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances bioactives, et d'autre part les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs qui se tournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme.

Dans le présent travail, différents aspects d'*Hibiscus sabdariffa* L et *Atriplex halimus* L ont été étudiés pour quelques propriétés phytochimiques et activités antibactérienne et antifongique des deux extraits bruts.

Le screening phytochimique a mis en évidence diverses classes de métabolites secondaires dans les deux plantes : alcaloïdes, polyphénols, tannins, triterpènes, les flavonoïdes et les anthraquinones, quinones sont caractérisées selon les tests présents dans les deux plantes.

L'activité antibactérienne a été déterminée sur quatre souches bactériennes selon la méthode de diffusion de disque. Les résultats indiquent que les deux extraits possèdent une activité antibactérienne sur *Staphylococcus* sp et *Escherichia coli* et *Pseudomonas* sp sauf *Bacillus subtilis* qui manifeste une résistance pour les deux extraits.

A la suite de ces résultats, il serait donc intéressant d'étendre l'éventail des tests antibactériens ainsi l'ensemble de ces résultats obtenus *in vitro* ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances d'origine naturelle biologiquement active, une étude *in vivo* est souhaitable pour obtenir une vue plus approfondie sur les activités antibactérienne et antifongique des extraits de ces plantes.

Les références :

- ✚ **Tabuti J.R.S., Lye K.A. et Dhillion S.S., 2003** - Traditional herbal drugs of Bulamogi, Uganda: plants, use and administration. Journal of Ethnopharmacology, vol. 88, N°1, pp. 19-44
- ✚ **J.R.S., Lye K.A. et Dhillion S.S., 2003** - Traditional herbal drugs of Bulamogi, Uganda: plants, use and administration. Journal of Ethnopharmacology, vol. 88, N°1, pp. 19-44
- ✚ **Merzoug B., 2009**- Contribution à l'étude phytochimique de deux plantes de la famille des Apiaceae : *Carum montanum* Coss. & Dur. et *Bupleurum montanum* Coss. Thèse de doctorat. "Phytochimie". Université Mentouri Constantine. P1.
- ✚ **TELA BOTANICA Association, 2014-04-01.** Benoît Bock & al. Référentiel des trachéophytes de France métropolitaine p 11 .
- ✚ **Thus Newman and Cragg (2012)** showed of anticancer agents developed from the 1940s to 2006 are natural products or derived directly from natural. P16 .
- ✚ **Bruneton, J., (1999).** Pharmiognosie, phytochimie, plantes médicinales, 2eme édition, Paris : Editions médicales internationales, Tec et Doc Lavoisier, p 17 p23 .
- ✚ **Cavin, A., (1999).** Investigation phytochimique de trois plantes Indonésiennes aux propriétés antioxydantes et antiradicalaires: *Tinos poracispa* (Menispermacées) *Merremia emarginata* (Convolvulacées) et *Oropea enneanda* (Annonacées). Thèse de doctorat Lausanne, p .
- ✚ **Adrian et. Frangne, 1991 ;Milane, 2004.** 2.1.1. Classification des composés phénoliques p18.
- ✚ **Bruneton, (1999).** Dans une étude faite par Aniya et al (2000) l'activité antioxydante de l'extraire p17 19 p25 .
- ✚ **Hemingway, R.W., (1992).** Structural variation in proanthocyanidins and their derivatives.
In: Lpant polyphenols: synthesis, proprieties, significande. Laks P.E, Hemingway R.W New York p21.
- ✚ **Gonzalez, A. G ; Estevez-Braun, A., (1997).** Coumarins, Nat. Prod Reprod, 14 : p 465-475.
- ✚ **Gravot, A., (2008).** Introduction au métabolisme secondaire chez les végétaux. Equipe pédagogique Physiologie Végétale, UMR 118 APBV. Université de Rennes 1 – L2.
- ✚ **J BRUNETON., (2009).** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales (4ème édition) .
- ✚ **Abbad A., Cherkaoui M., Wahid N., El Hadrami A. et Benchaabane A. 2004(b).** Variabilités phénotypique et génétique de trois populations naturelles d'*Atriplex halimus* (L). Comptes Rendus Biologies. Vol 327, Issue 4 : 371-380
- ✚ **Abbad A., El-Hadrami A. et Benchaabane A. 2004(a).** *Atriplex halimus* (Chenopodiaceae): A halophytic species for restoration and rehabilitation of saline degraded lands. Pakistan journal of biological sciences.7 (6):1085-1093
- ✚ **Achour A. 2005.** Bilan minéral et caractérisation des pectines chez l'*Atriplex halimus* L. stressée à la salinité. Thèse de magistère. Université d'Oran Es senia. P 82

- ✚ **Barrow J. R., Osunda P. et Reyes-Vera I. 2004.** Fungal endophytes intrinsically associated with micropropagated plants regenerated from native *Bouteloua eriopoda* (Torr.) and *Atriplex canescens* (Pursh) Nutt. *In vitro Cell. Dev. Biol.-plant.* 4:608-612.
- ✚ **Belkhodja M., Bidai Y. 2004.** Réponse des graines d'*Atriplex halimus* L. à la salinité au stade de la germination. *Sécheresse*, 4 vols 15. décembre 2004.
- ✚ **Bellakhdar J. 1997.** La pharmacopée marocaine traditionnelle: Médecine arabe ancienne et savoirs populaires. Ibis Press, 764 p. in http://www.metafro.be/prelude/view_country?cc=MA&cat=V
- ✚ **Ben Ahmed H., Zid E., ElGozzoh M. et Grigon C. 1996.** Croissance et accumulation ionique chez *Atriplex halimus* (cahiers agricultures) : <http://www.auperf-uef.org/ref.agr.5.96.canumero.htm>
- ✚ **Chadefaud M. et Emberger L. 1960.** traité de botanique : systématique, les végétaux vasculaire. Tome II. Ed. Masson & Cie. Paris. 1540p
- ✚ **Crété P. 1965.** Précis de botanique, systématique des Angiospermes. Ed Masson & Cie. Tome II. PARIS. 429p
- ✚ **Deysson G. et Mascré M. 1951.** Classification des plantes vasculaires. Tome II. Ed SEDES Paris. 439p
- ✚ **Dutuit P. 1999.** Étude de la diversité biologique de l'*Atriplex halimus* pour le repérage in vitro et in vivo d'individus résistants à des conditions extrêmes du milieu et constitution de clones. Contrat TS3-CT94-264. Summary reports of European Commission supported STD-3 projects (1992-1995), published by CTA 1999
- ✚ **El Mzouri E., Chiriyaa A., El Mourid M., Laamari A. 2000.** Improving feed resource and quality in the dryland areas of Morocco by introducing the strip-alley cropping system. In: Gintzburger G., M. Bounejmate and A. Nefzaoui (eds.). *Fodder Shrub Development in Arid and Semi-arid Zones. Proceedings of the Workshop on Native and Exotic Fodder Shrubs in Arid and Semi-arid Zones, 27 October-2 November 1996, Hammamet, Tunisia.* ICARDA, Aleppo (Syria Vol. II: 340-347.
- ✚ **El Shatnawi M.J., et Mohawesh Y. M. 2000.** Seasonal chemical composition of saltbush in semiarid grasslands of Jordan. *J. range Manag.* Vol 53: 211–214
- ✚ **Gerard H., Le Saos J., Billard J.P., Boucaud J. 1991.** Effect of salinity and lipid composition, glycine betaine content and photosynthetic activity in chloroplasts of *Suaeda maritima* L. *Plant. Physiol., Biochem*, 29 (5), p. 421 – 427.
- ✚ **Goldhirs A.G., Hankamer B. et Lirs SH. 1990.** Hydroxyproline and proline content and cell wall of Sunflower, Peanut and Cotton under salt stress. *Plant Sci.*, 69, p. 2732.
- ✚ **Guignard J. L. et Dupont F. 2004.** Botanique : systématique moléculaire. 13^{ème} édition. Ed Masson. 284 p
- ✚ **Hubac C., Vieira Dasilva J. 1980.** Indicateurs métaboliques de contraintes mésologiques, *Physiol. Vég.*, 18 (1), p. 45-53.
- ✚ **Hubac C. 1990.** Croissance et développement des végétaux. Impact de la salinité et de l'aridité sur la croissance, le développement et l'amélioration des végétaux. Séminaire Univ. Oran
- ✚ **Ighilhariz Z., Bouabdallah L., Belkhodja M. 2008.** Influence Hormonale sur l'Induction de la Callogenèse Chez *Atriplex Halimus* L. et *Atriplex Canescens* (Pursh. Nutt.). *European Journal of Scientific Research.* Vol. 24 No. 2, pp. 211-218
- ✚ **Kessler J.J. 1990.** *Atriplex* forage as a dry season supplementation feed for sheep in the Montane Plains of the Yemen Arab Republic. *J. Arid Environments*, 19: 225-234.

- ✚ **Le Dily F., Billard J.P., Boucaud J. 1991.** Polyamine levels in relation to growth and NaCl concentration in normal and habituated sugar beet callus cultures. *Plant Cell and Env.*, 14,p. 327-332.
- ✚ **Le Houérou H. N. 1980.** Background and justification. In: H.N. Le Houérou (ed.). "Browse in Africa. The current state of knowledge". International Livestock Center for Africa, Addis Abeba (Ethiopia): 491
- ✚ **Maire R. 1962.** Flore de l'Afrique du sud. Ed Paul le chevalier.81-84
- ✚ **Mozafar, A. and Goodin, J.R., 1970.** Vesiculated hairs: a mechanism for salt tolerance in *Atriplex halimus* L.. *Plant Physiology* 45, 62-65.

- ✚ **Mulas. M., Mulas. G.2004.** Potentialités d'utilisation stratégique des plantes des genres *Atriplex* et *Opuntia* dans la lutte contre la désertification. Short And Medium - Term Priority Environmental Action Programme (SMAP). Université Des Etudes De Sassari Groupe De Recherche Sur La Désertification.112p

- ✚ **Ozenda. P. 1958.** Flore du Sahara septentrionales et centre. Ed. CNRS Paris.486 p
- ✚ **Ozenda. P. 1977.** flore du Sahara. 8ème Ed. CNRS Paris.622 p
- ✚ **Smail-Saadoun. N. 2005.** Anatomical adaptation of Algerian Sahara *Chenopodiaceae* to severe drought conditions. *Science et changements planétaires / Sécheresse*. Vol 16, Number 2 : 121-4
- ✚ **Tiedeman. J.A., Chouki. S., 1989.** Range management in Central Tunisia. Office of Livestock and Pastures, Ministry of Agriculture, Tunisia and Oregon State University, Corvallis OR (USA)
- ✚ **Danja S., Jonas G., Nathalie W., et Katharina O. (2016).** *Bacillus subtilis*. iGEM team: Bonn Freiburg.
- ✚ **Delphine L. (2008).** Etude pharmacochimique et chimiotaxonomique d'éponges du genre *Dysidea*. Mémoire master. Ecole de Chimie Physique et Electronique de Lyon. p 68
- ✚ **Dunière L., Thevenot-Sergentet D., et Loukiadis E. (2012).** Les *Escherichia coli* zoonotiques pathogènes. *Bulletin des GTV*. France. p 117
- ✚ **Pressler T., Bohmova B., Conway S., Dumciusd S., Hjelte L., Høiby N., Kollberg H., Tümmler B., et Vavrovab V. (2011)** Chronic *Pseudomonas aeruginosa* infection definition, EuroCareCF Working Group report, 10 (2) : 75-78.
- ✚ **Tenaillon O., Skurnik D., Picard B., et Denamur E. (2010).** The population genetics of commensal *Escherichia coli*, 8.
- ✚ **Askin Erdogan et Satish S. C. Rao,** « *Small Intestinal Fungal Overgrowth* », *Current Gastroenterology Reports*, vol. 17, n° 4, avril 2015, p. 16 (ISSN [1522-8037](#) et [1534-312X](#), DOI [10.1007/s11894-015-0436-2](#), [lire en ligne \[archive\]](#)], consulté le 18 septembre 2020
- ✚ [Saccharomyces](#), sur Wikimedia Commons [Saccharomyces](#), sur Wikispecies
- ✚ **Osato M. (2009).** Comparison of the Etest and the NCCLS-approved agar dilution method to detect metronidazole and clarithromycin resistant *Helicobacter pylori*. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 17 (1) : 39-44.
- ✚ **Pharmacopée Européenne 8.0. (2008).**
- ✚ **Choi Y. M., Noh D. O., Cho S. Y., Suh H. J., Kim K. M., et Kim J. M. (2006).** Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea. *LWT*, 39 : 756-761.

- ✚ **Naili M.B., Alghazeer O.A., Saleh N.A., Al-Najjar A.Y. (2010).** Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia campestris* (Astraceae) and *Ziziphus lotus* (Rhamnaceae). *Arab. J. Chem.* 3: 79–84.
- ✚ **Giordani, Hadeb, Kaloustian, 2008:** Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. *Fitoterapia*, 79. P 199-203.
- ✚ **Bruneton J., 2009-** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Lavoisier Tec & Doc (4eme Ed.), 1268 p .
- ✚ **Ribérreau ,1968 .** Etude phytochimique et évaluation d'activité antibactérien et l'activité antifongique des deux plantes medicinale *Artemisia campestris* L et *Ephedera alata* alenda staph thèse Master Université des frère Mentouri Canstantine 2017 p 48.
- ✚ **Rizk 1982 ,** Etude phytochimique et évaluation d'activité antibactérien et l'activité antifongique des deux plantes medicinale *Artemisia campestris* L et *Ephedera alata* alenda staph thèse Master Université des frère Mentouri Canstantine 2017 p 48.
- ✚ **Menaces et pamelio 2003 ,** Etude phytochimique et évaluation d'activité antibactérien et l'activité antifongique des deux plantes medicinale *Artemisia campestris* L et *Ephedera alata* alenda staph thèse Master Université des frère Mentouri Canstantine 2017 p 49.
- ✚ **Karumé et al ,. 2004 .** Etude phytochimique et évaluation d'activité antibactérien et l'activité antifongique des deux plantes medicinale *Artemisia campestris* L et *Ephedera alata* alenda staph thèse Master Université des frère Mentouri Canstantine 2017 p49.
- ✚ **Erik et al 2008 .** Etude phytochimique et évaluation d'activité antibactérien et l'activité antifongique des deux plantes medicinale *Artemisia campestris* L et *Ephedera alata* alenda staph thèse Master Université des frère Mentouri Canstantine 2017 p51 .

Liste des abréviations

KOH	Hydroxyle de potassium
Fecl3	Chlorure de fer
H2So4	Sulfate d'hydrogène
MEOH	Méthanol
HCL	Chlorure d'hydrogène
CCM	Chromatographie sur couche mince
TSA	Tryptone soja
MH	Muller-Hinton
Cm	Centimètre
M	Mètre
C°	Le degré Celsius
Mm	Millimètres
G	Gramme
Mg	Milligramme
Kg	Kilogrammes
%	Pourcentage
UV	Ultra-violet
µm	Micromètre
H	Heur
Min	Minutes
MI	Millilitre
Et al	Autre auteur
EM	Extrait méthanolique
EM Hib	Extrait méthanolique d'hibiscus sabdarriffa
EM Atr	Extrait méthanolique d'Atriplex halimus
MS	Matière sèche