

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur Et de la Recherche Scientifique
Université Saad Dahlab, Blida
.USDB.



-BLIDA-

Faculté des Sciences de la Nature et de Vie
Département de Biologie des Populations des Organismes
Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme de Master en Biologie
Option: Génomique et Biotechnologies Végétales

Thème

**Etude phytochimique de la partie aérienne de *Zygophyllum album* et
évaluation de ses activités antimicrobiennes**

Présenté par:

BOUAFIA Rabiaa

BENMAAMAR Abdessamad

Devant le jury:

Présidente: Mme RADI N	MAA/BPO	BD1
Examinatrice 01: Mme CHAICHI W	MAA/BPO	BD1
Examinatrice 02 : Mme CHERIF H	MCB/BPO	BD1
Promotrice : Mme AYADI R	MCB/BPO	BD1

Année Universitaire :

2014/2015

Dédicaces

*Je dédie ce modeste travail à mes très chers parents
À mes frères et sœurs à toute ma famille à mes amis et mes collègues
, qu'ils trouvent ici toute ma gratitude pour leur soutien, merci pour
votre sourire dans les moments difficiles*

Tout au long de mes études

*Je dédie ce manuscrit à madame Sahli Fatima, pour son soutien, son
amour et sa sagesse pour sa présence de tous les instants, sa sympathie
et son encouragement qu'elle m'a apporté.*

*Je dédie ce mémoire à mon cher amour Alaa Sheikh Ali et sa famille
merci pour ta sympathie chaleureuse, ton appui inestimable*

Je vous aime de tout mon cœur

BOUAFIA Rabiaa

Dédicaces

À mes chers parents
À mon petit frère et ma sœur
À toute ma famille
À ma fiancée Sarra
À mes amis et mes collègues
À tous ceux qui aiment la science

BENMAMAR Abdessamad

Remerciement

Avant toutes choses, on remercie Dieu, le tout puissant, de nous avoir donné la force et la patience.

Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements à notre promotrice Mme AYADI Radia, recevez ici nos sincères remerciements pour la confiance, les conseils que vous avez accordés tout le long de ce travail. Merci également pour votre encadrement, votre disponibilité. Nous vous adresse notre profonde reconnaissance pour vos remarques et conseils en vue d'améliorer ce manuscrit.

Nous adressons nos sincères remerciements à Madame RADJ N, pour avoir aimablement accepté de participer à ce jury, et d'avoir accepté de le présider.

Nous adressons également nos vifs remerciements à Madame CHAICHI W, pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant d'examiner ce mémoire.

Nous exprimons nos vifs remerciements à Madame CHERIF H, tout d'abord pour avoir accepté de participer à ce jury comme une deuxième examinatrice.

Notre profonde reconnaissance va à Madame SAHLI Fatiha et Madame RAHILI Ghania, Madame ZAIDI Hiba et la demoiselle TOUARI Kheira, nous n'oublie pas votre soutien moral qui nous a souvent aidées à remonter la pente dans les moments difficiles. On remercie également Messieurs Gadiri N et Amdoun R pour leur soutien moral, pour leur aide technique et scientifique. Veuillez trouver ici l'expression de notre gratitude de nous avoir accueillis au sein de vos laboratoires. Soyez assuré de notre profond respect et de notre vive reconnaissance pour nous avoir fait bénéficier de vos expériences et de vos rigueurs scientifiques et professionnelles.

Merci à tous les membres d'INRF pour tout et surtout l'énorme contribution que vous avez apporté, transmis et appris lors de ce travail.

Nous remercions chaleureusement tous les membres des laboratoires de microbiologie et de physico-chimique de SAIDAL de Média et le laboratoire de biochimie de département de biochimie de Blida, pour leur aide précieuse vous étiez toujours à nos côtés et vous avez toujours apporté le soutien. Pour cela, nous vous remercions.

Nous remercions également toutes les personnes avec lesquelles nous avons travaillé ou simplement discuté. Elles ont toutes leur place ici.

Nous remercions également tous les membres de famille qui ont toujours soutenue contre vents et marées.

Pour terminer, nous dédions ce manuscrit à nos familles, tout particulièrement nos parents pour leur soutien, leur amour et leur sagesse qui ont permis d'aboutir ce grade là et de devenir la personne que je suis. Nos pensées vont à nos amis pour leur présence de tous les instants, leur sympathie et leur encouragement qu'ils ont apporté.

À toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de ce travail.

Liste des figures

Figure 01. <i>Zygothallum album</i> . A : Partie aérienne - B : Feuille et Fruit. (1)	4
Figure 02. Effets biologiques des polyphénols.....	8
Figure 03. Squelette de base des flavonoïdes.....	9
Figure 04. Voie de biosynthèse des flavonoïdes.....	12
Figure 05. Une image représente l'origine de biosynthétique des alcaloïdes.....	19
Figure 06. Partie aérienne de <i>Zygothallum album</i>	25
Figure 07. Diagramme des différentes méthodes expérimentales.....	26
Figure 08. Protocole expérimental de l'extrait éthanolique.	27
Figure 09. Épuisement de La solution aqueuse obtenue par le chloroforme (CHCl ₃) à volumes égaux (v/v).....	28
Figure 10. Protocole expérimental d'extraction des alcaloïdes totaux d'après Amdoun, 2008.	28
Figure 11. Structure de l'acide gallique.....	32
Figure 12. Structure du Quercétine.....	33
Figure 13. Flacon injectable contient l'extrait éthanolique à 1%.....	35
Figure 14. Droite d'étalonnage de l'acide gallique.....	40
Figure 15. Courbe d'étalonnage de la Quercétine.....	41
Figure 16. Histogramme comparative entre la teneur des polyphénols et des flavonoïdes.....	42

Liste des tableaux

Tableau I. La classification des composés phénoliques.....	7
Tableau II. Principales classes d'alcaloïdes.....	17
Tableau III. Description des microorganismes testés.....	22
Tableau IV. Les souches bactériennes utilisées pour l'étude de l'activité antibactérienne.....	25
Tableau V. Résultats de l'étude phytochimique.....	38
Tableau VI. Caractéristiques des extraits préparés à partir de la partie arienne de <i>Zygophyllum album</i>	39
Tableau VII. Les différents absorbance par rapport à la concentration d'acide gallique.....	40
Tableau VIII. les différents absorbance par rapport à la concentration de la quercétine.....	41
Tableau IX. Zones d'inhibition en mm, obtenues pour l'extrait éthanolique à 100%, de <i>Zygophyllum album</i>	42
Tableau X. Zones d'inhibition en mm, obtenues pour l'extrait aqueux à 50%, de <i>Zygophyllum album</i>	43
Tableau XI. Zones d'inhibition en mm, obtenues pour l'extrait alcaloïdes totaux à 0.9% de <i>Zygophyllum album</i>	44
Tableau XII. Variation de la zone d'inhibition (mm) de l'extrait éthanolique, à différents concentration.....	45
Tableau XIII. Variation de la zone d'inhibition (mm) de l'extrait aqueux à différents concentration.....	46

Liste des abréviations

AlCl_3 : Trichlorure d'aluminium.

ATCC: American Type Culture Collection.

BaCl_2 : Chlorure de baryum.

CMI : Concentrations Minimales Inhibitrices.

CHCl_3 : Chloroforme.

DMSO : Diméthyl Sulfoxyde.

EAG : Equivalent d'acide gallique.

EQ : Equivalent de Quercetine.

FeCl_3 : Chlorure ferrique.

H_2SO_4 : Acide sulfurique.

HCl : Acide chlorhydrique.

IP : Institut Pasteur.

KOH : Hydroxyde de potassium.

N : Normalité.

Na_2CO_3 : Carbonate de sodium.

NH_4OH : Hydroxyde d'ammoniac.

UFC : Unités formant des colonies.

v/v : Rapport volume par volume.

TSA : Trypticase Soja Agar.

SA : Soja Agar.

PDA : Potato dextrose agar.

$\text{Pb}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2$: acétate de plomb.

$\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$: Phosphomolybdique.

Table de matières

Introduction.....	1/2
I- Etude bibliographique	
Chapitre I : L'espèce <i>Zygothymus album</i>	
1.1. Généralités sur l'espèce <i>Zygothymus album</i>	3
1.2. Systématique de <i>Zygothymus album</i>	3/4
1.3. Description botanique.....	4
1.4. Distribution et Ecologie.....	4/5
1.5. Composition chimique.....	5
1.6. Usages thérapeutiques traditionnelles de la plante.....	5
Chapitre II : Les métabolites secondaires	
2. Les métabolites secondaires.....	6
2.1. Les polyphénols.....	6
2.1.1. Classification.....	6/7
2.1.2. Biosynthèse des polyphénols.....	8
2.1.3. Effets biologiques des polyphénols.....	8
2.2. Les flavonoïdes.....	9
2.2.1. Classification.....	9
2.2.2. Substitution de squelette flavonique.....	10
A. O-substitution.....	10
B. C-substitution.....	10
2.2.3. Origine biosynthétique.....	11/12
2.2.4. Propriétés biologiques.....	13
2.2.6. Consommation des flavonoïdes.....	13
2.2.7. Diversité et distribution des flavonoïdes.....	13/14
2.2.8. Rôle des flavonoïdes chez la plantes.....	14
2.2.9. Emplois thérapeutiques des flavonoïdes.....	14

2.3. Les terpènes	15
2.4. Les alcaloïdes	15
2.4.1. Définition des alcaloïdes	15/16
2.4.2. Différents types d'alcaloïdes	16
2.4.3. Source d'alcaloïdes	16
A.1. Les végétaux	16
B.2. Autres sources d'alcaloïdes	16/17
2.4.4. Classification par structure des alcaloïdes	17/18
2.4.5. Origine biosynthétique des alcaloïdes	19
2.4.6. Localisation des alcaloïdes	19
2.4.7. Fonction des alcaloïdes	19
2.4.8. Utilité et usages pharmacologique des alcaloïdes	20
Chapitre III : Activité biologique	
3.1. Activité antimicrobienne des extraits des plantes	21
3.1.1. Les bactéries	21
3.1.2. Culture des bactéries	21/22
3.2. Description des microorganisme étudiées	22/23
II- Etude expérimentale	
Matériels et méthodes	
IV.1.Matériel	24
A. Matériel biologique	24
A.1. Matériel végétal	24
A.2. Souches microbiennes	25
B. Matériel non biologique	26
IV.2.Méthodes	27
IV.2.1. Préparation des extraits de <i>Zygophyllum album</i>	27
a. Préparation de l'extrait éthanolique	27
b. Extraction des alcaloïdes	27/28
c. Préparation de l'extrait aqueux	29
d. Calcul du rendement de l'extrait éthanolique et des alcaloïdes totaux	29
IV.2.2. Analyse phytochimique	29
IV. 2.2.1. Protocoles utilisés	29/30

IV.2.3. Etude quantitative par spectrophotométrie.....	31
IV.2.3.1. Dosage des polyphénols totaux.....	31/32/33
IV.2.3.2. Dosage du flavonoïdes.....	33/34
IV.2.4. Test de l'activité antimicrobienne sur différents milieux.....	34
IV.2.4.1. Technique de diffusion sur gélose.....	34/45/36
IV. 2.4.2. Technique de micro-dilution (concentration minimale inhibitrice CMI).....	37

Résultats et Discussions

2.1. Analyse phytochimique.....	38
2.2. Détermination des caractéristiques et des rendements des extraits de <i>Zygophyllum album</i>	39
2.3. Analyse quantitative des polyphénols et flavonoïdes.....	39
2.3.1. La teneur de l'extrait éthanolique en polyphénols.....	39/40
2.3.2. La teneur de l'extrait éthanolique en flavonoïdes.....	41/42
2.4. Résultats de l'activité antimicrobienne sur différents milieux.....	42
2.4.1. Activité antimicrobienne de l'extrait éthanolique.....	42/43
2.4.2. Activité antimicrobienne de l'extrait aqueux.....	43/44
2.4.3. Activité antimicrobienne de l'extrait des alcaloïdes totaux.....	44/45
2.4.4. Détermination de la concentration minimale inhibitrice.....	45
A. La concentration minimale inhibitrice de l'extrait éthanolique.....	45/46
B. La concentration minimale inhibitrice de l'extrait aqueux.....	46
C. La concentration minimale inhibitrice de l'extrait des alcaloïdes totaux.....	46/47/48
Conclusion	49
Les annexes	51/65
Les références bibliographiques	66

Résumé

Zygophyllum album est une plante médicinale appartenant à la famille des *Zygophyllaceae*. Connue sous le nom vernaculaire de «Aggaya », elle est très répandue dans le Sahara septentrional, et largement utilisée en médecine traditionnelle algérienne.

Dans le présent travail trois extraits (d'alcaloïdes totaux, aqueux, éthanolique) ont été préparés, à partir de la partie aérienne de cette plante. Les rendements en extraits bruts secs sont de l'intervalle 0.045% à 18%.

Les tests phytochimiques permet de détecter la présence des Flavonoïdes, Tanins, Anthocyanines, Coumarines, Saponosides, Alcaloïdes, Terpènes, Glucosides. L'estimation quantitative des flavonoïdes et des phénols totaux par le dosage spectrophotométrique, à révélé des teneurs de 0.00402 mg EQ/mg d'extrait et 3.938 mg EAG/mg d'extrait respectivement.

L'activité antimicrobienne a été déterminée sur cinq souches microbiennes, selon la méthode de diffusion de disque. La concentration minimale inhibitrice (CMI) manifestée par les trois extraits (éthanolique, des alcaloïdes totaux, extrait aqueux) sur nos souches.

L'extrait éthanolique n'a aucun effet sur l'ensemble des bactéries et de la levure testés, d'autre part *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* présentent les meilleures actions inhibitrices pour l'extrait aqueux qui sont 16 mm et 18 mm respectivement. Et même pour l'extrait des alcaloïdes totaux une activité inhibitrice non ngligeable a été décelé, et surtout sur *Bacillus subtilis* qui est de 16mm. *E. Coli* a été la souche la plus résistante.

Mots clés: *Zygophyllum album*, flavonoïdes, Polyphénols, alcaloïdes, activité antimicrobienne.

Abstract

Zygophyllum album is a medicinal plant belonging to the family of *Zygophyllaceae*. Known under the vernacular name of " Aggaya ", she is very wide-spread in northern Sahara, and widely used in Algerian traditional medicine.

In the present work three extracts (total alkaloids, aqueous, Ethanolic) were prepared, from the aerial part of this plant; The yields of dry crude extracts are in the range 0.045% to 18%. The phytochemical tests have allows to detect the presence of Flavonoids, Tannins, Anthocyanines, Coumarines, Saponosides, Alkaloids, Terpenes, Glucosides. The quantitative estimation of flavonoids and the total phenols by the spectrophotometric dosage revealed contents of 0.00402 mg EQ / mg extract and 3.938 mg EAG /mg extract.

The antimicrobial activity was determined on five microbial stumps, according to the method of distribution of disk. The inhibitive minimal concentration (CMI) shown by three Extracted (ethanolic, total alkaloids, aqueous extract) on our stumps. The ethanolic extract has no effect on all the bacteria and the yeast tested, on the other hand *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis* presents the best inhibitive actions for the aqueous extract which are 16 mm and 18 mm respectively. And even for the extract of the total alkaloids a remarkable inhibitive activity was revealed; specially on *Bacillus subtilis* who is of 16mm. *E. Coli* was the most resistant stump.

Keywords: *Zygophyllum album*, flavonoids, Polyphenols, alkaloids, antimicrobial activity.

الملخص

هي نبتة نبتة العقايا هي نبتة طبية تنتمي إلى عائلة (Zygophyllacées) , منتشرة بكثرة في الصحراء الجزائرية و مستعملة بكثرة في الطب التقليدي الجزائري. انطلاقا من الجزء العلوي لنبتة العقايا تم إعداد ثلاث مستخلصات:
• d'alkaloïdes totaux, aqueux, éthanolique

الاختبارات الفيتوكيميائية سمحت لنا بالكشف عن وجود الفلافونويد و الطانين و انتوسيانين و الكومارين و السكريات و القلويدات السابونوزيد و أيضا التربينات. التقدير الكمي للفلافونويد و الابوليفينول الإجمالي بواسطة الطريقة اللونية أعطى لنا النتائج الآتية (0.3938 مغ حمض القاليك /المستخلص).

تم تحديد النشاط البكتيري في خمس سلالات ميكروبية، وفقا لطريقة نشر على القرص. تركيز المثبط الأدنى(ت م أ) التي أعرب عنها بواسطة مستخلصات الثلاث (الكحولي، قلويدات الإجمالية، المستخلص المائي) من السلالات الجرثومية لدينا.

المستخلص المثلي ليس له تأثير على جميع البكتيريا المختبرة و كذلك الخميرة، ثانيا أعطت المكورات العنقودية و البكتيريا العصوية الرقيقة أفضل النتائج المثبطة للمستخلص المائي، والتي هي 16 ملم و 18 ملم على التوالي.

و كذلك تم الكشف عن نشاط تثبتي ملحوظ على مستوى مستخلص القلويدات الإجمالية، و خصوصا البكتيريا العصوية الرقيقة التي أعطت نتيجة بقيمة ي هي 16 ملم , و تبقى البكتيريا القولونية السلالة أكثر مقاومة.

الكلمات المفتاحية:

Zygophyllum album, flavonoïdes, Polyphénols, alcaloïdes, activité antimicrobienne

Introduction

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses ressources trouvées dans son environnement afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies, et même aujourd'hui, les plantes médicinales constituent la base des pratiques systématiques de médecine traditionnelle dans le monde entier.

Les plantes et les autres organismes peuvent être considérés comme des bibliothèques de petites molécules de métabolites secondaires, des composés organiques avec une diversité structurale qui, autrement, ne pourraient pas être disponibles dans un laboratoire chimique de synthèse (**Bindseil *et al.*, 2001; Koehn et Carter, 2005**). Le nombre total de produits naturels synthétisés par les plantes a été estimé à plus de 500000 (**Mezouar, 2012**).

L'étude de la chimie des plantes est toujours d'actualité malgré son ancienneté. Cela tient principalement au fait que le règne végétal représente une source importante d'une immense variété de molécules bioactives (**Ferrari, 2002**). En effet, cette matière végétale contient un grand nombre de molécules qui ont des intérêts multiples. Parmi ces composés on retrouve, les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tannins, les lignines, les terpènes et les flavonoïdes (**Bahorun, 1997**).

Les propriétés antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis l'antiquité. Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20^{ème} siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser (**Yano *et al.*, 2006**).

De plus, la recherche de produits naturels est nécessaire, en raison de leur remarquable diversité de structures et d'activités, de leur utilité en tant que sondes biochimiques, des méthodes d'analyse originales et sensibles, des améliorations dans l'isolement, la purification et la caractérisation, et de nouvelles méthodes de production utilisées (**Mezouar, 2012**). L'étude de l'utilisation de ces plantes pour la thérapeutique des populations fait partie de l'ethnobotanique (**Iwu et Jacqueline, 2002**). Aujourd'hui, la découverte de médicaments à partir des plantes est basée principalement sur l'isolement des molécules bioactives, et pour entreprendre cette recherche, plusieurs domaines importants comme : la biochimie, la chimie médicinale, la pharmacologie, la pharmacie, la toxicologie ont été étudiés avec précaution (**Kinghorn, 2001; Butler, 2004; Koehn et Carter, 2005; Jones *et al.*, 2006**).

Zygophyllum album est une plante halophyte de la famille des *Zygophyllaceae*, se présentant sous forme d'un buisson ramifié, reconnaissable à ses feuilles opposées, réduites et gorgées d'eau. Elle est répandue dans les régions arides et présahariennes et colonise les sols à encroûtements gypseux des bordures des chotts et des sebkhas. C'est une plante aux vertus

médicinales utilisée dans la médecine traditionnelle. Elle est appréciée pour ses propriétés anti-oxydantes, antimicrobiennes, antidiabétique. Cette espèce fait l'objet de récentes recherches dans le domaine de la thérapeutique.

Notre travail s'inscrit dans une problématique globale qui est celle de l'amélioration de la production en métabolites secondaires d'intérêts thérapeutique en ayant recours aux biotechnologies végétales ; ainsi, l'objectif de la présente étude est :

-La réalisation d'une analyse phytochimique qualitative de la partie aérienne de *zygophyllum album*.

-Dosage quantitatif, par spectrophotométrie des polyphénols totaux et des flavonoïdes.

-Etude de l'activité antimicrobienne (bactérie, levure) en utilisant deux méthodes :

- Technique de diffusion sur gélose.
- Technique de micro-dilution (concentration minimale inhibitrice CMI).

1.1. Généralités sur l'espèce *Zygophyllum album*

Zygophyllum album est une espèce du genre *Zygophyllum*, de la famille des *Zygophyllaceae* (El Ghoul *et al.*, 2011). Cette famille comprend approximativement 27 genres et 285 espèces (Hussein *et al.*, 2011), elle est représentée principalement dans les régions arides et semi arides.

Au Sahara Algérien, on observe 7 genres et 27 espèces. Cette famille constitue plus de 3% de la flore du désert dont plus du tiers est endémique (Ozenda, 1977 ;Ozenda, 1991). Le genre *Zygophyllum* est le plus répondu de la famille des *Zygophyllaceae*. Ce sont des plantes très adaptées au milieu désertique par leur système de racines horizontales qui parcourent de longues distances et absorbent la moindre goutte d'eau (Hussein *et al.*, 2011).

La partie aérienne de *Zygophyllum album* est utilisée depuis longtemps en médecine traditionnelle pour des usages thérapeutiques contre le diabète, l'indigestion, les dermatoses, le rhumatisme, la goutte, l'asthme, et l'hypertension (Ould El Hadj *et al.*, 2003). Elle est également utilisée comme agent désinfectant, analgésique, diurétique, anesthésique local, antihistaminique, carminative, antiseptique et stimulant (Atta et Mouneir, 2004).

En 2012, Larouadi et Harkouk constatent que le décocté de *Z. album* a une action anti-hyperglycémiant qui serait due à une potentialisation de la sécrétion de l'insuline par les cellules β ainsi qu'à une augmentation de l'utilisation du glucose par les organes périphériques.

1.2. Systématique de *Zygophyllum album*

- Règne : Plantae
- Phylum : Angiospermes
- Superdivision : Spermatophyta
- Division : Magnoliophyta
- Classe : Eudicotylédones
- Sous-classe : Rosidae II
- Ordre : Zygophyllales
- Famille : Zygophyllaceae
- Genre : *Zygophyllum*
- Espèce : *Zygophyllum album* L (Judd *et al.*, 2002)

Nom vernaculaire : Aggaya

1.3. Description botanique

Zygophyllum album est une plante vivace (**figure 01**) organisée en petit buisson très dense, atteignant fréquemment 1m de hauteur. Les feuilles petites deviennent oranges en séchant, elles sont succulentes, opposées deux à deux folioles cylindriques charnues. Les tiges sont très ramifiées. Les fleurs blanchâtres ou jaunâtres, sont axillaires à base élargie possédant 10 étamines. L'ovaire anguleux à 5 lobes plus ou moins saillants. Le fruit est une capsule portée par un pédoncule court (**Quezel et Santa 1962 ; Ozenda 1977 ; Sahki 2004**). La floraison se fait en Mars –avril (**Ozenda, 1983**).

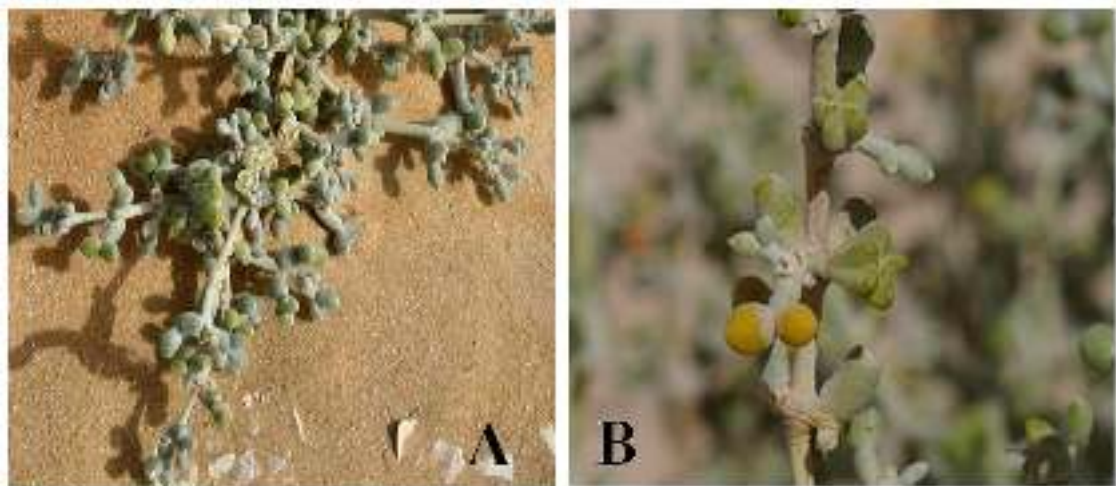


Figure 01. *Zygophyllum album*. A : Partie aérienne - B : Feuille et Fruit. (1)

1.4. Distribution et Ecologie

La famille des *Zygophyllaceae* est distribuée dans les régions arides, semi-arides des terrains salés et les pâturages désertiques (**Ayad, 2008**). Le genre *Zygophyllum* est représenté par sept espèces en Afrique du Nord dont quatre sont endémiques au Sahara (**Ozenda, 1977**).

L'espèce *Zygophyllum album* est commune dans le sud-tunisien, moins fréquente en Algérie (**Ozenda, 1977**). On la trouve principalement dans les régions arides du Sahara septentrional au Tidikelt et au Touat. Au Sahara central, elle est signalée dans l'Ahaggar, à Fort-Polignac et dans la région d'El Goléa (**Sahki et Sahki, 2004**).

Cette espèce pousse sur les sols à encroûtements gypseux dont la teneur en sel soluble est assez variable en surface. Elle présente une grande amplitude écologique. Elle pousse dans les sols où le pH est fortement basique. Elle pousse sous des précipitations allant de 3 mm / an à 158 mm / an (Fahmy et Ouf, 1999 ; Quezel et Santa, 1962).

1.5. Composition chimique

Les principaux constituants décrits de l'espèce de *Zygophyllum* sont zygophyllin, l'acide quinovic et des glucosides (Smati *et al.*, 2004).

Sept flavonoïdes avec deux acides phénoliques ont été isolés de *Zygophyllum album* et identifiés comme la quercétine, (Moustafa *et al.*, 2007 ; Hussein *et al.*, 2011). Concernant les alcaloïdes, β -carboline, l'harmine est identifié, comme constituant majeur. L'harmine (C₁₃H₁₂N₂O), est un tranquillisant (antidépresseur), il est actif contre les stimulants de la tuberculose (*Mycobacterium tuberculosis*), et est efficace pour le traitement de la paralysie et la maladie de Parkinson (Ginzburg, 2003).

Zygophyllum album fait partie des plantes médicinales qui constituent un groupe de plantes économiquement importantes. Elles contiennent des composants actifs utilisés dans le traitement de diverses maladies (Stary, 1992).

1.6. Usages thérapeutiques traditionnelles de la plante

Beaucoup d'espèces du genre *Zygophyllum* possèdent des effets biologiques qui sont exploités par la médecine traditionnelle : le *Z. coccineum* est utilisé contre les rhumatismes et l'hypertension (El Hamsas *et al.*, 2010), le *Z. gaetulum* est connu pour ces propriétés antidiabétiques, antispasmodiques et il est utilisé aussi contre l'eczéma (Smati *et al.*, 2004). En Algérie, *Z. album* est utilisée pour le traitement du diabète, des spasmes et des dermatites (El Hamsas *et al.*, 2010).

2. Les métabolites secondaires

Les métabolites sont des molécules issues du métabolisme des végétaux ou d'animaux. Les plantes présentent deux catégories de composés organiques:

- Les métabolites primaires (glucides, lipides et amino-acides) qui sont nécessaires et vitaux à la survie de la cellule ou de l'organisme (**Badiaga, 2011**).
- Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes (**Lutge et al., 2002 ; Abderrazak et Joël, 2007**). Ils jouent d'une façon générale un rôle fondamental dans le métabolisme et la reproduction des cellules (**Badiaga, 2011**).

Ces molécules ont de nombreuses applications pharmaceutiques. De façon générale, les métabolites secondaires sont caractéristiques des plantes supérieures. Ils sont répartis en trois grandes familles chimiques:

- ◆ Les composés aromatiques (phénoliques, l'acide shikimique ou les dérivés d'acétate).
- ◆ Les terpénoïdes et stéroïdes.
- ◆ Les composés azotés ou alcaloïdes.

2.1. Les polyphénols

Les polyphénols sont des produits fournis par le métabolisme secondaire des végétaux, caractérisés par la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre, ou engagé dans une autre fonction tels que : éther, ester, hétéroside...etc (**Bruneton, 1999 ; Lugasi et al., 2003**).

Les composés phénoliques, constituent le groupe le plus nombreux et le plus largement distribué dans le règne des végétaux, avec plus de 8000 structures phénoliques connues (**Lugasi et al., 2003**).

Les polyphénols sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs: racines, tiges, feuilles, fleurs, fruits (**Boizot et Charpentier, 2006**).

2.1.1. Classification

Les polyphénols sont répartis en plusieurs classes tableau 01:


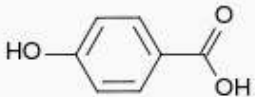
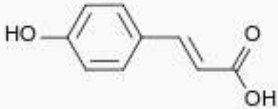
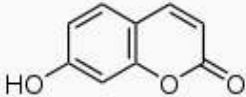
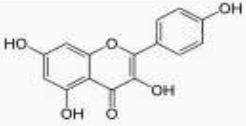
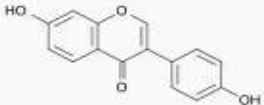
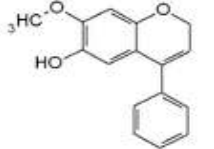
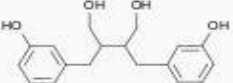

- ◆ Les flavonoïdes
- ◆ Les tanins
- ◆ Les stilbènes
- ◆ Les lignanes et les coumestanes
- ◆ Autres phytoestrogènes

Etude phytochimique de la partie aérienne de *Zygophyllum album* et l'évaluation de ses activités antimicrobiennes

- ◆ Les saponines (triterpénoïdes)
- ◆ Les phytostérols et lesphytostanols

Bien qu'ils ne soient pas des polyphénols, on ajoute ordinairement à cette liste les isothiocyanates, qui dérivent de l'hydrolyse des glucosinolates (**Dacosta, 2003**)

Tableau I. La classification des composés phénoliques (**Sarni-Manchado et Cheynier, 2006**).

COMPOSES PHENOLIQUES				
Squelette carboné	Classe	Exemple	Formule	Origine
C6	Phénols simples	hydroquinone		Busserole
C6-C1	Acides hydroxybenzoïques	acide parahydroxybenzoïque		Epices, fraises
C6-C3	Acides hydroxycinnamiques	acide p-coumarique		Tomates, ail
	Coumarines	Ombelliférone		Carottes, coriandre
C6-C3-C6	Flavonoïdes <i>lato sensu</i>	Kaempférol		Fraises
	Isoflavonoïdes	Daidzéine		Graines de soja
	anthocyanes	Dalphinol		<i>Dalbergia sissoo</i>
(C6-C3) ₂	Lignanes	Entérodiol		Bactéries intestinales
(C6-C3) _n	Lignines			Bois, fruits à noyaux

2.1.2. Biosynthèse des polyphénols

Les polyphénols sont synthétisés par deux voies biosynthétiques :

- Celle de l'acide shikimique.
- Celle issue de l'acétate.

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

2.1.3. Effets biologiques des polyphénols

Les polyphénols sont associés à de nombreux processus physiologiques. Ils interviennent dans la qualité alimentaire et sont impliqués lorsque la plante est soumise à des blessures mécaniques. La capacité d'une espèce végétale à résister à l'attaque des insectes et des micro-organismes est souvent corrélée avec la teneur en composés phénoliques (**Bahorun, 1997**).

Ces composés montrent des activités anti-carcinogènes, anti-inflammatoires, anti-athérogènes, anti-thrombotiques, analgésiques, antibactériens, antiviraux, anticancéreux (**Babar Ali et al., 2007**), anti-allergènes, vasodilatateurs (**Falleh et al., 2008**) et antioxydants (**Gomez-Caravaca et al., 2006**).

Les composés polyphénoliques sont d'ailleurs de plus en plus utilisés en thérapeutique (**figure 02**). Ils sont regroupés dans la catégorie des veinotoniques et des vasculo-protecteurs (**Martin et Andriantsitohaina, 2002**).

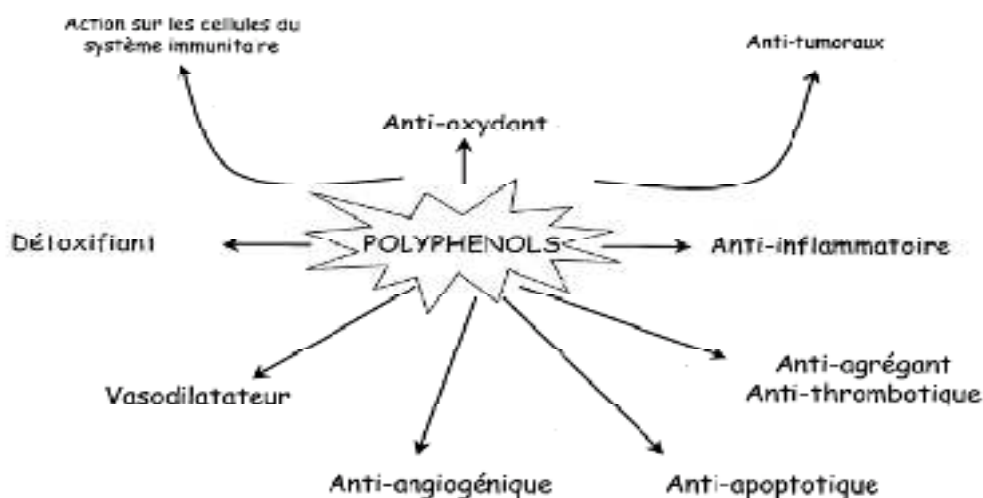


Figure 02. Effets biologiques des polyphénols (**Martin et Andriantsitohaina, 2002**).

2.2. Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (**Seyoum et al., 2006**). Ils sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles, même si le terme flavonoïde signifie jaune en latin. À l'état naturel les flavonoïdes se trouvent le plus souvent sous forme d'hétérosides (**Ghestem et al., 2001; Bruneton, 1999**).

Du point de vue structural, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules, en effet plus de 6400 structures ont été identifiées (**Harborne et Williams., 2000**). Les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et par conséquent, possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbones (**figure 03**), constitué de deux unités aromatiques, deux cycles en C6 (A et B), reliés par une chaîne en C3 (**Bruneton, 1999**).

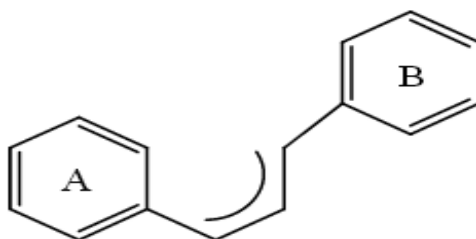


Figure 03. Squelette de base des flavonoïdes.

2.2.1. Classification

Les flavonoïdes peuvent être regroupés en différentes classes selon le degré d'oxydation du noyau puranique central, le noyau B relié à l'hétérocycle C dans les positions 2, 3

- ♦ Dans la position 2: le flavonoïde est appelé Flavane.
- ♦ Si la position 4 de la flavane porte un groupement carbonyle la flavane est appelé Flavanone.
- ♦ Si la liaison C2-C3 dans le squelette de la flavanone est insaturée le composé est nommé Flavone.
- ♦ Si le squelette est substitué en position 3 par un groupement hydroxyle il est désigné par le nom de Flavonol.

Dans la position 3: le flavonoïde est désigné par le terme Isoflavane (**Athamena, 2009**).

2.2.2. Substitution de squelette flavonique

IL existe différents processus de substitution du squelette flavonique et qui sont à l'origine de l'extraordinaire diversité des structures flavoniques.

A. O-substitution

A.1. Hydroxylation

Les hydroxyles 5 et 7 viennent s'introduire avant la formation du noyau A. De ce fait, ils sont considérés comme hydroxyles originels. Il est de même pour l'hydroxyle en 4' du noyau B, tous les autres seront des extra-hydroxyles (**Athamena, 2009**).

L'hydroxylation du noyau B dans la position 3' se fera après la fermeture de l'hétérocycle C. Les positions 2' et 6' du cycle B sont rarement hydroxylées (**Athamena, 2009**).

A.2. Méthoxylation

C'est la métylation des hydroxyles aussi bien originels que les extra-hydroxyles (**Athamena, 2009**).

A.3. O-glycosylation

Les flavonoïdes sont souvent présentés comme O-ou C glycosides. La liaison O dans les flavonoïdes se produit fréquemment plus que la liaison C.

Pas moins de 90% de flavonoïdes isolés des plantes sont glycosylés (**Athamena, 2009**),

La plupart des flavonoïdes sont glycosylés excepté la catéchine (**Rice-Evans, 2001**). L'O-glycosylation se fait préférentiellement avec l'hydroxyle de la position 7 qui constitue le site préférentiel de la glycosylation dans le cas des flavones et les flavanones et en position 3 chez les flavonols (**Athamena, 2009**).

B. C-substitution

B.1. C-méthylation

Le méthyle est directement lié au cycle benzénique par une liaison carbone-carbone, cette liaison est rencontrée en position 6 ou en position 8, ou encore en position 6 et 8 (**Athamena, 2009**).

B.2. C-glycosylation

Le sucre est lié directement au cycle benzénique par une liaison carbone-carbone. Dans cette glycosylation la liaison s'établit entre le carbone du sucre et celui en position 6 ou 8 de la génine (**Athamena, 2009**).

La rupture de la liaison génine-ose est plus difficile dans le cas des C-hétérosides que dans celui des O-hétérosides. Dans certains composés les deux modes de glycosylation coexistent (**Athamena, 2009**).

2.2.3. Origine biosynthétique

Les flavonoïdes possèdent tous le même élément structural de base, car ils dérivent d'une origine biosynthétique commune. Le cycle A est formé à partir de trois molécules de malonyl-coenzyme A (malonyl-CoA), issues du métabolisme du glucose. Les cycles B et C proviennent eux aussi du métabolisme du glucose, mais par la voie du shikimate via la phénylalanine qui est convertie en p-coumarate puis en p-coumaroyl-CoA.

Le p-coumaroyl-CoA et les 3 malonyl-CoA se condensent en une seule étape enzymatique pour former une chalcone, la 4, 2',4', 6'-tétrahydroxychalcone (réaction catalysée par la chalcone synthétase). Le cycle C se forme par cyclisation de la chalcone, réaction catalysée par la chalcone-isomérase qui induit une fermeture stéréospécifique du cycle conduisant à une seule 2(S)-flavanone : la naringénine. Ce cycle s'hydrate ensuite pour former les différentes classes de flavonoïdes (**Athamena, 2009**).

Des étapes ultérieures surtout de glycosylation et acylation amènent les flavonoïdes à la forme définitive dans laquelle elles se trouvent *in vivo* (**Athamena, 2009**) (**Figure 04**).

Etude phytochimique de la partie aérienne de *Zygophyllum album* et l'évaluation de ses activités antimicrobiennes

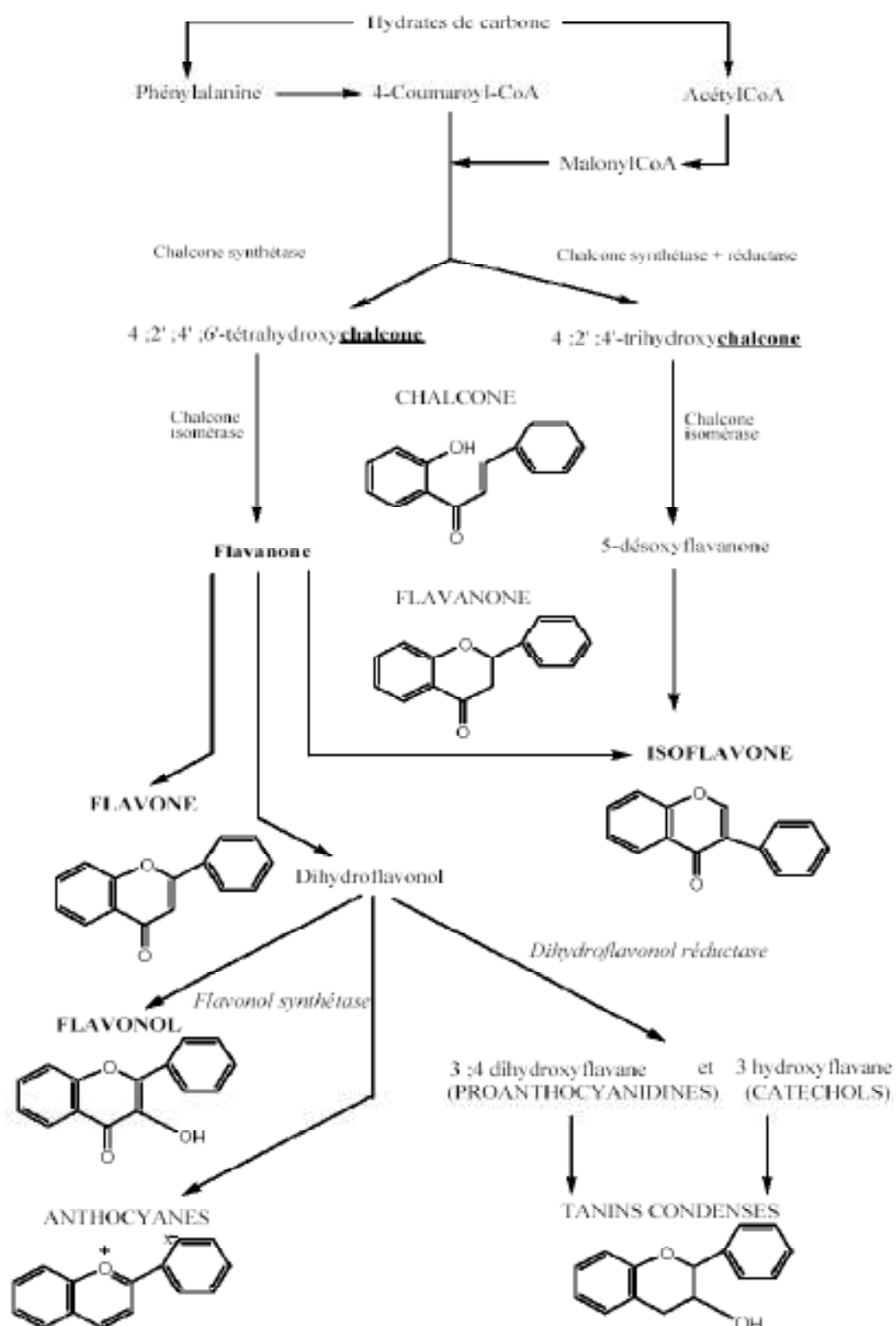


Figure 04. Voie de biosynthèse des flavonoïdes (Athamena, 2009).

2.2.4. 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. Les propriétés des flavonoïdes sont largement étudiées dans le domaine médical où on leur reconnaît des activités anti-virales, anti-tumorales, anti-inflammatoires, anti-allergiques, anti-cancéreuses, activité anti-oxydante, et ils possèdent des propriétés antifongiques et antibactériennes. Inhibition enzymatique on peut citer à titre d'exemple, la chrysin et la quercétine (**Bruneton, 1999**).

2.2.5. Consommation des flavonoïdes

La consommation quotidienne des flavonoïdes est de 14.4 mg dont (35.2%) viennent des fruits, (19.1%) des légumes, (16.9%) du vin et (16.0%) du thé (**Ramassamy, 2006**).

La quercétine est régulièrement consommée par l'homme car c'est le flavonoïde principal trouvé dans le régime alimentaire (**Tieppo et al., 2007**).

2.2.6. Diversité et distribution des flavonoïdes

Les flavonoïdes peuvent se trouver sous différentes formes dans les plantes, ces formes sont modifiées par une additionnelle hydroxylation, méthylation et plus généralement la glycosylation (**Iwashina, 2000**). Cette dernière peut changer la polarité de la molécule et même ses propriétés biologiques, et sensiblement accroître le poids moléculaire des flavonoïdes (**Harborne, 1986**).

La distribution des flavonoïdes dans les plantes dépend de plusieurs facteurs, notamment la variation en fonction de la phylogénétique, l'ordre, la famille de la plante, et la variation des populations à l'intérieur des espèces (**Harborne, 1986**). Ces composés sont largement abondants dans: les fleurs, les végétaux, les céréales, les noix, les graines, les tiges et, et même dans le thé et le vin (**Dewanto et al., 2002**). D'autres travaux ont signalé la présence de ces composés dans le miel et dans de nombreuses plantes médicinales (**Grange et Davey, 1990**).

Leur mode de répartition dépend de leur degré d'accessibilité à la lumière car la formation des flavonoïdes les plus oxydés est accélérée par la lumière. En effet, les flavonols sont presque exclusivement présents dans les légumes à feuilles et les fruits à l'état glycosylé. Ils sont situés principalement dans les feuilles, les fleurs, et les parties extérieures de la plante comme la peau. Cependant, les flavonols sont trouvés sous forme de traces dans les parties de

la plante au-dessous de la surface du sol à l'exception d'oignons (**Harbone, 1986 ; Kuhnau, 1976 ; Hertog *et al.*, 1992 ; Crozier *et al.*, 1997**).

2.2.7. Rôle des flavonoïdes chez la plantes

Les flavonoïdes sont des pigments susceptibles d'assurer la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement UV (**Hadi, 2004**), la coloration n'est alors perçue que par les insectes qui sont ainsi efficacement attirés et guidés vers le nectar et donc contraints à assurer le transport du pollen (**Bruneton, 1994**). On peut également noter que les flavonoïdes, en repoussant certains insectes par leur goût désagréable, peuvent jouer un rôle dans la protection des plantes.

Les flavonoïdes montrent d'autres propriétés intéressantes dans le contrôle de la croissance et du développement des plantes en interagissant d'une manière complexe avec diverses hormones végétales de croissance. Certains d'entre eux jouent également un rôle de phytoalexines, c'est-à-dire des métabolites que la plante synthétise en grande quantité pour lutter contre une infection causée par des champignons ou par des bactéries (**Marfak, 2003**). De plus ils sont impliqués dans la photosensibilisation, la morphogenèse, la détermination sexuelle, la photosynthèse et la régulation des hormones de croissance des plantes (**Athamena, 2009**).

Les flavonoïdes jouent un rôle important dans l'interaction symbiotique entre bactéries de la famille des Rhizobiaceae et leurs plantes hôtes de la famille des légumineuses. Les bactéries reconnaissent des flavonoïdes et d'autres molécules sécrétées par la plante, ces molécules induisent la production de facteurs Nod par les *Rhizobia*, qui déclenchent le programme de nodogenèse chez la plante hôte (**Mergaert *et al.*, 2001**).

2.2.8. Emplois thérapeutiques des flavonoïdes

L'utilité thérapeutique de ces composés a été démontrée dans les hémorragies gastro-intestinales, avortement habituel, ménorragie, cystite saignante, tuberculose hémoptysie, la maladie de Ménière, épistaxis, rétinopathie, hémorroïdes et syndrome de Raynaud. Ils ont été fréquemment combinés avec la vitamine K et l'acide ascorbique.

Une étude clinique a permis de montrer une activité anticancéreuse de la quercétine, administrée par voie intraveineuse chez des patients atteints du cancer. Le resveratrol est actuellement en phase I d'étude clinique pour son utilisation dans le traitement du sida. Il est

également en phase d'études préclinique et clinique pour son utilisation dans le traitement de divers cancers (Martin et Andriantsitohaina, 2002).

2.3. Les terpènes

Les terpènes ou terpénoïdes sont une classe d'hydrocarbures, hydrosolubles, quelque fois volatiles et unis par une origine commune. Les précurseurs de tous les isoprénoïdes, le pyrophosphate d'isopentényle (IPP) et son isomère allylique pyrophosphate diméthylallyl (DMAPP), sont synthétisés dans les plantes supérieures, Les terpènes se rencontrent également chez les Métazoaires (ex : phéromones et hormones sesquiterpéniques des Hexapodes).

(Modolo *et al*, 2009).

Selon le nombre d'unités isopréniques qui les constituent, on distingue : les terpènes ou monoterpènes en C₁₀, les sesquiterpènes en C₁₅, les diterpènes en C₂₀, les triterpènes C₃₀, et les tétraterpènes C₄₀ (Badiaga, 2011; Cowan, 1999).

Les monoterpénoïdes sont des composants majeurs des arômes de plantes. Ces produits naturels volatiles, appelés huiles essentielles, constituent la base de l'industrie de la parfumerie et des arômes (Badiaga, 2011).

Les stéroïdes sont dérivés de triterpènes tétracycliques et possèdent un squelette cyclopenta-perhydro-phénanthrène. La disponibilité, la cristallinité et la conformation bien définie des stéroïdes signifient qu'ils sont devenus des substrats appropriés pour étudier l'influence des facteurs stériques sur les taux de réaction et les mécanismes.

Beaucoup de stérols se produisent sous forme de glycosides caractérisés par les saponines stéroïdiens. Ceux-ci sont responsables de la formation de mousse produite par de nombreuses plantes. Un certain nombre de stéroïdes végétaux possèdent une activité pharmacologique intéressante. Il s'agit notamment des glycosides digitaliques (cardénolides) de la digitale *Digitalis lanata*. Ceux-ci sont utilisés dans le traitement de l'insuffisance cardiaque.

2.4. Les alcaloïdes

2.4.1. Définition des alcaloïdes

Le terme alcaloïde a été utilisé par le pharmacien allemand W. MEISNER au début du 19ème siècle pour désigner les substances naturelles réagissant comme des bases, comme des alcalis de l'arabe al kaly, la soude et du grec eidos, l'aspect).

Ils sont chimiquement des matières organiques composées de carbone, d'hydrogène, d'azote et d'oxygène (Badiaga, 2011).

Pelletier (1983) a défini le terme alcaloïde de la manière suivante: « un alcaloïde est un composé cyclique qui contient de l'azote dans un état d'oxydation négatif qui est de distribution limitée parmi les organismes vivants ».

Pour **Hemingway et Phillipson, (1980)** «un alcaloïde est une substance organique azoté (appartenant au vivant) d'origine végétale, à caractère alcalin et présentant une structure complexe ». Plusieurs auteurs pensaient que ces alcaloïdes avaient pour origine le seul règne végétal. Mais, au fil du temps un certain nombre d'alcaloïdes a été isolé chez certains animaux (**Badiaga, 2011; Mann et al., 1994**).

2.4.2. Différents types d'alcaloïdes

D'après **Bruneton (1999)**, les alcaloïdes sont divisés en trois genres :

- ◆ **Alcaloïdes vrais:** représentent le plus grand nombre d'alcaloïdes. Ils sont toxiques et disposent d'un large spectre d'activités biologiques importantes. D'après certains auteurs, ils sont issus du seul règne végétal. Ils existent à l'état de sels et l'on peut ajouter qu'ils sont bio synthétiquement formés à partir d'un acide aminé.
- ◆ **Pseudo-alcaloïdes:** représentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas dérivés des acides aminés.
- ◆ **Proto-alcaloïdes:** ce sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique. Ils ont une réaction basique et sont élaborés *in vivo* à partir d'acides aminés.

2.4.3. Source d'alcaloïdes

De nos jours, on évalue à plus de 10.000 alcaloïdes différents déjà isolés (ou détectés) à partir de sources végétales, animales ou de micro-organismes (**Waller et Nowacki, 1978**).

A. Les végétaux

Les alcaloïdes sont des composés présents pour l'essentiel dans les plantes supérieures comme les Angiospermes. Certaines familles botaniques comme les *Papaveraceae*, les *Papilionaceae*, les *Ranunculaceae* et les *Solanaceae* ont une tendance marquée à élaborer des alcaloïdes : c'est vrai aussi bien chez les Monocotylédones que chez les Dicotylédones (**Badiaga, 2011**).

Les plantes les plus connues, dont sont issus les alcaloïdes les plus utilisés, sont la belladone (atropine), le pavot (morphine) et la pervenche de Madagascar.

Cependant, des investigations récentes ont démontré que plusieurs familles de plantes en contiennent également. C'est notamment le cas des *Rubiaceae* à laquelle appartient *Nauclea latifolia* (**Hemingway et Phillipson, 1980; Adegoke et al., 1968**).

B. Autres sources d'alcaloïdes

On rencontre exceptionnellement les alcaloïdes chez les bactéries, mais sont assez rares chez les champignons (**Badiaga, 2011**).

Pendant longtemps, les alcaloïdes ont été considérés comme des produits du métabolisme des seuls végétaux. En réalité, certains animaux renferment des structures alcaloïdiques (**Badiaga, 2011**).


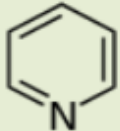
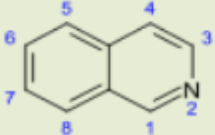
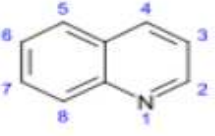
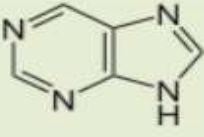
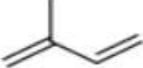
2.4.4. Classification par structure des alcaloïdes

Une des classifications possible concerne le nombre de cycles (**Tableau II**) contenant l'atome d'azote (**Badiaga, 2011**).

- 1 seul cycle contenant l'atome d'azote
- 2 cycle contenant l'atome d'azote
- Hétérocycles aromatiques

Etude phytochimique de la partie aérienne de *Zygophyllum album* et l'évaluation de ses activités antimicrobiennes

Tableau II. Principales classes d'alcaloïdes (Badiaga, 2011; Springob et Kutchan, 2009).

Classe	Principaux groupes	Exemples
Dérivés du tropane 	Atropines Substitution en positions 3, 6 ou 7	Atropine, scopolamine, hyoscyamine
	Cocaïnes Substitution en positions 2 et 3	Cocaïne, ecgonine
Dérivés de la pyridine 	Dérivés simples de la pyridine	Trigonelline
	Dérivés polycycliques de pyridine non condensé	Nicotine
Dérivés isoquinoléiniques et alcaloïdes associés 	Dérivés de 1- et 2-benzyl-isoquinolines	Papaverine
	Protoberberines	Berberine
	Morphines	Morphine, codéine
Dérivés de la quinoléine 	Quinines	Quinines, quinidines
Dérivés de purine 		Caféine, théobromine
Diterpènes 	Lycoctonine	Aconitine

2.4.5. Origine biosynthétique des alcaloïdes

Nous avons noté précédemment que l'origine des alcaloïdes vrais remonte aux acides aminés entre autres : l'ornithine, la lysine, la phénylalanine, la tyrosine, le tryptophane, l'histidine et l'acide anthranilique (**Figure 05**).

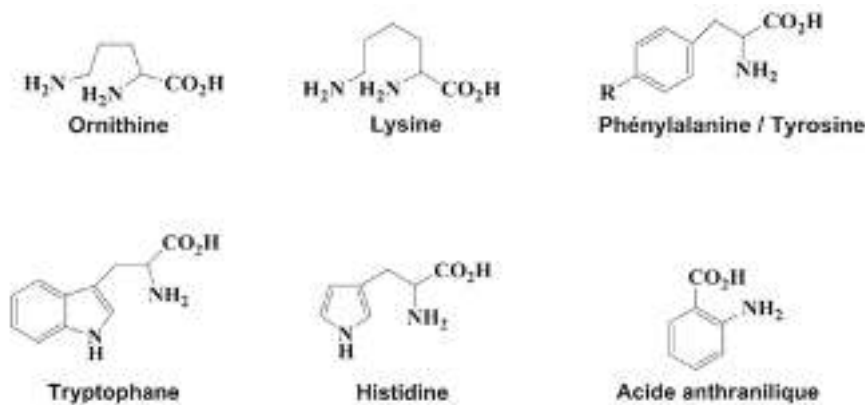


Figure 05. Une image représente l'origine de biosynthétique des alcaloïdes.

2.4.6. Localisation des alcaloïdes

Les alcaloïdes sont rarement libres dans la plante, ils existent sous forme de glycosides ou de sels d'acide citrique, malique, tartrique, etc... Ou sont combinés avec les tanins.

(Badiaga, 2011).

2.4.7. Fonction des alcaloïdes

Le rôle des alcaloïdes dans les végétaux est encore largement inconnu. Certaines théories prédisent que certains alcaloïdes interviennent dans les relations plantes / prédateurs en protégeant les premières contre l'agression des seconds.

Plusieurs alcaloïdes sont très toxiques et offrent, par conséquent, un arsenal chimique de défense des plantes contre l'attaque des herbivores et des micro-organismes (**Badiaga, 2011 ; Bhat *et al.*, 2005**). Par exemple, la nicotine empêche la croissance des larves du tabac. En outre, certains alcaloïdes protègent les plantes contre les dommages provoqués par la lumière UV. Ils constituent aussi une réserve de substances capables de fournir l'azote ou d'autres fragments nécessaires au développement de la plante.

Les alcaloïdes sont impliqués dans une chimie de communications inter et intra-espèce. Dans les relations inter-espèce, le goût amer est une approche non négligeable souvent suivie de la toxicité, si le goût repousse, la toxicité affaiblit puis tue les herbivores (**Badiaga, 2011; Bhat *et al.*, 2005**).

2.4.8. Utilité et usages pharmacologique des alcaloïdes

Les alcaloïdes sont recherchés pour leurs effets physiologiques constituant ainsi des substances particulièrement intéressantes pour leurs activités pharmacologiques qui s'exercent dans les domaines les plus variés:

Au niveau du système nerveux central, qu'ils soient antidépresseurs (morphine, scopolamine) ou stimulants (strychnine, caféine); Au niveau du système nerveux autonome: sympathomimétiques (éphédrine) ou sympatholytiques, parasympathomimétiques, anticholinergiques et ganglioplégiques. On notera aussi l'existence de curarisants, d'anesthésiques locaux, d'antifibrillants, d'antitumoraux, et d'antipaludiques qui sont utilisés dans d'autres domaines (**Bruneton, 1999**).

3.1. Activité antimicrobienne des extraits des plantes

L'utilisation des antibiotiques conduit dans la très grande majorité des cas à la sélection de populations microbiennes résistantes. Cette résistance est due à des mutations chromosomiques ou à l'acquisition de gènes de résistance, portés par des éléments génétiques mobiles (plasmides, phages, transposons, intégrons). Ces résistances ont conduits à chercher de nouveau agents antimicrobiens possédant une efficacité plus importante que les drogues synthétiques d'une part, et bien accepté par l'organisme d'autre part (sans exercer des effets délétères sur la santé humaine) (**García-Ruiz et al., 2008 ; Boudjouref, 2011**).

Beaucoup de groupes de recherches ont étudié l'activité antimicrobienne des extraits de plantes médicinales telles que le fenouil (*Foeniculum vulgare*), la menthe poivrée (*Mentha piperita*), le thym (*Thymus vulgaris*). Ils ont trouvé que ces extraits sont actifs non seulement contre les bactéries mai aussi contre les champignons, les levures et les virus (**Jürgen et al., 2009**).

D'autres groupes de chercheurs ont isolé et identifié les métabolites responsables de l'activité antimicrobienne des extraits de plantes. Cette étape constitue une plateforme pour plusieurs implications incluant l'industries pharmaceutique, la médecine alternative, et la thérapie naturelle (**Huang et al., 2008**).

3.1.1. Les bactéries

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires 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 (Bacteria) et bactéries primitives (Archaea). Toutes les bactéries rencontrées en pathologie appartiennent aux Bacteria. Les bactéries ont généralement un diamètre inférieur à 1µm. On peut les voir au microscope optique, à l'état frais ou après coloration. Leur forme peut être sphérique (cocci), en bâtonnet (bacilles), incurvée (vibrions) ou spiralée (spirochètes). Les détails de leur structure ne sont visibles qu'en microscopie électronique (**Nauciel et Vildé, 2005**).

3.1.2. Culture des bactéries

On utilise habituellement pour cultiver les bactéries des milieux complexes à base d'extraits ou d'hydrolysats enzymatiques de viandes. Ces milieux peuvent être liquides (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.

Etude phytochimique de la partie aérienne de *Zygophyllum album* et l'évaluation de ses activités antimicrobiennes

En milieu liquide, les bactéries se dispersent librement et leur multiplication se traduit par un trouble, le 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 bactéries 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 viables dans un échantillon (Nauciel et Vildé., 2005).

3.2. Description des microorganismes étudiés

Tableau III. Description des microorganismes testés.

Les microorganismes	Type de microorganismes	Caractères	Référence
<i>Candida albicans</i>	Levure	Est une levure non pigmentée, à bourgeonnement multiple, une sorte de champignon microscopique, saprophyte endogène. Dans certains cas, elle peut devenir pathogène et est alors responsable de candidose.	Moulinier, 2003
<i>Sarcina lutea</i>	bactéries de cocci à Gram-positif	Plusieurs membres du genre sont dans la flore humaine et peuvent être trouvés dans la peau et le gros intestin. Ils ont un agencement de cellules cubiques.	Crowther, 1971
	bactérie catalase- positive (bactérie à gram +)	On la trouve habituellement dans le sol, mais c'est surtout une espèce ubiquitaire.	

Etude phytochimique de la partie aérienne de *Zygophyllum album* et l'évaluation de ses activités antimicrobiennes

<i>Bacillus subtilis</i>		Elle a pour forme cellulaire des bâtonnets droits. Elle est mobile grâce à une ciliature périt riche . Elle est aérobic stricte. Elle n'est pas considérée comme pathogène pour l'homme.	
<i>Escherichia coli</i>	Est un bacille à gram négatif	De forme non sporulée, de type anaérobic facultative, généralement mobile grâce aux flagelles. Les bactéries appartenant à l'espèce <i>E. coli</i> constituent la majeure partie de la flore microbienne aérobic du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux.	Patrick <i>et al.</i> , 1988 Steven <i>et al.</i>, 2004
<i>Staphylococcus aureus</i>	Sont des cocci à Gram positif	Sa forme est sphérique. Elles sont regroupées en diplocoques ou en petits amas, ce type de bactéries sont immobiles, asporulées. <i>S. aureus</i> provoque des maladies telles que la méningite, l'ostéomyélite et la diarrhée.	Patrick <i>et al.</i>, 1988 Steven <i>et al.</i>, 2004

Notre stage pratique a été réalisé sur une durée de quatre mois (avril-juillet), au sein du laboratoire d'extraction des huiles essentielles de l'institut national de la recherche forestières (INRF, Baïnass) pour la réalisation de la partie d'extraction. Le dosage des polyphénols et des flavonoïdes ainsi que l'activité antimicrobienne ont été réalisés au niveau du laboratoire de physicochimie et de microbiologie de « SAIDAL » Médéa.

Les objectifs de ce travail :

-la réalisation d'une analyse phytochimique qualitative de la partie aérienne de *Zygophyllum album*.

-dosage quantitatif, par spectrophotométrie des polyphénols totaux et des flavonoïdes.

-étude de l'activité antimicrobienne (bactérie, levure) en utilisant deux méthodes :

- Technique de diffusion sur gélose
- Technique de micro-dilution (concentration minimale inhibitrice CMI)

IV.1. Matériel

A. Matériel biologique

A.1. Matériel végétal

Notre étude est réalisée sur la partie aérienne (feuilles, fleurs et tiges) de *Zygophyllum album*. Cette dernière est récoltée dans la région de l'Ahaggar (wilaya de Tamanrasset, Algérie). Elle est séchée à l'ombre, broyée en poudre puis stockée dans un flacon en verre pour qu'elle soit prête à l'utilisation (**Figure 06**).



Figure 06. Partie aérienne de *Zygothymus album* (Récolte, 2015)

A.2. Souches microbiennes

Les souches utilisées pour déceler l'activité antimicrobienne des trois extraits (l'extrait éthanolique, l'extrait aqueux, l'extrait des alcaloïdes totaux) de *Zygothymus album* sont :

■ Souche fongique

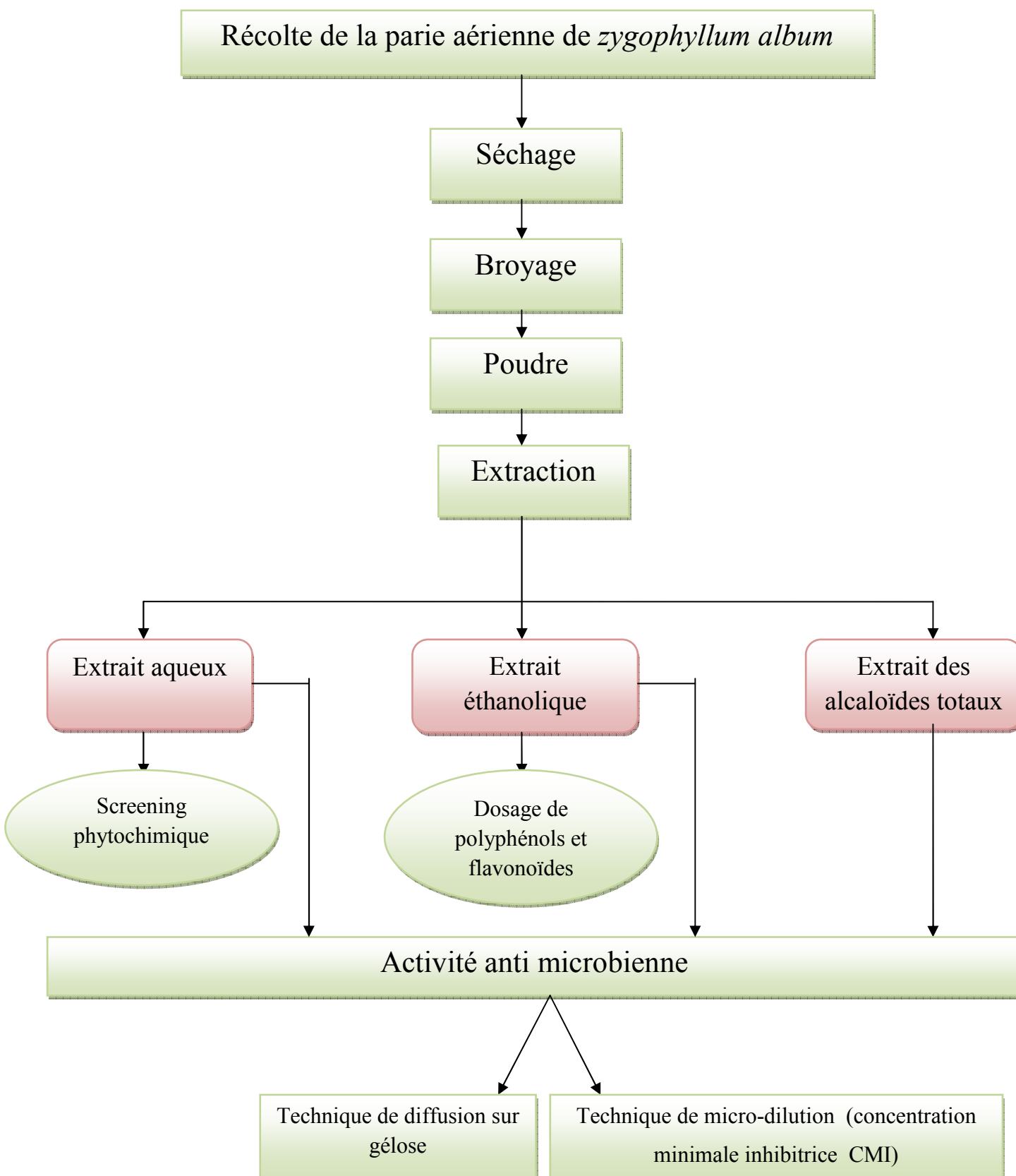
Candida albicans, référentielle de l'américain type culture collection (ATCC10237), elle a été fournie par le laboratoire de microbiologie «SAIDAL- Média ».

■ souches bactériennes

Sont au nombre de quatre souches, repertoriées dans le tableau 03 :

Tableau IV. Souches bactériennes utilisées pour l'étude de l'activité antibactérienne.

Type de bactérie	Les souches bactériennes	Code des souches bactériennes
Les bactéries à Gram positif	<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC6633 Fournie par le laboratoire de microbiologie SAIDAL
	<i>Sarcina lutea</i>	IIS Pasteur
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Fournie par l'institut Pasteur
Les bactéries à Gram négatif	<i>Escherichia coli</i>	Fournie par l'institut Pasteur

B. Matériel non biologique (Voir annexe 10)**Figure 07.** Diagramme des différentes méthodes expérimentales.

IV.2. Méthodes

IV.2.1. Préparation des extraits de *Zygophyllum album*

a. Préparation de l'extrait éthanolique

L'extrait éthanolique est préparé par macération de 100g de poudre végétale dans 500ml d'éthanol (96%), à raison de 20 % (P/V), à température ambiante pendant 24 heures.

L'agitation est assurée par un agitateur magnétique pendant 15min.

Après 24 heures, l'extrait est filtré. Le filtrat est évaporé à 40°C. Le résidu pâteux obtenu est pesé puis conservé à 4°C (Babu *et al.*, 2003) (Figure 08).

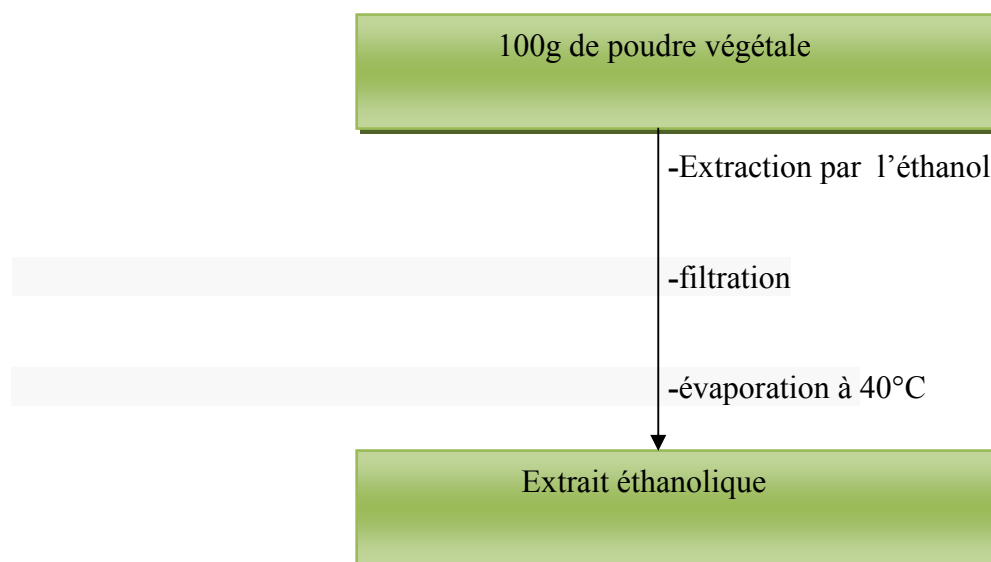


Figure 08. Protocole expérimental de l'extrait éthanolique.

b. Extraction des alcaloïdes

L'extraction des alcaloïdes consiste à prendre 200mg de poudre végétale séchée dans une étuve à 40°C pendant 48heures. Elle est ensuite épuisée avec 20 ml d'acide chlorhydrique (HCl de 0,1N) pendant 20 minutes sous agitation magnétique. Après filtration (sur papier filtre), le surnageant est alcalinisé avec de l'ammoniac(NH₄OH) jusqu'à pH 9,5.

La solution aqueuse obtenue est épuisée 3 fois par le chloroforme (CHCl₃) à volumes égaux (v/v). (Figure 09)

La solution du chloroforme obtenue est évaporée à sec, le résidu sec obtenu correspond aux alcaloïdes totaux (Amdoun *et al.*, 2008) (Figure 10).



Figure 09. Épuisement de La solution aqueuse obtenue par le chloroforme (CHCl_3) à volumes égaux (v/v).

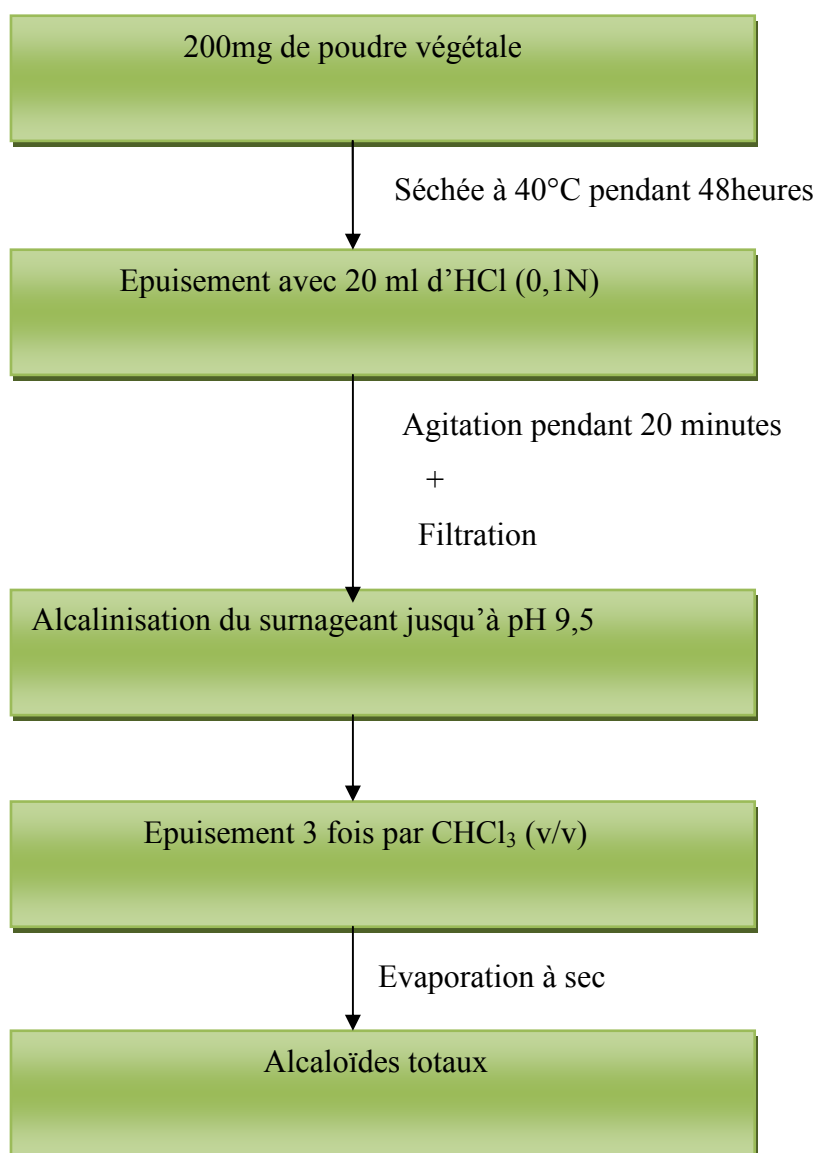


Figure 10. Protocole expérimental d'extraction des alcaloïdes totaux d'après Amdoun, 2008.

c. Préparation de l'extrait aqueux

L'extrait aqueux de la partie aérienne de *Zygophyllum album* a été préparé par la méthode traditionnelle "infusion" de la manière suivante : Une pesée de (20g) de la poudre de la plante est ajoutée à un volume de 100ml d'eau distillée bouillie. Le mélange est laissé pendant 30min en infusion avec une agitation de temps en temps. L'extrait aqueux est ensuite centrifugé à 1000 tours/min pendant 10 min puis filtré sur papier Wattman. Le filtrat à 20% est récupéré dans un flacon en verre.

d. Calcul du rendement de l'extrait éthanolique et des alcaloïdes totaux

L'équation permettant de calculer le rendement des extraits est la suivante :

$$R = \frac{(P_1 - P_2)}{P_3} * 100$$

Avec :

P₁ : Poids du ballon après évaporation,

P₂ : Poids du ballon avant évaporation (ballon vide),

P₃ : Poids de la matière végétale de départ (**Mechernene, 2014**).

IV.2.2. Analyse phytochimique

C'est un ensemble de réactions colorimétriques, qui permet de mettre en évidence la présence ou l'absence de certains composés chimiques recherchés (les métabolites secondaires) responsables de l'activité particulière de la plante. Les tests phytochimiques sont réalisés soit sur poudre ou sur extrait aqueux. Les résultats obtenus ont été évalués comme suit : (+): Test Positif ; (-) : Test Négatif ; ND : Non déterminé.

IV.2.2.1. Protocoles utilisés

Différents protocoles ont été utilisés pour mettre en évidence les différents constituants de *Zygophyllum album*. Ainsi pour :

↳ Les flavonoïdes

Mettre 10g de poudre dans 150 ml d'HCL concentré (37%), dilué à 1% pendant 24h puis on filtre et on procède au test suivant :

Prendre 10 ml du filtrat, le milieu rendu basique par l'ajout de 5 ml du NH₄OH concentré (30%). Un test positif est révélé par l'apparition d'une couleur jaune dans la partie supérieure du tube à essai (**N'Guessan et al, 2009**).

☞ **Les tanins**

La présence des tannins est mise en évidence en ajoutant à 1ml d'extrait aqueux de 20%, 1 ml d'eau et 1 à 2 gouttes de solution de $FeCl_3$ diluée 10% (10 g dans 100 ml d'eau distillée). L'apparition d'une coloration verte foncée ou bleu-vert indique la présence des tanins (**Karumi et al, 2004**).

☞ **Les alcaloïdes**

Prendre 5ml d'extrait aqueux de 10% auquel on ajoute 3 ml d'acide sulfurique concentré (96%) (H_2SO_4) et 5ml d'une solution d'iodo mercurate de potassium (réactif de valder mayer). La formation d'un précipité blanc et marron respectivement indique la présence des alcaloïdes (**Majob et al., 2003**).

☞ **Les coumarines**

Prendre 2 g de la poudre + 20ml d'éthanol absolu, bouillir pendant 15 min à reflux puis refroidir et filtrer. Prendre 2 à 3 ml de filtrat, ajouter 10 gouttes de KOH dilué dans l'éthanol 10% (10 g de poudre dans 100 ml d'éthanol) et quelques gouttes de HCL concentré (37%) dilué à (10%). Le mélange prend une couleur rouge (**Gherib, 1988**).

☞ **Les anthocyanines**

Prendre 5ml d'extrait de 20% mélangé avec 4ml d'hydroxyle d'ammoniac (NH_4OH) concentré (30%). L'apparition d'une coloration rouge indique la présence des anthocyanine (**Gherib, 1988**).

☞ **Les glucosides :**

Mélanger 2g de poudre de plante avec quelques gouttes d'acide sulfurique (H_2SO_4) concentré (96%), le mélange prend une couleur rouge-bleue (**Gherib, 1988**).

☞ **Les Terpènes :**

Prendre 5ml d'extrait de 20% mélangé avec 5ml d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) et 5ml d'acide sulfurique concentré (96%) (H_2SO_4). L'obtention d'une couleur bleue indique la présence des terpènes (**Gherib, 1988**).

☞ **les saponosides :**

On entend par saponoside des hétérosides à aglycones de structure stéroïde ou tri terpénique qui tiennent une grande place parmi les substances d'origine végétale. Pour leur extraction, on prend 2ml d'extrait de 20 % auquel on ajoute 2 ml d'une solution d'acétate de plomb ($Pb(C_2H_3O_2)_2$). On s'est basé sur l'indice de mousse, on relève la hauteur de la mousse en cm. Si elle est supérieur à 1 cm cela indique la présence de saponosides (**N'Guessan et al, 2009**).

IV.2.3. Etude quantitative par spectrophotométrie

Le principe repose sur l'absorbance de la lumière par les espèces chimiques. L'appareil comporte une source de lumière blanche, un système dispersif permettant de sélectionner la longueur d'onde de la radiation et un système détecteur permettant la mesure de l'intensité lumineuse de la radiation monochromatique traversant la solution. Le spectrophotomètre effectue une comparaison entre les intensités lumineuses incidentes et transmises et permet par l'intermédiaire d'un circuit électronique d'afficher l'absorbance. Ceci se traduit par une loi d'absorption appelée loi de Beer-Lambert (**Di denedetto et al., 2007**).

$$A = \varepsilon \cdot l \cdot c$$

A : Absorbance sans unité

ε : Coefficient d'absorption moléculaire (l.mol⁻¹.cm⁻¹) ou coefficient d'extraction molaire (cm².mol⁻¹).

C : Concentration de la substance dans la solution (mol/l)

IV.2.3.1. Dosage des polyphénols totaux

A. Principe

La teneur en phénols totaux de notre extrait a été déterminée par la méthode de Singleton (**Singleton et Rossi, 1965**) en utilisant le réactif de Folin–Ciocalteu. Ce réactif est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀).

Le réactif de Folin-Ciocalteu est réduit lors de l'oxydation des phénols en un mélange d'oxyde bleus de tungstène (W₈O₂₃) et de molybdène (Mo₈O₃).

Les phénols sont estimés à l'aide d'un Spectrophotomètre ultraviolet-visible, dont l'acide gallique est utilisé comme un standard à une longueur d'onde $\lambda = 765\text{nm}$. (**Figure 11**)

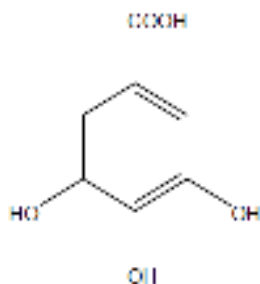


Figure 11. Structure de l'acide gallique

B. La courbe d'étalonnage de l'acide gallique:

A partir d'une solution mère aqueuse d'acide gallique, de concentration massique de 0,2 mg/ml, une gamme étalon de solutions filles en milieu aqueux a été préparée. (0.10/0.12/0.14/0.16/0.18mg/ml).

A l'aide d'une micropipette, 200 µl de chaque solution fille sont mis dans un tube à essai puis on ajoute 200 µl du réactif de folin-Ciocalteu à 10 % (10 fois diluée dans de l'eau distillée). Après deux minutes d'incubation, 4 ml de carbonate de sodium Na₂CO₃ à 2 % sont ajoutés. Les tubes sont ensuite agités et placés à l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante.

La lecture de l'absorbance de chaque solution préparée est mesurée à l'aide d'un Spectrophotomètre ultraviolet-visible, à une longueur d'onde de 765 nm contre un blanc préparé de la même manière sauf qu'il ne contient pas d'acide gallique mais de l'éthanol. Les valeurs de l'absorbance de chaque concentration nous ont permis de tracer la courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Pour la quantification de phénols totaux dans l'extrait éthanolique, nous avons suivi la même procédure décrite précédemment.

La concentration des polyphénols totaux présents dans l'extraits éthanolique exprimée en mg équivalent d'acide gallique/mg d'extrait est calculée selon la formule suivante :

$$[\text{Polyphénols}] = a. f / b$$

a = concentration des polyphénols en mg/ml déterminée à partir de courbe étalon.

f= facteur de dilution.

b= Concentration initiale de l'extrait éthanolique (0.5mg/ml) (Mechernene, 2014).

IV.2.3.2. Dosage des flavonoïdes

A. Principe

Les teneurs des flavonoïdes ont été mesurées par une méthode utilisant le trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) comme réactif, qui forme un complexe très stable avec les groupements hydroxydes (OH) des phénols. Ce complexe jaune absorbe la lumière visible à une longueur d'onde à 430 nm. La quantité des flavonoïdes dans notre extrait, a été calculée à partir d'une courbe d'étalonnage d'un flavonoïde étalon (la quercétine) (Figure 12).

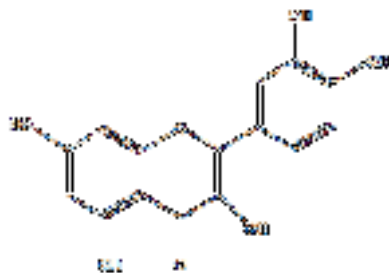


Figure 12. Structure du Quercétine.

B. La courbe d'étalonnage de la Quercétine

Djeridane *et al.* en 2006, ont déterminé le flavonoïde contenu dans l'extrait de *Zygophyllum album*. Un standard de calibration a été préparé en utilisant des solutions de Quercétine de différentes concentrations (10/20/40/80/100 μ g/l).

1ml de chaque solution fille est placé dans un tube à essai, suivi par l'addition d'1 ml du trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) à 2 %. Les tubes sont ensuite agités légèrement et incubés à l'obscurité pendant 15 minutes à température ambiante. La lecture de l'absorbance de chaque solution préparée a été mesurée dans le même spectrophotomètre à une longueur d'onde de 430 nm contre un blanc. Les valeurs de l'absorbance ainsi obtenues nous ont aidés à tracer la courbe d'étalonnage de la Quercétine.

Le dosage des flavonoïdes dans notre extrait a été effectué de la même manière que la courbe d'étalonnage.

La concentration des flavonoïdes en μg équivalant quercétine /mg d'extrait présents dans notre extrait éthanolique est calculée selon la formule suivante :

$$[\text{Flavonoïdes totaux}] = a.f/b$$

a = concentration des flavonoïdes totaux en $\mu\text{g/l}$ déterminée à partir de la courbe étalon.

f= facteur de dilution.

b= Concentration initiale de l'extrait éthanolique (0.5mg/ml) (Mechernene, 2014).

IV.2.4. Test de l'activité antimicrobienne sur différents milieux

L'activité antimicrobienne des extraits (éthanolique, des alcaloïdes totaux et aqueux) de *Zygophyllum album* a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé et a été évaluée par deux techniques :

- Technique de diffusion sur gélose (méthode de disques ou antibiogramme).
- Technique de micro dilution (concentration minimale inhibitrice ou CMI).

IV.2.4.1. Technique de diffusion sur gélose

a. Préparation de standard de Mc farland 0.5%

Dans une fiole on a mélangé 0.5ml d'une solution de chlorure de baryum dihydraté ($\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) à 1% avec 99.5ml d'acide sulfurique H_2SO_4 à 1%. L'étalon de Mc farland doit présenter une densité optique de (0.08 à 0.1) à 625nm.

b. Préparation de l'inoculum

L'inoculum est préparé à partir d'une culture jeune de 18 à 24 heures sur milieu gélosé non sélectif. On a choisi 4 à 5 colonies bien isolées avec une anse de platine. Ces colonies sont transférées dans un tube de solution d'eau physiologique 0.9 %. La suspension bactérienne est bien homogénéisée avec un vortex afin d'avoir une densité cellulaire initiale ou une turbidité voisine à celle de Mc Farland 0,5. Cette comparaison est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à 625 nm qui correspond à une densité optique de 0.08 – 0.1. Donc, la suspension bactérienne contient approximativement $1 \text{ à } 2 \times 10^8$ UFC/ml. L'inoculum ainsi préparé ne doit pas être utilisé au-delà de 15min.

c. Ensemencement

Dans les 15 minutes suivant l'ajustement de la turbidité de la suspension servant d'inoculum, on a trempé un écouvillon dans la suspension et on a étalé la surface entière de la

gélose (TSA, SA, SAB, PDA) par des stries serrées tout en tournant après chaque application la boîte à 60° pour avoir une distribution égale de l'inoculum. Enfin, on a écouvillonné partout autour du bord de la surface de la gélose.

d. Dépôt des disques

Des disques de papier filtres stériles Wattman de 9 millimètres de diamètre sont imprégnés (50µl) de différentes solutions des extraits (éthanolique, des alcaloïdes totaux et aqueux) préalablement dissouts dans le diméthylsulfoxyde (DMSO). À l'aide d'une pince stérile, les disques sont déposés à la surface d'un milieuensemencé (étalé) par une suspension microbienne d'une densité optique de 0.5 McFarland.

Le principe de dépôt des disques reste le même pour l'ensemble de nos trois extraits et des cinq souches.

d.1. L'activité antimicrobienne de l'extrait éthanolique

L'extrait éthanolique a été séché dans l'étuve pour évaporer le solvant (l'éthanol), et pour éliminer son effet antimicrobien. On a obtenu une pâte, qu'on a récupérée avec le (DMSO).

La première étape est la préparation de l'extrait mère concentré à 1%. On l'obtient en versant 1g de pâte avec 1ml de DMSO dans un flacon injectable (**Figure 13**).



Figure 13. Flacon injectable contient l'extrait éthanolique à 1%.

La deuxième étape est le dépôt des disques. Ils sont imbibés avec 50µl de l'extrait éthanolique, puis déposés stérilement à l'aide d'une pince sur la surface de la gélose préalablementensemencée.

- Pour *Candida albicans*, on a utilisé les milieux sabouraud (**Annexe 03**) et PDA (**Annexe 04**).

- Pour les quatre souches bactériennes on a utilisé les milieux TSA (**Annexe 01**) et SA (**Annexe 02**).

d.2. L'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux

L'extrait aqueux de la partie aérienne de *Zygodhullum album* a été préparé par la méthode d'infusion, 10g de la poudre de notre plante est ajouté à un volume de 20ml d'eau distillée bouillie, le mélange est laissé pendant 30 min en infusion avec une agitation de temps en temps. L'extrait aqueux est ensuite centrifugé à 1000 tours/min pendant 10 min puis filtré sur papier Wattman. Le filtrat est récupéré dans un flacon en verre.

Les disques sont imprégnés (50 μ l) de l'extrait aqueux, puis déposés à la surface de la gélose préalablement ensemencée.

- Pour *Candida albicans*, un seul milieu PDA a été utilisé.
- Pour les 04 souches bactériennes, nous avons utilisé les milieux SA et TSA.

d.3. L'activité antimicrobienne de l'extrait des alcaloïdes totaux

On a imprégné les disques par 50 μ l de l'extrait aqueux et procédé de la même manière soit : sous les mêmes conditions, avec la même méthode qu'on a utilisé dans les tests précédents.

- Seul le milieu PDA est utilisé pour la levure
- Les milieux SA et TSA pour les 04 souches bactériennes.

Il est à signaler que le DMSO n'a pas un effet antimicrobien.

e. Incubation

Après 15 min de l'application des disques, les boites sont incubées pendant 18 à 24 heures à 35 °C pour les bactéries et 48h à 25°C pour la levure. L'effet des extraits se traduit par l'apparition autour de disque d'une zone circulaire transparente correspondant à l'absence de la croissance. Plus le diamètre de cette zone est grand plus la souche est sensible (**Choi et al., 2006**). Des disques imprégnés de DMSO et d'éthanol sont aussi utilisés (témoins négatifs) pour voir l'effet antimicrobien du solvant utilisé pendant l'extraction.

f. Expression des résultats

L'activité antibactérienne a été déterminée en mesurant à l'aide d'une règle le diamètre de la zone d'inhibition, déterminé par les différentes concentrations des différents extraits autour des disques. Les résultats sont ainsi exprimés (**Keshavarz et al., 1996**):

- Fortement inhibitrice : le diamètre de la zone doit être supérieur à 28mm.
- Modérément inhibitrice : le diamètre de la zone doit varier entre 16 et 28mm.
- Légèrement inhibitrice : le diamètre de la zone doit varier entre 10 et 16mm.
- Non inhibitrice : le diamètre de la zone doit être inférieur à 10mm.

IV.2.4.2. Technique de micro-dilution (concentration minimale inhibitrice CMI)

Dans le présent test, nous avons utilisé la technique de CMI, cette technique a pour but de déterminer la concentration minimale inhibitrice, qui est la plus faible concentration de l'agent antimicrobien qui inhibe la croissance des microorganismes (**Mezouar, 2013**).

Le principe est de diluer l'extrait à plusieurs concentrations. La concentration doit être en cascade (décroissante) sachant que l'extrait mère est le plus concentré.

La méthode suivante a été appliquée :

Selon les dilutions, 3 à 4 tubes pour chaque extrait sont préparés. Deux extraits sont dilués par le DMSO (extrait éthanolique, l'extrait des alcaloïdes totaux), et on utilise l'eau distillée pour la dilution de l'extrait aqueux. La dilution se fait comme suit :

- On prend 1ml de l'extrait mère (le plus concentré) et on ajuste le volume à 10ml avec le diluant (DMSO, eau distillée) avec une concentration de 90%. C'est le tube numéro « 01 ».
- Mettre 1ml de solution du tube « 01 » auquel on rajoute 9ml de diluant. On obtient le tube numéro « 02 » concentré à 80%.
- On prend 1ml de solution du tube « 02 » qu'on complète par 9ml de diluant. C'est le tube numéro « 03 » concentré à 70%.

Remarque :

L'extrait éthanolique concentré à 100% a été dilué 03 fois (70% - 80% - 80%).

L'extrait aqueux concentré à 50% a été dilué 04 fois (10% - 20% - 30% - 40%).

L'extrait des alcaloïdes totaux concentré à 0.9% a été dilué 02 fois (0.7% 0.8%).

2.1. Analyse phytochimique

Les essais phytochimiques effectués sur l'extrait aqueux de la partie aérienne de *Zygophyllum album* ont révélé la présence des coumarines, des saponosides et les anthocyanines. Les composés les plus abondants sont les alcaloïdes, les tanins, les flavonoïdes et les glucosides. Le test de recherche des terpènes a été négatif sur notre extrait (**tableau V**). D'après **Touari (2014)**, ces tests ont pour but de détecter les différents métabolites secondaires dans la partie aérienne de cette espèce par des réactions qualitatives, qui sont basées soit sur des phénomènes de précipitation ou bien de coloration par des réactifs spécifiques (**Annexe 06**).

Tableau V. Résultats de l'étude phytochimique.

Famille chimique		L'extrait aqueux
Les substances poly-phénoliques	Flavonoïdes	+
	Tanins	+
	Anthocyanines	+
Coumarines		+
Saponosides		+
Alcaloïdes		+
Terpènes		-
Glucosides		+

(+) : Test positif ; (-) : Test négatif.

Nos résultats sont renforcés par des travaux de **Sameh et al en 2011**, qui ont démontré la présence des flavonoïdes dans les extraits de deux espèces *Z. album* et *Z. simplex*.

En **2012**, **Touari** a révélé la présence des flavonoïdes, les terpènes, les saponosides, les alcaloïdes et les glucosides chez *Z. album*, d'autre part elle a trouvée des résultats négatifs pour les anthocyanines et les coumarines. Cette différence de résultats est peut être due à :

- La différence des conditions de croissance de chaque plante.
- La différence des conditions de conservation de la plante.
- Les conditions de manipulation dans le laboratoire.

Medjdoub et al., 2013 ont détecté la présence de tanins, saponosides, flavonoides, glucosides, et les alcaloïdes chez l'espèce de *Z. geslini coss*, d'autre part, les dosages qu'ils ont fait montrent que la plante contient 7,72 % de flavonoides, 26,5 % de tanins et 13,55 % de saponosides et à partir de ses résultats on peut supposer que la présence des ces métabolites dans l'extrait donne une certaine toxicité.

2.2. Détermination des caractéristiques physiques et les rendements des extraits de *Zygophyllum album*.

Après extraction et récupération des extraits sous forme de poudre ou de pâte, le rendement, la couleur, l'aspect physique ainsi que la solubilité de chaque extrait ont été déterminés. Ils sont représentés dans le tableau VI.

Tableau VI. Caractéristiques des extraits préparés à partir de la partie arienne de *Zygophyllum album*.

Extrait	Aspect physique	Couleur	Rendement (%)	Solubilité
Ethanolique	Pâte	Marron foncé	18	Ethanol (96%) (v/v)
Alcaloïde	Poudre	Blanche	0.045	DMSO (v/v)

2.3. Analyse quantitative des polyphénols et flavonoïdes

2.3.1. La teneur de l'extrait éthanolique en polyphénols

La teneur de l'extrait éthanolique en polyphénols a été déterminée par la méthode du Folin-Ciocalteu et exprimée en mg EAG/mg d'extrait (mg équivalent acide gallique sur mg d'extrait). La figure (14) représente la courbe étalon de l'acide gallique et le tableau VII représente les différentes absorbances par rapport à la concentration d'acide gallique.

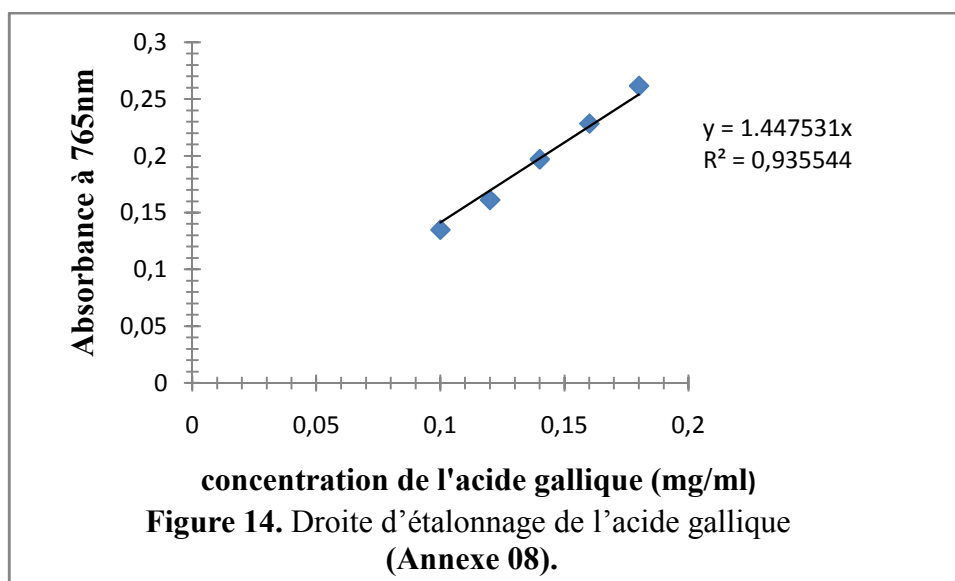


Tableau VII. Les différents absorbance par rapport à la concentration d'acide gallique

Absorbance nm	0,1706	0,1613	0,1970	0,2284	0,2616
Concentration mg/ml de l'acide galique	0.10	0.12	0.14	0.16	0.18

Le dosage quantitative à permis de quantifier le taux des polyphénols dans l'extrait éthanolique de *Zygothymus album*. Les quantités de polyphénols ont été rapportées en équivalent gramme de l'étalon utilisé.

Ainsi pour notre essai, la teneur en polyphénols totaux obtenus dans l'extrait éthanolique de la partie aérienne de *Zygothymus album* est de 3.938 mg EAG/mg d'extrait. Chouih (2012) a obtenu 1.9 µg EAG/g par méthanol pour les polyphénols pour les feuilles de cette espèce. Belguidoum (2012), rapporte que la teneur en polyphénols obtenue pour la plante entière de *Zygothymus album* est de 2.355 mg/g par n-butanol et de 1.79 mg/g par acétate d'éthyle.

Quant à la plante entière de *Zygothymus cornutum*, ce même auteur obtient les teneurs de 4.75 mg/g par n-butanol et 1.98 mg/g par acétate d'éthyle pour les polyphénols.

2.3.2. La teneur de l'extrait éthanolique en flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes est quantifiée par la méthode au trichlorure d'aluminium (AlCl₃) et exprimée en mg EQ /g de poudre (mg équivalent quercétine sur gramme de poudre). La figure 15, représente la courbe étalon de la quercétine, tableau VIII représente les différents absorbance par rapport au concentration de la quercétine.

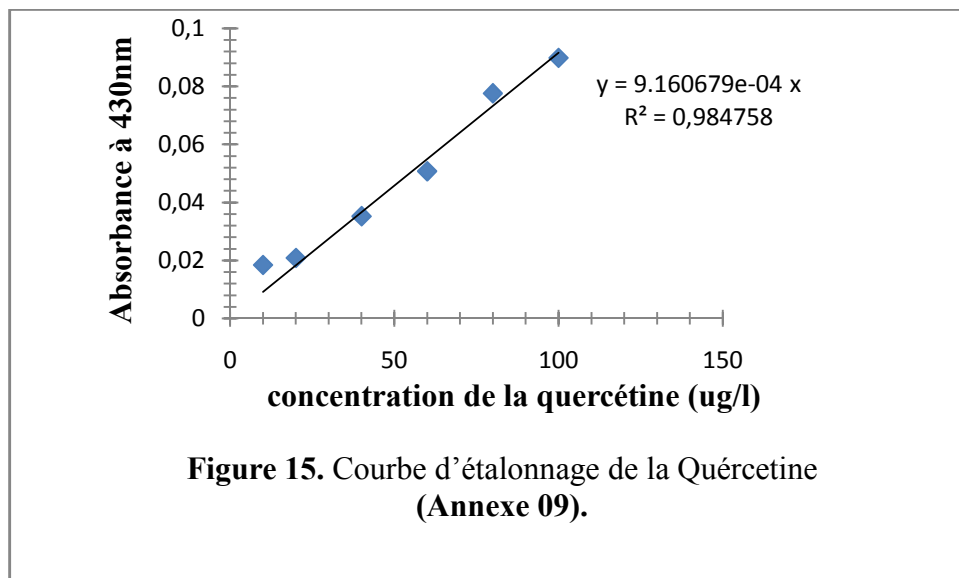


Tableau VIII.les différents absorbance par rapport à la concentration de la quercétine

Absorbance nm	0,0184	0,0208	0,0352	0,0507	0,0776	0,0898
Concentration de la quercétine on µg/l	10	20	40	60	80	100

Le dosage quantitative à permis de quantifier le taux de flavonoïdes dans l'extrait éthanolique de *Zygodphyllum album*. Les quantités des flavonoïdes ont été rapportées en équivalent gramme de l'étalon utilisé.

Ainsi pour notre essai, la teneur en les flavonoïdes obtenus dans l'extrait éthanolique de la partie aérienne de *Zygodphyllum album* est de 0.00402 mg EQ/mg d'extrait. Chouih (2012) a obtenu 1.1 µg EQ/g pour les feuilles de cette espèce. Belguidoum (2012), rapporte

que la teneur en flavonoïdes obtenue pour la plante entière de *Zygophyllum album* est de 1.945mg/g n-butanol et de 0.805 par acétate d'éthyle.

Quant à la plante entière de *Zygophyllum cornutum*, ce même auteur obtient les teneurs de 5.85 mg/g par n-butanol et 0.74 mg/g par acétate d'éthyle.

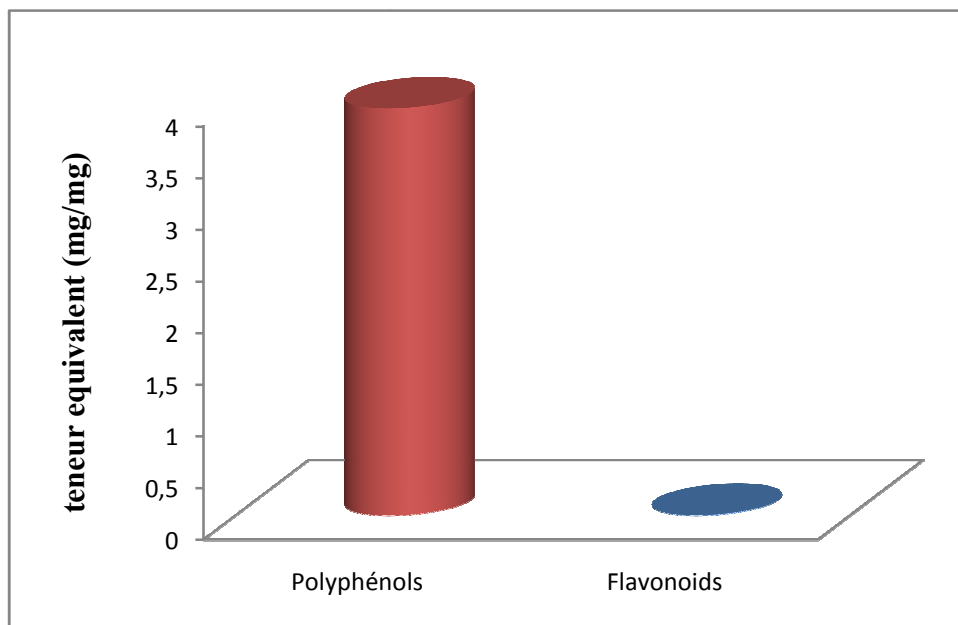


Figure 16. Histogramme comparative entre la teneur des polyphénols et des flavonoïdes.

2.4. Résultat de l'activité antimicrobienne sur différents milieux

2.4.1. Activité antimicrobienne de l'extrait éthanolique

L'antibiogramme consiste à chercher la sensibilité des souches vis-à-vis des extraits. Les valeurs en mm des zones d'inhibitions, révélées par l'extrait éthanolique représentent les différentes souches étudiées. Les résultats de l'effet antimicrobien de l'extrait éthanolique (100%) sont résumés dans le tableau IX.

Tableau IX. Zones d'inhibition en mm, obtenues pour l'extrait éthanolique à 100%, de *Zygophyllum album*.

Les souches Milieu de culture	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Sarcina lutea</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Candida albicans</i>
SA	9	9	9	9	-
TSA	10	9	9	10	-

SAB	-	-	-	-	9
PDA	-	-	-	-	9

L'extrait éthanolique obtenu par macération ne montre pas une activité antimicrobienne forte sur les quatre milieux de culture. Pour les souches suivantes : *Staphylococcus aureus*, *Sarcina lutea*, *Candida albicans*, les résultats sont nuls donc l'extrait n'as aucun effet sur ces souches.

D'autre part, l'extrait éthanolique a donné une activité légèrement inhibitrice de 10mm sur *Escherichia coli* et *Bacillus subtilis*. Nous remarquons que l'extrait éthanolique donne presque les mêmes résultats sur différents milieux de culture, toutes les souches montrent une forte résistance (**Annexe 07**).

2.4.2. Résultat de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux

Les résultats de l'effet antimicrobien de l'extrait aqueux à 50% sont résumés dans le tableau X :

Tableau X. Zones d'inhibition en mm, obtenues pour l'extrait aqueux à 50%, de *Zygophyllum album*.

Les souches Milieu de culture	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Sarcina lutea</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Candida albicans</i>
SA	15	12	20	17	-
TSA	18	11	18	15	-
PDA	-	-	-	-	10.5

Les résultats montrent une activité antibactérienne variable entre les différents extraits vis-à-vis des souches microbiennes. à 0.5% l'extrait aqueux montre une activité légèrement inhibitrice pour les souches suivantes : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* appliquées sur le milieu soja agar et *Bacillus subtilis* sur le milieu trypticase soja agar.

Par contre, une activité modérément inhibitrice a été détectée sur *Sarcina lutea* et *Bacillus subtilis* (diamètre d'inhibitions 20 et 17 respectivement en mm). D'autre part *Escherichia coli* et *Sarcina lutea* présentent une zone d'inhibition avec un diamètre de 18mm sur le milieu TSA.

Le résultat obtenu pour l'activité antifongique de *Candida albicans*, montre une activité légèrement inhibitrice (**Annexe 07**).

Les plantes sont riches en une grande variété de métabolites secondaires tels que les tanins, les terpènes, les alcaloïdes, les flavonoïdes, peuvent être responsables de l'activité antimicrobiennes. Puisque ces métabolites sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes (Cown, 1999).

2.4.3. Activité antimicrobienne de l'extrait des alcaloïdes totaux

Les résultats de l'effet antimicrobien de l'extrait des alcaloïdes totaux à 0.9 % sont résumés dans le tableau XI :

Tableau XI. Zones d'inhibition en mm, obtenues pour l'extrait alcaloïdes totaux à 0.9% de *Zygophyllum album*.

Les souches Milieu de culture	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Sarcina lutea</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Candida albicans</i>
SA	12.5	11	10.5	11.5	-
TSA	10	9	14	9	-
PDA	-	-	-	-	11

D'après les résultats obtenus, l'extrait des alcaloïdes totaux de la partie aérienne semble avoir une action légèrement inhibitrice sur toutes les souches microbiennes. Par contre aucun effet antibactérien n'a pu être détecté sur le milieu TSA pour les souches suivantes: *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*.

L'activité antibactérienne a été testée sur des extraits obtenus par différentes méthodes d'extraction : infusion et macération. Les meilleurs résultats ont été obtenus pour l'extrait aqueux qui a réagi avec toutes les souches microbiennes sur les différents milieux de culture. Par contre l'extrait éthanolique macéré a montré une faible activité (diamètre d'inhibition ne dépasse pas le 10 mm) et aucun effet fongique sur *candida albicans*. L'extrait des alcaloïdes totaux, a présenté un effet un peu fort contre la levure et d'autres souches bactériennes. L'étude phytochimique de la partie aérienne de *Zygophyllum album* que nous avons réalisée, nous a permis de suggérer que les effets antimicrobiens obtenus peuvent être dus à l'action des flavonoïdes, les composés phénoliques, les tanins et les alcaloïdes (Touari, 2012 ; Rojas et al., 1992).

Naili et al (2010), ont étudié l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique des feuilles d'*A. campestris*. Ils ont utilisé plusieurs souches dont *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, les résultats obtenus dans cette étude ont montré que cet extrait possède un effet inhibiteur sur toutes les bactéries étudiées. Nous avons remarqué que malgré l'utilisation de différents milieux de culture pour l'activité fongique et bactérienne qui a pour but de voir la différence entre ces milieux les résultats obtenus restent plus ou moins proches et similaires (**Annexe 07**).

2.4.4. Détermination de la concentration minimale inhibitrice

Sur la base des résultats obtenus pour la technique des disques, nous avons déterminé la concentration minimale inhibitrice des différents extraits actifs sur les cinq souches microbiennes.

A. La concentration minimale inhibitrice de l'extrait éthanolique

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) en mm de l'extrait éthanolique de la partie aérienne de *Zygodophyllum album* vis-à-vis des souches microbiennes sont consignées dans le tableau XII.

Tableau XII. Variation de la zone d'inhibition (mm) de l'extrait éthanolique, à différents concentration.

Les concentrations de l'extrait éthanolique	70%		80%		90%	
	SA	TSA	SA	TSA	SA	TSA
Les souches Microbiennes						
Milieu de culture pour les levures	SAB		SAB		SAB	
<i>Candida albicans</i>	9		9		9	
Milieu de culture pour les bactéries	SA	TSA	SA	TSA	SA	TSA
<i>Escherichia coli</i>	9	9	9	9	9	9
<i>Staphylococcus aureus</i>	9	9	9	9	9	9
<i>Sarcina lutea</i>	9	9	9	9	9	9
<i>Bacillus subtilis</i>	9	9	9	9	9	9

Les CMI obtenus pour l'extrait éthanolique sont nulles à 100%, donc nous supposons que soit l'extrait n'a pas un effet antimicrobien ou alors, les souches microbiennes sont résistantes. Ces résultats sont confortés par les résultats du test de l'activité antimicrobienne de la poudre de *Z.cornutum coss* et d'extrait méthanolique de *Zygophyllum cornutum* qui ont été négatifs sur les 5 souches (Boumaza, 2009).

B. La concentration minimale inhibitrice de l'extrait aqueux

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) en mm de l'extrait aqueux de la partie aérienne de *zygophyllum album* vis-à-vis des souches microbiennes sont représentées dans le tableau XIII :

Tableau XIII. Variation de la zone d'inhibition (mm) de l'extrait aqueux à différents concentration.

Les concentrations de l'extrait aqueux Les souches Microbiennes	10%		20%		30%		40%	
	PDA		PDA		PDA		PDA	
Milieu de culture pour les levures	PDA		PDA		PDA		PDA	
<i>Candida albicans</i>	9		11		14		9	
Milieu de culture pour les bactéries	SA	TSA	SA	TSA	SA	TSA	SA	TSA
<i>Escherichia coli</i>	12	12	9	9	9	9	9	9
<i>Staphylococcus Aureus</i>	12.8	10	16	12	13	11	12	9
<i>Sarcinalutea</i>	10.5	11	9	12	9	12	10	15
<i>Bacillus subtilis</i>	12.7	13	10	18	10	17	9	15

C. La concentration minimale inhibitrice de l'extrait des alcaloïdes totaux

Les concentrations minimales inhibitrices CMI en mm de l'extrait des alcaloïdes totaux de la partie aérienne de *zygophyllum album* vis-à-vis des souches microbiennes sont représentées dans le tableau XIV :

Tableau XIV. Variation de la zone d'inhibition (mm) de l'extrait des alcaloïdes totaux à différents concentration.

Les concentrations de l'extrait alcaloïdes totaux	0.7%		0.8%	
	Les souches Microbiennes			
Milieu de culture pour les levures	PDA		PDA	
<i>Candida albicans</i>	14		9	
Milieu de culture pour les bactéries	SA	TSA	SA	TSA
<i>Escherichia coli</i>	9.5	9.5	9	10
<i>Staphylococcus Aureus</i>	15	13	16	12.8
<i>Sarcina lutea</i>	15	13	14	14
<i>Bacillus subtilis</i>	11.8	12	14	16.5

Les CMI de l'activité antifongique obtenue pour l'extrait aqueux sont comparables à celles de l'extrait des alcaloïdes totaux. La levure montre une CMI la plus élevée de 14 mm (à 30% pour l'extrait aqueux et 0.7% pour l'extrait des alcaloïdes totaux respectivement).

Bacillus subtilis a présente une meilleure action inhibitrice, la CMI est modérée, elle est de 18 mm pour L'extrait aqueux à 20%. Cette bactérie a présenté le meilleur résultat, soit une CMI la plus élevée pour l'extrait des alcaloïdes totaux à 0.8%, ceci montre que c'est une souche la plus sensible aux extraits.

Cependant, l'extrait des alcaloïdes totaux et l'extrait aqueux ont montré une CMI légère lorsque le diamètre de la zone d'inhibition est compris entre (10-16 mm) vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* et *Sarcina lutea*. Ces derniers sont plus ou moins sensibles aux extraits. Par contre, la souche bactérienne la plus résistante aux extraits de *Zygophyllum album* est *Escherichia coli*, où la CMI la plus faible est obtenu pour l'extrait aqueux (environ 9- 12mm).

Les résultats obtenus de *Candida albicans* montrent que les extraits (aqueux et des alcaloïdes totaux) de *Zygophyllum album* possèdent une activité antifongique intéressante. D'autre part, l'extrait éthanolique n'a aucun effet antimicrobien sur toutes les souches (**Annexe 07**).

Le présent travail a pour objectif, l'étude phytochimique de la partie aérienne de *Zygophyllum album* ainsi que l'évaluation de ses activités biologiques : antibactériennes et antifongique.

Afin d'évaluer les effets biologiques de cette espèce, nous avons procédé à des extractions de la partie aérienne de la plante. L'extraction peut affecter la quantité et la composition en métabolites secondaires d'un extrait, de plus plusieurs facteurs peuvent influencer l'extraction : le mode et le temps d'extraction, la température, la nature du solvant et sa concentration ainsi que la polarité qui permet de solubiliser les composés de polarité similaire au solvant (Green, 2004 ; Ncube *et al*, 2008).

L'analyse phytochimique qualitative a révélé la présence d'alcaloïdes, de tanins, de flavonoïdes et de glucosides, les coumarines, les saponosides et les anthocyanines et l'absence des terpènes dans l'extrait.

L'analyse quantitative de l'extrait éthanolique macéré de notre plante est représentée par le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes, révélant une concentration de 3.938 mg EAG/ mg d'extrait et 0.00402 mg EQ/mg d'extrait respectivement.

L'activité antimicrobienne des différents extraits éthanolique et aqueux et des alcaloïdes totaux a été évaluée vis-à-vis des souches de bactéries *Staphylococcus aureus*, *Sarcina lutea*, *Bacillus subtilis* et *Escherichia coli* et de levure *Candida albicans*, par la méthode de diffusion sur gélose, et la détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI.

La méthode de disque a permis de déterminer l'action de l'extrait aqueux et les extraits éthanolique des alcaloïdes totaux de la plante qui dissouts dans le DMSO se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier préalablement imprégné de l'extrait. 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 antimicrobienne des extraits explique les variations de leurs compositions chimiques.

Dans l'activité antibactérienne, l'extrait aqueux infusé s'est révélé le plus actif vis-à-vis des souches *Sarcina lutea*, *Bacillus subtilis* et *Escherichia coli* suivi de l'extrait des alcaloïdes totaux. L'extrait éthanolique s'est avéré l'extrait le moins actif. La majorité des bons résultats de ce test est obtenue sur le milieu SA.

Tous les extraits ont réagi positivement au moins sur une des souches microbiennes testées ce qui confirme que la plante *Zygophyllum album* est pourvue de propriétés antimicrobiennes. Les souches suivantes : *Sarcina lutea*, *Bacillus subtilis* et *Escherichia coli*

se révèlent les plus sensibles pour les extraits aqueux et des alcaloïdes totaux. La souche de *Staphylococcus aureus* est plus ou moins résistante que les souches précédentes.

La CMI a été déterminée pour les différentes souches microbiennes, toutes les souches ne montrent aucune sensibilité pour l'extrait éthanolique à différentes concentrations, la souche *d'E. Coli* a été la plus résistante aux extraits de la plante.

Les souches bactériennes restantes montrent une CMI moyenne où les concentrations de l'extrait aqueux et de l'extrait des alcaloïdes totaux sont faibles. *Candida albicans* présente une sensibilité légère aux extraits aqueux et des alcaloïdes totaux ou les concentrations sont faible (30%, 0.7% respectivement).

Les mécanismes d'action de chaque composé phénolique contre diverses bactéries sont très compliqués, il serait donc nécessaire d'étudier et de comprendre le rapport entre l'activité antimicrobienne et la structure chimique du composé phénolique dans les extraits examinés.

A travers ce travail nous pensons montrer que *Zygophyllum album* utilisée traditionnellement par la population saharienne pour traiter certaines infections dont le diabète est une plante qui constitue un réservoir très intéressant pour la recherche de nouvelles molécules. Actuellement, l'évaluation des plantes médicinales pour leurs activités biologiques a augmenté considérablement en Algérie.

En effet, les molécules isolées à partir des plantes médicinales sont certainement intéressantes pour être utilisées comme thérapie alternative ou comme modèle pour la synthèse de nouvelles substances.

Nos perspectives sont de:

- Confirmer les présents résultats on réalisant une étude phytochimique détaillée.
- Dosage et identification des autres métabolites secondaires (les alcaloïdes).
- Tester l'activité antimicrobienne on utilisant un panel de microorganismes (bactérie, levure, virus) et également tester d'autres méthodes d'extraction.
- Etudie l'activité anti-hyperglycémiant

Références bibliographiques

Les sites

(1) : (Source [www.sahara-nature.com/image_ aff.](http://www.sahara-nature.com/image_aff))

A

Abdelly C. (2008) Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities .C. R. Biologies.331, P: 372-379.

Abderrazak M., et Joël R. (2007) La botanique de A à Z. Ed. Dunod. Paris. P: 177.

Adegoke E.A., Akinsanya A., et Naqvi S.H.Z. (1968) Studies of Nigerian medicinal plants. I.A preliminary survey of plants alkaloids. Journal of west Africa Science Assosiation. 13: P: 13-33.

Amdoun R., Khelifi L., Khelifi-slaoui., Zarouri B., Amroune S., Morsli A., Boutoumi Y., Karimi Z. (2008) Chevelu racinaire de *Datura stramonium* L. Induit Par *Agrobacterium Rhizogenes* en vue de la production d'alcaloïdes par voie biotechnologique.Techologie Avancées. 20 : P : 39-44.

Athamena S. (2009) Etude quantitative des flavonoïdes, des graines *Cuminum cyminum* et les feuilles *Rosmarinus officinalis* et l'évaluation de l'activité biologique. Mémoire de magister en Biologie. Université El-Hadj Lakhdar. Batna. P : 21-26.

Atta A.H., Mouneir S.M. (2004) Antidiarrhoeal activity of some Egyptian medicinal plant extracts. Journal of Ethnopharmacology. 92 : P:303–309.

Ayad R. (2008) Recherche et détermination structurale des métabolites secondaires de l'espèce *Zygophyllum cornutum*, Mémoire de Magistère, Université Mentouri de Constantine (Alger) : P:124.

B

Babar Ali M., Hahn E.J., Paek K.Y. (2007) Methyl Jasmonate and Salicylic Acid Induced Oxidative Stress and Accumulation of Phenolics in *Panax ginseng* Bioreactor Root Suspension Cultures. Molecules. 12: P: 607-621.

Badiaga M. (2011) Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali. Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II. French. P : 9-30.

Bahorun T. (1997) Substances naturelles actives : la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. Food and agricultural resarch council, Réduit, Mauritius. P: 83-94.

Babu V., Gangadevi T., Subramoniam A. (2003) Antidiabetic activity of ethanol extract of *Cassia klainii* leaf in streptozotocin induced diabetic rats and isolation of an active fraction and toxicity evaluation of the extract. *Indian Journal of Pharmacology*.35 : P : 290-296.

Belguidoum M. (2012) Une approche phytochimique pour différencier deux espèces de genre *Zygophyllum*. Mémoire master Chimie. Université Ouargla .P :36-39.

Bhat S.V., Nagasampagi B.A., Sivakumar M. (2005) Chemistry of natural products. Narosa, New Delhi, India.4: P: 237.

Bindseil KU., Jakupovic J., Wolf D. (2001) Pure compound libraries; a new perspective for natural product based drug discovery. *Drug Discov. Today*.6 : P : 840 – 847.

Boizot N., et Charpentier .J.P. (2006) Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. *Le cahier des techniques de l'Inra*. P: 79-82.

Boudjouref M. (2011) Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Université Ferhat Abbas, Sétif. Mémoire de Magister en Biochimie. P : 28.

Boumaza A. (2009) Effet de l'extrait méthanolique de *Zygophyllum cornutum* coss contre le stress oxydant associé au diabète sucré et les organes en relation ; Université Mentouri-Constantine. Mémoire de Magister. P : 65-66.

Bruneton J. (1999) Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales – 3^{ème} Ed Techniques et documentations. Paris. P: 227-310-312-313-314-494.

Bruneton J. (1999) Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, (3^{ème} éd.). Paris: Editions médicales internationales. Editions Tec & Doc Lavoisier. France. P: 1120.

Bruneton J. (1999) Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3^{ème} Edition. Tec & Doc (Ed). Paris. P: 575.

C

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: P : 756-761.

Chouih K. (2012) contribution à l'étude phytochimique et biologique de *zygophyllum album* L. (Aggaya). Mémoire de master Biologie. Université Blida. P : 33.

Cowan M. M. (1999) Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*.12 (4) : P : 564-570.

Crowther J. S. (1971) "Sarcina Ventriculi In Human Faeces". *Journal of Medical Microbiology*. 4(3): P: 343–350.

Crozier A., Lean M.E.J., McDonald M.S. (1997) BlackC. Quantitative analysis of the flavonoid content of commercial tomatoes, onions, lettuce and celery. *J. Agric. Food Chem.* 45: P: 590.

D

Dacosta E. (2003) Les phytonutriments bioactifs. Yves Dacosta (Ed). Paris. P: 317.

Dewanto V., Wu X.Z., Liu R.H. (2002) Processed sweet corn has higher antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 50: P: 4959–4964.

Di denedetto D., Breuil. (2007) Spectrophotométrie d'absorption dans l'ultraviolet et le visible, technique d'ingénieur. P: 1-20.

Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P., et Vidal N. (2006) "Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds," *Food Chemistry.* 97(4): P: 654–660.

E

El Hamsas El Youbi A. (2010) Criblage pharmacologique primaire d'une plante endémique originaire du Sud Marocain (*Tetraena gaetula*), Pharmacologie, toxicologie, C. R. Biologies. 333 : P : 736–743.

El Ghouli J., Ghanem-Boughannmi N., Ben Attia M. (2011) Biomedecine Biochemical study on the protective effect of ethanolic extract of *Zygophyllum album* on streptozotocin-induced oxidative stress and toxicity in mice & preventive Nutrition. 1: P: 79–83.

F

Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M., Gomez-Caravaca A.M., Gomez-Romero M., Arraez-Roman D., Segura-Carretero A., Fernandez-Gutierrez A. (2006) Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *J Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* 41: P: 1220-1234.

Fahmy G. M., S. A. Ouf. (1999) Significance of microclimate on phylloplane mycoflora of green and senescing leaves of *Zygophyllum album* L. *Journal of Arid Environments* .41: P:257–276.

Fiorentino A., D'Abrosca B., Pacifico S., Golino A., Mastellone C., Oriano P., Monaco P. (2007) Reactive Oxygen Species Scavenging Activity of Flavone Glycosides from *Melilotus neapolitana*. *Molecules.* 12: P: 263-270.

G

Garcia-Ruiz A., Bartolomé B., Martinez-Rodriguez A.J., Pueyo E., Martin-Alvarez P.J., et Moreno-Arribas M.V. (2008) Potential of phenolic compounds for controlling lactic acid bacteria growth in wine. *Food Control*. 19: P: 835–841.

Georgé S., Brat P., Alter P., Amiot J.M. (2005) Rapid determination of polyphénols and vitamin C in plant-derived products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53 : P: 1370-1373.

Ghestem A., Seguin E., Paris M., et Orecchioni A.M. (2001) Le préparateur en pharmacie dossier 2^{ème} Ed TEC&DOC (Cited in Djemai Zoueglache S, 2008). Paris. P: 275.

Grange J.M., Davey R.W. (1990) Antibacterial properties of propolis (beeglue). *J.R. Soc. Med.*83. P: 159–60.

Ginzburg G., Toderich K.N., Mardonov B.K., Mahmudov M.M. (2003) Rangelands of the arid and semi-arid zones in Uzbekistan. CIRAD.

H

Hadi M. (2004) La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro- oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Thèse Présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur en Sciences de l'Université Louis Pasteur Domaine : Pharmacochimie. P: 155.

Harborne J.B. (1986) Nature, distribution, and function of plant flavonoids. In: Cody V, Middleton E, Harborne JB, eds. «Plant flavonoids in biology and medicine: biochemical, pharmacological, and structure–activity relationships ». New York: Alan R. Liss. 213: P: 15.

Harborne J.B., et Williams C.A. (2000) Advances in flavonoid research since 1992 *Phytochemistry*. 55: P: 481-504.

Hemingway S.R., et Phillipson J.D. (1980) Alkaloids of the Rubiaceae. In: J.D Phillipson and M.H. Zenk (Eds), *Indole and biogenetically Related alkaloids* Academic press. London. P: 62-90.

Hertog M.G.L., Hollman P.C.H., Venema D.P. (1992) Optimization of a quantitative HPLC determination of potentially anticarcinogenic flavonoids in vegetables and fruits. *J Agric Food Chem*. 40. P: 1591.

Houghton P.J. (2000) Use of small scale bioassays in the discovery of novel drugs from natural sources. *Phytother Res*. 14 (6) : P : 419 – 423.

Huang Guangrong., Jiang Jiabin., et Dai Dehui. (2008) Antioxidative and antibacterial activity of the methanol extract of *Artemisia anomala* S. Moore. African Journal of Biotechnol.7 (9): P: 1335-1338.

Hussein S. R., Marzouk M. M., Ibrahim L. F., Kawashty S. A., and Saleh N. A. M. (2011) Flavonoids of *Zygophyllum album* L.f. and *Zygophyllum simplex* L., (Zygophyllaceae), *Biochemical Systematics and Ecology*. 39(4–6): P: 778–780.

I

Iwashina T. (2000) The structure and distribution of the flavonoids in plants. J. Plant Res.113 : P: 287.

J

Judd W.J., Cambell C.J., Kellogg E.A., Stevens P. (2002) Botanique systématique: une perspective phylogénétique, Paris: De Boeck. P : 467.

Jürgen R., Paul S., Ulrike S., et Reinhard S. (2009) Essential Oils of Aromatic Plants with Antibacterial, Antifungal, Antiviral, and Cytotoxic Properties– an Overview: Forsch Komplementmed.16: P :79–90.

K

Karumi Y, Onyeyili PA, Ogugb uaja VO. (2004) Identification of active principales of *M. balsamina* (Balsam apple) leaf extract. J Med Scien. 4 : P : 179 – 182.

Koehn FE., Carter GT. (2005) The evolving role of natural products in drug discovery. Nat Rev Drug Discov. 4 : P : 206 – 220.

Kuhnau J. (1976) The flavonoids, a class of semi-essential food components: their role in human nutrition. World Rev Nutr Diet. 24: P: 7.

L

Larouadi A., Harkouk Y. (2012) Effet du décocté de *Zygophyllum album* Coss sur le diabète et le stress oxydant associé.

Lugasi A., Hovari J., SagiK., et Biro L. (2003) The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. J.Acta.biologica. szegediensis. 47 (1-4), P: 119-125.

Lutge U., Kluge M., Bauer G. (2002) Botanique 3^{ème} Ed: Technique et documentation. Lavoisier .Paris. P : 211.

M

Majob F, Kamalinejab M, Ghaderi N, Vahidipour HR. (2003) Phytochemical screening of some species of Iranian plants. *Iranian J Pharma Res.* P: 77 – 82.

Mann J., Davidson R.S., Hobbs J.B., Banthorpe D.V., Harborne J.B. (1994) Natural products. Longman, Ch. 7: P: 389.

Marfak, A. (2003) Radiolyse gamma des flavonoïdes. Etude de Leur reactivite avec les radicaux issus des Alcools: formation de depsides. Thèse de doctorat. Limoges. P: 6-7-10.

Martin S., Andriantsitohaina R. (2002) Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie.*51: P: 304-315.

Mechernene B. (2014) Évaluation de l'activité antioxydante de quelques extraits de la racine de *Bryonia dioica*. Thèse de master Biologie. Université Tlemcen. P : 26.

Mergaert P., Vaubert D., Györgyey J., Jahni G., Maunoury N., Chaparro Egaña C., Villarroel R., Kelemen Z., Kelemen K., Vinardell J-M., Kondorosi A., et Kondorosi E. (2001) Utilisations d'arrays d'ADNc pour l'étude du développement des nodosités symbiotiques chez *Medicago truncatula*. Ecole thématique Biologie végétale. P: 7.

Modolo LV., Reichert AI., Dixon RA. (2009) Introduction to the Different Classes of Biosynthetic Enzymes. In : Osbourn AE et Lanzotti V, éditeurs. *Plant-derived Natural Products ; Synthesis, Function, and Application.* London New York : Springer. P : 143 – 150.

Moulinier C. (2003) Parasitologie et mycologie médicales Eléments de morphologie et de biologie. E M inter (Ed). P : 796.

Meng X.L., Riordan,N.H., Casciari J.J., Zhu Y., Zhong J., Gonzlez M.J., Miranda-Massari J.R., Riordan H.D. (2002) Effects of a high molecular mass *Convolvulus arvensis* extract on tumor growth and angiogenesis. *PR Health Science Journal* .21: P: 323–328.

Medjdoub H. (2013) Contribution à la recherche d'éventuelles activités biologiques de *Zygophyllum geslini* Coss. Thèse de Doctorat. P : 18.

Mezouar D. (2012) Recherche d'activités biologiques de *Berberis vulgaris*. Mémoire de Magister en Biologie. Université Abou Bekr Belkaïd –Tlemcen. P : 18.

Moustafa A. M. Y., Khodhair A. I., Hammouda F. M., and Husseiny H. A. (2007) Phytochemical and toxicological studies of *Zygophyllum album* L.F., *Journal of Pharmacology and Toxicology.* 2(3): P: 220–237.

N

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: P : 79–84.

Nauciel C., et Vildé J.L. (2005) Bactériologie médicale, 2^{ème} Ed. Masson. Paris. P: 5-10.

Ncube NS., Afolayan AJ., Okoh AI. (2008) Assessment techniques of antimicrobial properties of natural compounds of plant origin : current methods and future trends. *Afri J Biotech.* 7 (12) : P : 1797 – 1806.

N'Guessan K, Kadja B, Zirihi G, Traoré D, Aké-Assi L. (2009) Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Sci Nat.* 6 (1) : P : 1 – 15.

O

Ould el hadj M., Didi H., Hadj-mahammed M., Zabeirou H. (2003) Place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région de Ouargla (Sahara Septentrional Est). *Courrier du Savoir -Université Mohamed Khider – Biskra, Algérie.*03 : P : 47-51

Ozenda P. (1983) Flore du Sahara septentrional, 2^{ème} Edition, paris. P : 622.

Ozenda P. (1977) Flore et végétation du Sahara, Deuxième Ed. CNRS. Paris, France. P : 662.

Ozenda P. (1991) Flore et végétation du Sahara, 3eme Ed. CNRS. Paris, France. P : 662.

P

Pan L., Carcache EJ de Blanco et Kinghorn AD. (2009) Plant-Derived Natural Products as Leads for Drug Discovery. In : Osbourn AE et Lanzotti V, éditeurs. *Plant-derived Natural Products ; Synthesis, Function, and Application.* London New York. Springer. P : 547 – 551.

Patrick B., Jean L., et Michel S. (1988) Bactériologie : Les bactéries des infections humaines. 1^{er} Ed Médecine –Sciences Flammarion. Paris. P: 100-108-274.

Pelletier S.W. (1983) The nature and definition of an alkaloid, in alkaloids, chemical and biological perspectives, opt.Cit. 1: P: 26.

Q

Quezel D., Santa S. (1962) Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales. Ed. Centre National de la Recherche scientifique. Tome 1. P : 558.

Quezel D., Santa S. (1963) Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tom II. 7^{ème} édition, Ed., C.N.R.S., Paris, P : 1170.

R

Ramassamy C. (2006) Emerging role of polyphenolic compounds in treatment of neurodegenerative diseases: A review of their intracellular targets. *European JP pharmacology*. 545: P: 51-64.

Rice-Evans C. (2001) Flavonoid Antioxidants. *Current Medicinal Chemistry*.8: P: 797- 807.

Rojas A., Hernandez L., Pereda-Miranda R., and Mata R. (1992). Screening for antimicrobial activity of crude drug extracts and pure natural products from Mexican medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.* 35: P : 275-283.

S

Sahki A., Sahki R. (2004) *Le Hoggar, Balade Botanique* - Ed. Esope –Chamonix. France. P: 311.

Sahki R., Boucheneb N., SAHKI A. (2004) Guide des principaux arbres et arbustes du Sahara central (Ahaggar et Tassili) - Publication de l'I.N.R.F. P : 141.

Sameh R. Hussein., Mona M. Marzouk., Lamyaa F. Ibrahim., Salwa A. Kawashty., Nabil A.M. Saleh. (2011) Flavonoids of *Zygophyllum album* L.f. and *Zygophyllum simplex* L. (Zygophyllaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*. Cairo, Egypt. 39: P: 778–780

Sarni-Manchado P., Cheynier V. (2006) *Les polyphénols en agroalimentaire*, Lavoisier, Editions Tec & Doc. P : 398.

Seyoum A., Asres K., et El-Fiky F.K. (2006) Structure–radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Phytochemistry*. 67: P: 2058–2070.

Singleton V. L., Rossi J. R. (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic – phosphothungstic acid. *Am. J. Enol. Vitic.* 16: P: 144–158.

Smati D., A. Longeon A., and M. Guyot M.(2004) 3 β -(3,4-Dihydroxycinnamoyl)-erythrodiol, a cytotoxic constituent of *Zygophyllum geslini* collected in the Algerian Sahara, *Journal of Ethnopharmacology*. 95(2-3): P: 405–407.

Springob K., et Kutchan T.M. (2009) Introduction to the Different Classes of Natural Products. In: Osbourn AE et Lanzotti V, éditeurs. *Plant-derived Natural Products; Synthesis, Function, and Application*. London New York: Springer. P: 4 –17.

Steven P., Rachel C., Martha E., Paul H., Jane S., et Peter W.J. (2004) *Microbiology of Waterborne Diseases*. Ed Elsevier Academic Press. P : 71-132.

Stary F. (1992) plantes médicinales .Grud, Paris. P : 224.

T

Tieppo J., Vercelino R., Dias A.S., Silva Vaz, M.F., Silveira T.R., Marroni C.A., Marroni N.P., Henriques J.A.P., Picada J.N. (2007) Evaluation of the protective effects of quercetin in the hepatopulmonary syndrome. *Food and Chemical Toxicology*.45: P: 1140-1146.

Touari K. (2012) Screening phytochimique et essais de culture in vitro de *Zygophyllum album* vue d'une optimization de la production de métabolites secondaires d'intérêt thérapeutique. Mémoire de master. Algérie. P: 52.

W

Waller G.R., et Nowacki E.K. (1978) Alkaloids biology and metabolism in plants. Plenum Press, Nex York. P: 294.

Wang H., Gao X D., Zhou G C., Cai L., Yao W B. (2008) *Food Chemistry*, 106(3):P:888-895.

Les annexes

Annexe 01 : La composition de milieu TSA (Trypticase Soja Agar)

Peptone de caséine : 17g/l

Peptone de farine de soja : 3g/l

Glucose : 2.5g/l

Chlorure de sodium : 5g/l

Phosphate de dipotassique : 2.5g/l

Eau : 500ml

Ph : 7.3



Photo 01 : 500ml d'eau distillée. **Photo 02** : Gélose trypticase soja agar (Milieu TSA).

Annexe 02 : La composition de milieu SA (Soja Agar)

Peptone de caséine : 15 g/l

Peptone de farine de soja : 5g/l

Chlorure de sodium : 5g/l

Agar-agar : 15g /l

Eau : 1000ml

PH : 7.3



Photo 03 : Milieu SA en agitation (1000ml d'eau distillée, 40g de poudre de SA).

Annexe 03 : La composition de milieu SAB (Sabourad Glucose Agar)

D(+) Glucose : 40g/l

Mélange de digest peptique de tissu animal et digest pancréatique de caséine (1 :1) :10g/l

Agar : 15g/l

PH : 5.6

Annexe 04 : La composition de milieu PDA

50g de pomme de terre.

250ml d'eau distillée.

Glucose : 5g

Agar : 3g



Photo 04 : Cette photo représente les étapes de la préparation de milieu PDA.

Annexe 05 : L'activité antimicrobienne de l'extrait (éthanolique, aqueux, d'alcaloïdes) sur différents milieu de culture :

Le milieu SA :

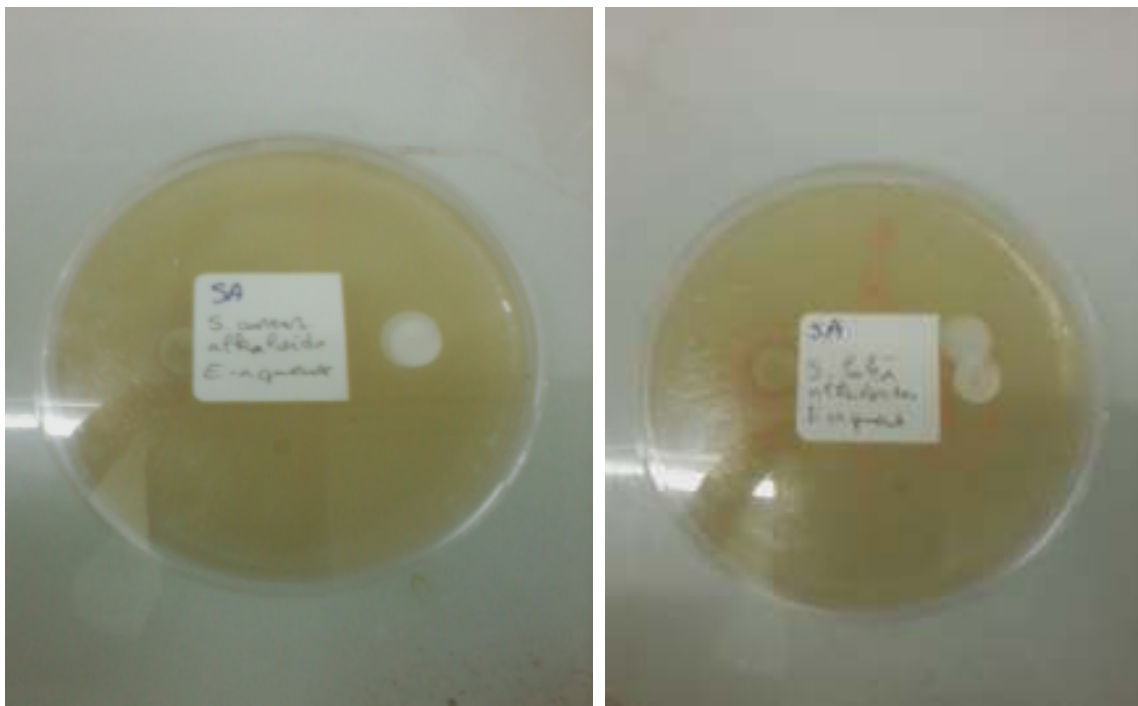


Photo 05 : *Staphylococcus aureus* avec 2 disques **Photo 06 :** *Sarcina lutéa* avec 2 disques

De l'extrait aqueux et l'extrait d'alcaloïdes.

De l'extrait aqueux et l'extrait d'alcaloïdes.



Photo 07 : *Bacillus subtilis* avec 2 disques de l'extrait aqueux et l'extrait d'alcaloïdes.

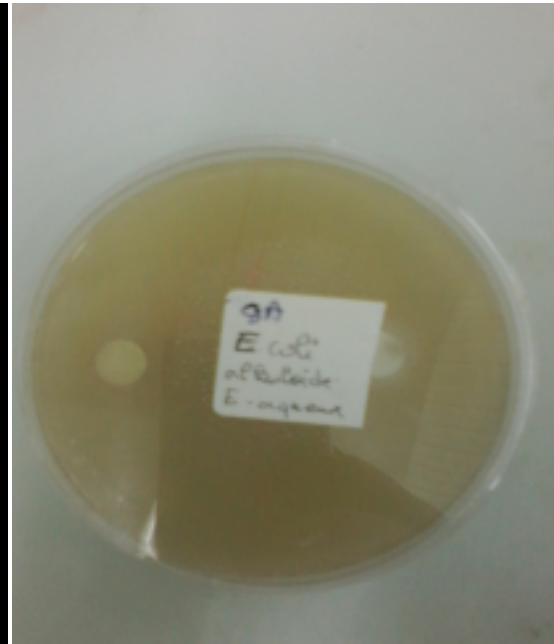


Photo 08 : *Escherichia coli* avec 2 disques de l'extrait aqueux et l'extrait d'alcaloïdes.

Le milieu TSA :



Photo 09 : *Staphylococcus aureus* avec 3 disques de l'extrait (aqueux, éthanolique, et d'alcaloïdes)



Photo 10 : *Sarcina lutea* avec 3 disques de l'extrait (aqueux, éthanolique, d'alcaloïdes)



Photo 11 : *Bacillus subtilis* avec 3 disques de l'extrait (aqueux, éthanolique, d'alcaloïdes).

Photo 12 : *Escherichia coli* avec 3 disques l'extrait (aqueux, éthanolique, d'alcaloïdes).

Le milieu PDA :

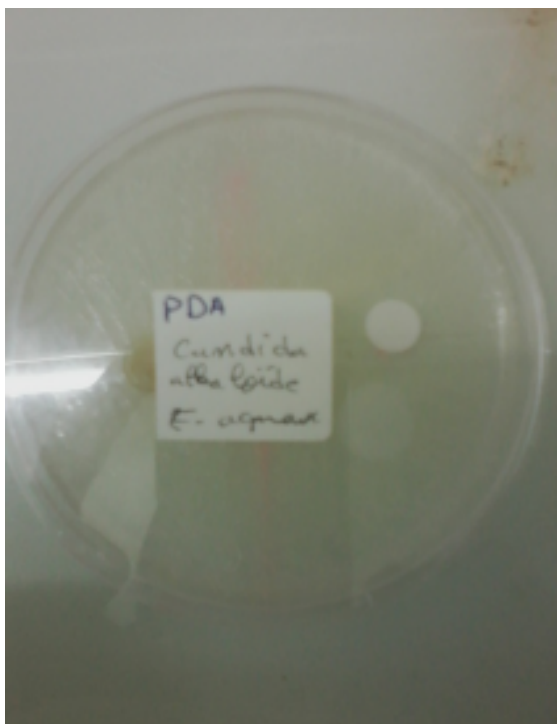


Photo 13 : *Candida albicans* avec 2 disques de l'extrait (aqueux, d'alcaloïdes).

Annexe 06 : les résultats de test phytochimique de quelques métabolites secondaires.



Photo 14 : Résultat de test phytochimique des flavonoïdes et les tanins.



Photo 15 : Résultat de test phytochimique des anthocyanines et les coumarines.



Photo 16 : Résultat de test phytochimique des saponosides et les alcaloïdes.



Photo 17 : Résultat de test phytochimique des terpènes et les glucosides.

Annexe 07 : les résultats de la concentration minimale inhibitrice (CMI) des différents extraits (éthanolique, alcaloïdes totaux, aqueux).

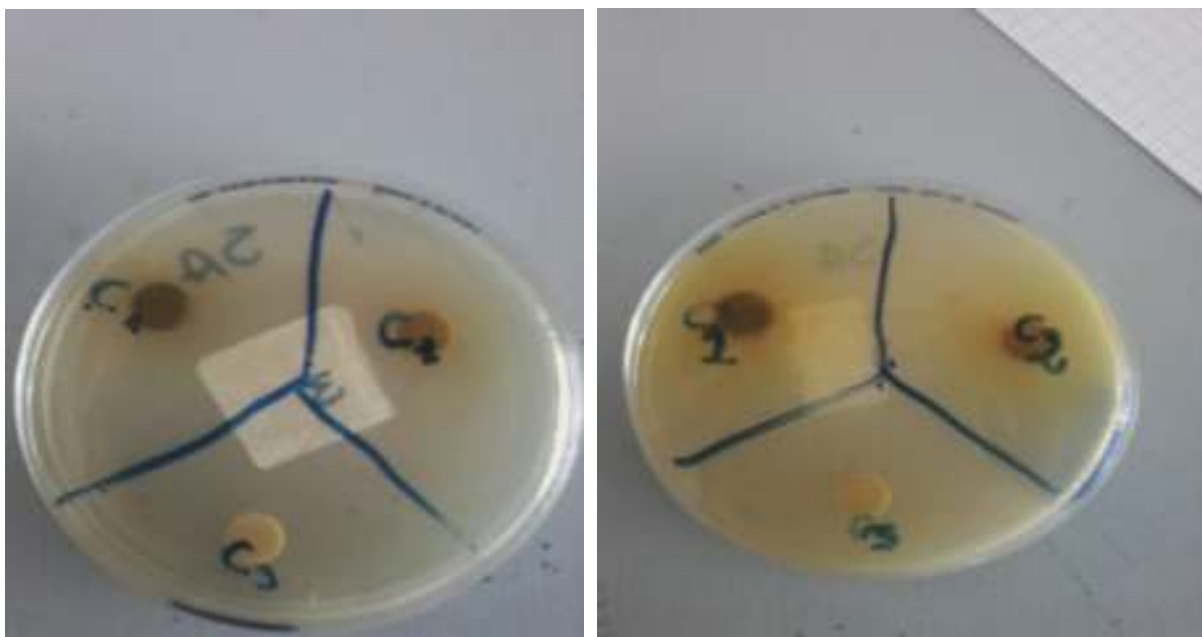


Photo 18 : Les résultats de la concentration minimale inhibitrice de l'extrait éthanolique sur *Sarcina lutea* (à gauche) et *Bacillus subtilis* (à droite).

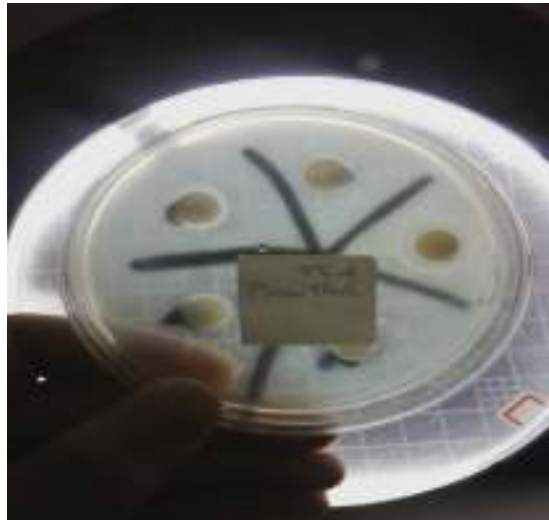


Photo 19 : Les résultats de CMI de l'extrait aqueux « 3disque » et l'extrait des alcaloïdes totaux « 2disque » vis-à-vis de *Bacillus subtilis* sur milieu TSA.

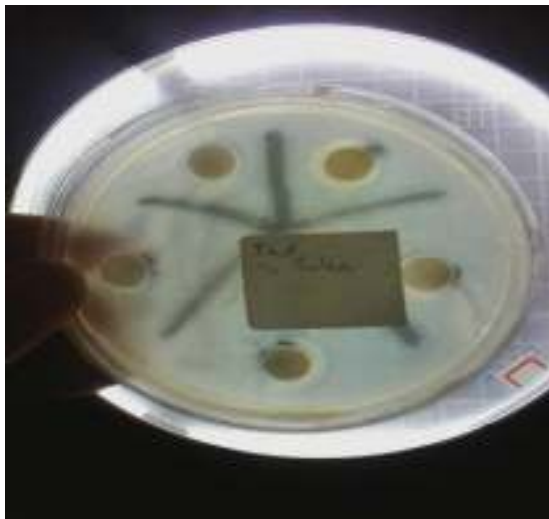


Photo 20 : Les résultats de CMI de l'extrait aqueux « 3disque » et l'extrait des alcaloïdes totaux « 2disque » vis-à-vis de *Sarcina lutea* sur milieu TSA.

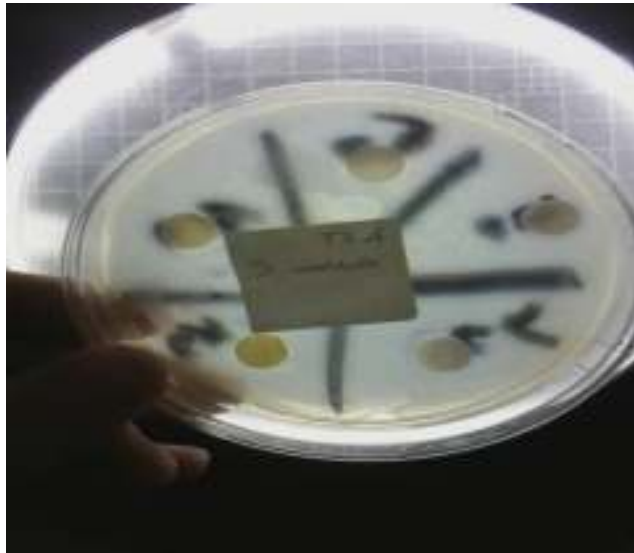


Photo 21 : Les résultats de CMI de l'extrait aqueux « 3disque » et l'extrait des alcaloïdes totaux « 2disque » vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* sur milieu TSA.



Photo 22 : Les résultats de CMI de l'extrait aqueux « 3disque » et l'extrait des alcaloïdes totaux « 2disque » vis-à-vis de *Escherichia coli* sur milieu TSA.

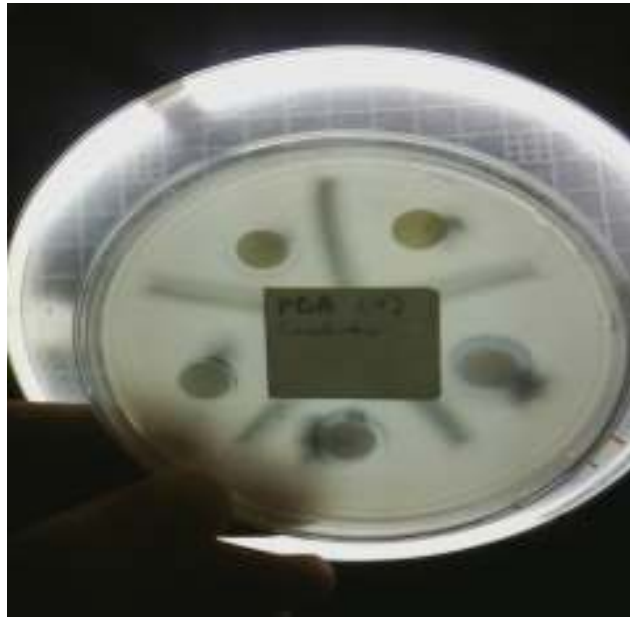


Photo 23 : Les résultats de CMI de l'extrait aqueux « 3disque » et l'extrait des alcaloïdes totaux « 2disque » vis-à-vis de *Candida albicans* sur milieu PDA.

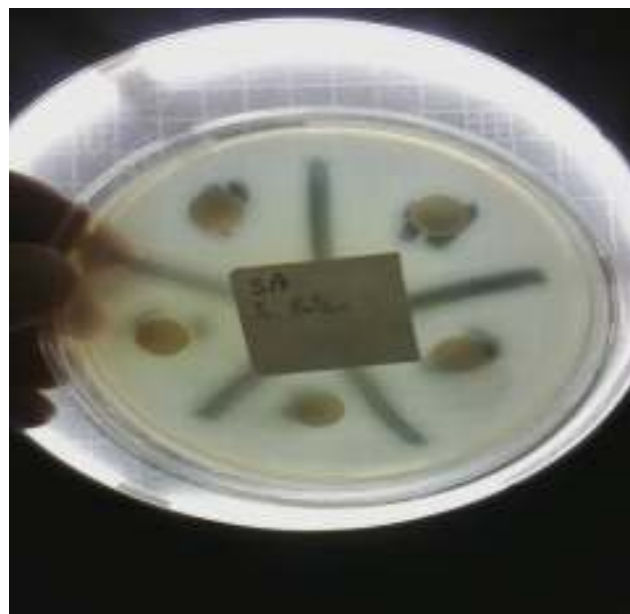


Photo 24 : Les résultats de CMI de l'extrait aqueux « 3disque » et l'extrait des alcaloïdes totaux « 2disque » vis-à-vis de *Sarcina lutea* sur milieu SA.



Photo 25 : Les résultats de CMI de l'extrait aqueux « 3disque » et l'extrait des alcaloïdes totaux « 2disque » vis-à-vis de *Bacillus subtilis* sur milieu SA.



Photo 26 : Les résultats de CMI de l'extrait aqueux « 3disque » et l'extrait des alcaloïdes totaux « 2disque » vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* sur milieu SA.



Photo 27 : Les résultats de CMI de l'extrait aqueux « 3disque » et l'extrait des alcaloïdes totaux « 2disque » vis-à-vis de *Escherichia coli* sur milieu SA.

Annexe 08 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

CALIBRATION

Date: 27/05/2015 Time: 15:38:33

Instrument: PerkinElmer Lambda 25 Serial No: 1

Method: conc1

Ordinate mode: Single wavelength

Baseline: No correction (0,00 0,00)

Analyst:

_ Wavelength(s)	Sample ID	Concentration	Ord. value	Comment
-----------------	-----------	---------------	------------	---------

Les dilutions de l'acide gallique:

765,0	0,0	conc1.A01	0,1000 mg/ml	0,1706
765,0	0,0	conc1.A02	0,1200 mg/ml	0,1613
765,0	0,0	conc1.A03	0,1400 mg/ml	0,1970
765,0	0,0	conc1.A04	0,1600 mg/ml	0,2284
765,0	0,0	conc1.A05	0,1800 mg/ml	0,2616

_Equation de régressions : $y = 1.447531e+00 * x$

Residual error: 0,014677

Corrélation coefficient: 0,935544

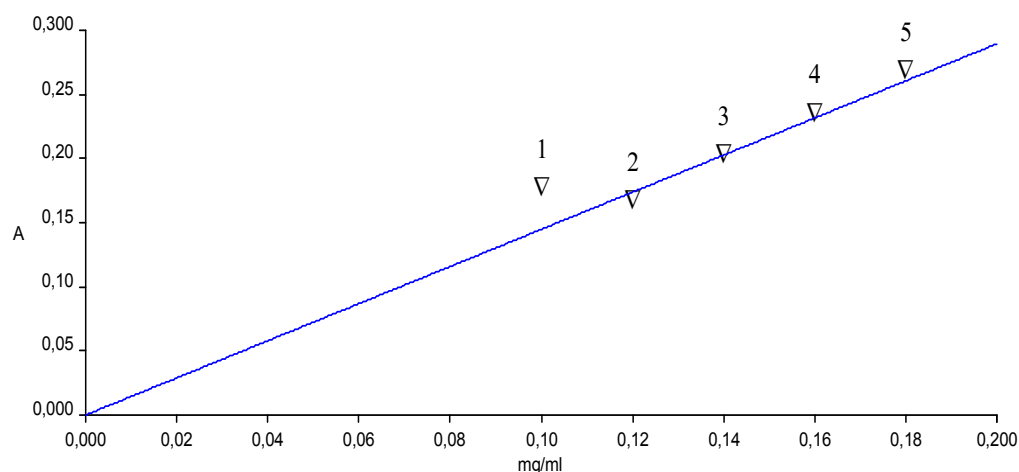


Photo 28: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Annexe 09 : Courbe d'étalonnage de la quercétine

CALIBRATION

Date: 27/07/2015 Time: 16:03:21

Instrument: PerkinElmer Lambda 25 Serial No: 1

Method: conc1

Ordinate mode: Single wavelength

Baseline: No correction (0,00 0,00)

Analyst

_Wavelength(s) Sample ID Concentration Ord. value Comment

Les dilutions de la Querétine:

430,0	0,0	conc1.A01	10,000 ug/l	0,0184
430,0	0,0	conc1.A02	20,000 ug/l	0,0208
430,0	0,0	conc1.A03	40,000 ug/l	0,0352
430,0	0,0	conc1.A04	60,000 ug/l	0,0507

430,0 0,0 concl.A05 80,000 ug/l 0,0776

430,0 0,0 concl.A06 100,00 ug/l 0,0898

Equation de régression : $y = 9.160679e-04 * x$

Residual error: 0,005166

Corrélation coefficient: 0,984758

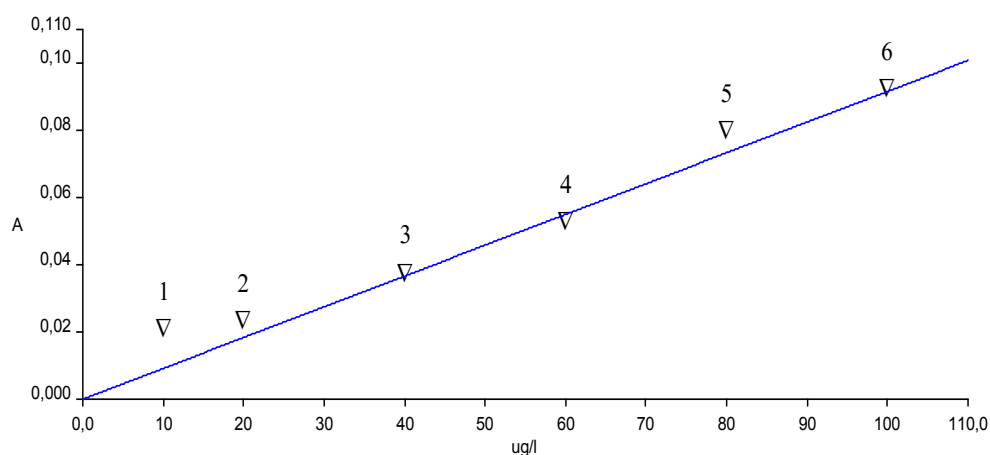


Photo 29: Courbe d'étalonnage de la quercétine

Annexe 10 : Matériel non biologique.

1. Milieux de culture

Nous avons utilisé:

- Deux milieux pour l'activité antibactérienne : le milieu TSA (Trypticase Soja Agar) (**Annexe 01**) et le milieu SA (Soja Agar) (**Annexe 02**).
- Deux milieux pour l'activité antifongique : le milieu SAB (sabouraud glucose agar) (**Annexe 03**) et le milieu PDA (**Annexe 04**).

2. Matériel de laboratoire

- **Appareils**

- Spectrophotomètre ultraviolet-visible.
- Etuve.
- Rota vapeur (BÜCHI).
- Balance de précision (électronique).
- Agitateur magnétique.
- Autoclave.

- Pompe à vide.
- Appareil ultrason.
 - **Verrerie**
- Tubes à essais ; Becher ; Ballons (50ml→2000ml) ; Erlen ; fioles ; Eprouvettes ; flacons,
- Ampoule à décanter ; flacons injectables.
- boîtes de Pétris.
- Seringue.
- Micropipette, pipette Pasteur, micro filtre.

3. Produits chimiques et réactifs

- Réactif de folin-Ciocalteu
- Acide gallique
- Carbonate de sodium (Na_2CO_3)
- Quercitine
- Trichlorure d'aluminium (AlCl_3)
- Acide chlorhydrique HCL (37%)
- Hydroxyde d'ammoniac NH_4OH (30%),
- Eau distillée
- Acide sulfurique H_2SO_4 (96%)
- Ethanol absolu (96%)
- Chloroforme (CHCl_3)
- Méthanol

