

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Saad dahlab De Blida
Faculté Des Sciences Agronomiques et Vétérinaires
Département de Biologie
Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme
de Master II en biologie
Option : Phytothérapie et santé



Thème

Contribution à la valorisation d'une plante médicinale, le
cytise à trois fleurs (*Cytisus triflorus* l'Hér.): Etude
ethnobotanique, phytochimique et effet antimicrobien et
cicatrisant.

Présenté par :

AZOUAOUI Nesrine

Date de soutenance : 29-09-2013

GHRIBI Keltoum

Devant le jury composé de :

Mme BENMANSOUR N	MAA	USDB	Présidente
Mme CHERIF H	MCB	USDB	Examinatrice
Mme TAKARL S	MAA	USDB	Examinatrice
Mme BENASSEL N.	MAB	USDB	Promotrice

2012-2013

Remerciements

*Au terme de ce travail, nous remercions Dieu qui nous a
donné le courage et la volonté pour
mener à bien ce mémoire de fin d'étude*

Nous remercions :

*Notre Promotrice, Mme Benassel. N. pour ces précieux conseils
Et sa totale disponibilité,*

*Son aide et son encouragement car c'est grâce à elle que
ce travail a été réalisé.*

*La présidente M^{me} Benmansour. N. Pour avoir honoré de
sa présence ce jury en Acceptant de le présider.*

*M^{me} Cherif. H et M^{me} Takarli .S. d'avoir aimablement accepté
d'examiner ce travail.*

*Nous tenons aussi à remercier M^{lle} Metidji. H, et M^r Boutoumi
Qui nous ont aidées à faire l'extraction des Alcaloïdes.*

*Nos vifs remerciements vont aussi au personnel du groupe
Antibiotical de*

*Média, laboratoire physico-chimique, et surtout M^{re} Boukhatm R.
Pour son aide et sa gentillesse.*

*Et nous remercions aussi les membres du Parc National de Chréa
« Secteur El Hammdania »*

M^{re} Kharoufi .R pour sa bonne collaboration

*En fin nous voudrions remercier tout ceux qui nous avons aidés de près ou
de loin de l'élaboration et la finalisation de ce travail.*

*A tout les enseignements du département de biologie de l'université de Blida
Sans oublier notre chef de département*



Dédicaces

C'est avec une énorme joie et un infini plaisir, que je dédie ce modeste travail

Aux deux plus chères personnes de ma vie pour leur soutien, leurs

Encouragement, leur

Affection et leur judicieux conseils qui m'ont soutenu tout au long de mes

Années D'instruction mes parents que Dieu les garde pour moi.

A mes chers frères Amine et Samir

A mes 2 sœurs Asma et Nada.

A mon oncle Ahmed et sa femme Aicha que j'ai les perdu cette année

Que Dieu les accueille dans son vaste paradis

A ma grand mère Halima, grand père Rabah et mes tantes Djamila,

Yamina, Fatiha et Fouzia, Hadjira

A mes très chères copines Nasira, Fath elzhar, Samia, Fatima, Hanane, Lamia,

Ahlam , Feriel, Zinab Faiza et sa petite fille Maria

A tous les petits enfants de ma grande famille, Rommaïssa, Amina, Meriem

Aïcha, Ali, Ahmed, Khalil

Sans oublier mes chères amies : Meriem, Radia, Khadija, Naziha,

En fin, à tous ceux que j'aime et tous ceux qui n'aiment

Keltoum





Dédicaces

C'est avec une énorme joie et un infini plaisir, que je dédie ce modeste travail

Aux deux plus chères personnes de ma vie pour leur soutien, leurs

Encouragement, leur

Affection et leur judicieux conseil qui m'ont soutenu tout au long de mes

Années D'instruction mes parents que Dieu les garde pour moi.

A mon cher et unique frère Foade

A mes 3 sœurs .Ahlem, Saida, Radia.

A mes deux grand mères Aïcha et Yamina et mes tentes Fatma Zohra, Fatima,

Karima, mes oncles surtout Abd El Kader et Mohamed

A mes très chères copines Lamia, Khadidja, Soumia, Amina, Dahlia,

Djazia Amel et leur nouveaux né Anes, Hanifa,

Leila, Fatiha.

A mes belle filles de toute ma grande famille, Maram, Bouchra, Amira,

Nour El Iman, Maroua, Amina, Aya, Karouma.

Sans oublier mes chères amies : Halima, Soade, Newel, Sabiha, Naima

En fin, à tous ceux que j'aime et tous ceux qui n'aiment

Nesrine



Liste des figures

Figure1 : <i>cytissus triflorus</i> L'Hér.....	6
Figure 2 : les feuilles de <i>cytissus triflorus</i> L'Hér.....	8
Figure 3 : Les fleurs du <i>Cytissus triflorus</i> L'Hér.....	9
Figure 4 : Les fruits de <i>Cytissus triflorus</i> L'Hér.....	9
Figure 5 : structure chimique d'un noyau quinolizidiniques.....	12
Figure6 : Schéma représente synthèse de la spartéine à partir de la lysine.....	12
Figure 7 : carte représente le lieu de récolte de la plante.....	16
Figure 8 : Les lapins testés.....	17
Figure 9 : Protocole d'extraction des alcaloïdes totaux en milieu alcalin.....	22
Figure 10 : Prélèvement de la souche mère (A) et ensemencement sur boîtes de pétrie contenu le milieu de culture (B).....	25
Figure 11 : Dépôt des disques imprégnés de l'infusé (C) et des alcaloïdes (D) à la surface d'une boîte ensemencée.....	25
Figure 12 : Réalisation de la plaie superficielle.....	27
Figure 13 : Réalisation de la plaie profonde.....	28
Figure 14 : Fréquence de connaissance de la plante selon l'âge.....	29
Figure 15 : Fréquence de connaissance de la plante selon le niveau intellectuel et le Sexe d'appartenance.....	30
Figure16 : Domaine et partie utilisée de la plante.....	30
Figure 17 : Fréquence d'utilisation du cytise pour différentes maladies et mode de préparation.....	31
Figure 18 : Fréquence d'utilisation personnelle et efficacité de la plante.....	32
Figure19 : Aspect des cultures et zones d'inhibition en présence l'infusé.....	39
Figure20 : Aspect des cultures et zones d'inhibition en présence des alcaloïdes Quinolizidiniques de <i>cytissus triflorus</i> l'Hér.....	40
Figure21 : Aspect des cultures et zones d'inhibition en présence des alcaloïdes et l'infusé de <i>cytissus triflorus</i> l'Hér.....	43
Figure22 : Graphe représente l'évolution de l'activité cicatrisante des plaies profonde en fonction de temps.....	44
Figure23 : Evolution de l'activité cicatrisante du traitement (poudre +vaseline) sur la plaie superficielle provoquée chez les lapins.....	45
Figure 24 : Evolution de l'activité cicatrisante du traitement (poudre +vaseline) sur la plaie profonde provoquée chez les lapins.....	46

Liste des tableaux

Tableau I : les souches microbiennes et leur référence.....	18
Tableau II : la distribution des lapins et les produits testé.....	26
Tableau III : la quantité des produits testé pour les deux plaies.....	28
Tableau IV : les métabolites secondaires mise en évidence par le teste phytochimique du <i>cytistus triflorus</i> l'Hér.....	35
Tableau V : les Caractères organoleptiques des alcaloïdes de cytise trois fleurs.....	36
Tableau VI : Les zones d'inhibition des cultures bactérienne en présence de l'infusé de <i>Cytisus triflorus</i>	37
Tableau VII : Les zones d'inhibition d'alcaloïdes de <i>Cytisus triflorus</i> Pour les bactéries	38
Tableau VIII : Absence des zones d'inhibition des cultures bactérienne d'alcaloïdes et l'infusé de <i>Cytisus triflorus</i> l'Hérit pour les champignons.....	42
Tableau N° IX : Longueurs des plaies superficielles chez les lapins.....	44
Tableau N°X : Moyennes des surfaces des plaies profondes chez les lapins.....	45

Glossaire

Alcaloidifères : se sont de plante riche en alcaloïdes

Cicatrisation : est un phénomène qui débute par la formation d'un tissu fibreux, qui remplace une perte de substance (lorsque une blessure par exemple). (Larousse médicale, 2005)

Corolle : ensemble des pétales d'une fleur formant le second verticille

Hémostatique Arrête ou réduit les saignements

L'ulcère gastrique : L'ulcère gastro-duodéal (ou ulcère peptique) est une lésion ; située sur la muqueuse digestive qui est au contact avec les sécrétions acides gastriques, localisée à l'estomac ou au duodénum. Ce même type d'ulcère peut être retrouvé sur la muqueuse de l'œsophage. (Larousse médicale, 2005)

Ocytocique : est un médicament possèdent la capacité de provoqué ou stimulé les contractions de l'utérus au moment de l'accouchement

Salifiés : dans les se trouve sous forme des sels

Stimulant circulatoire : Améliore localement la circulation sanguine notamment dans les extrémités des membres (Larousse, 2001).

Tératogène : c'est un agent qui provoque des anomalies du développement embryonnaire. (Racques ,1998)

Résumé

Notre travail a porté sur une plante médicinale que nous avons cueillie à El Hammdania (Médéa). Cette plante est connue et utilisée en médecine traditionnelle Algérienne. Il s'agit du cytise à trois fleurs (*Cytisus triflorus* L'Hér.), c'est un arbuste appartenant à la famille des Fabaceae.

Dans ce travail nous avons pu dévoiler certains de ces vertus à travers : Etude ethnobotanique, le screening phytochimique, l'effet antimicrobien et les tests sur l'activité cicatrisante.

Les résultats de l'étude ethnobotanique montrent que toute la population interrogée (114 personnes) à El Hammdania connaît et utilise la plante pour traiter les différentes maladies telles que les maux de l'estomac et pour la cicatrisation des plaies.

Le screening chimique du *Cytisus triflorus* ; révèle la présence de plusieurs catégories de métabolites secondaires à des teneurs différentes dont les alcaloïdes sont majoritaires.

L'extraction des alcaloïdes dans le milieu basique montre que le rendement est très élevé dans les feuilles du cytise à trois fleurs, ces alcaloïdes ont été testés sur des souches bactériennes et fongiques et sont comparés avec l'infusé de la plante. Ce test de l'activité antimicrobienne montre que les alcaloïdes extraits manifestent une activité antibactérienne sur quelque souche bactérienne et n'ont aucuns effets sur les champignons.

L'étude de l'activité cicatrisante, montre que la poudre mélangée à du beurre naturel ou à la vaseline engendre une cicatrisation rapide et manifeste une activité cicatrisante équivalente à celle du produit de référence (Madicassol®).

Mots clés : *Cytisus triflorus*, étude ethnobotanique, screening chimique, alcaloïde, effet antimicrobien, activité cicatrisante.

Our work has focused on a medicinal plant that we gathered in El Hammdania (Médéa). This plant is known and used in Traditional medicine Algeria. This is the three laburnum flowers (*Cytisus triflorus* Hér.) Is a shrub belonging to the family Fabaceae.

Like any plant, *Cytisus triflorus* l'Hér synthesizes many secondary metabolisms which may exhibit significant medicinal properties. In this work we try to reveal some of these virtues through: ethnobotanical study, the phytochemical screening, the antimicrobial effect and testing of the healing activity.

The results of the ethnobotanical study show that almost all the surveyed population in El Hammdania knows and uses the plant to treat various diseases such as stomach pain and wound healing.

The chemical screening of *cytissus triflorus* reveals the presence of several classes of secondary metabolites in different tenures whose alkaloids predominate.

The extraction of alkaloids in the basic medium shows that the yield is very high in the leaves of three laburnum flowers; these alkaloids were tested for bacterial and fungal strains and compared with the in fused plant.

This test shows that the antimicrobial activity alkaloids exhibit antimicrobial activity of some bacteria strains and no effects on fungi.

The study of the healing activity shows that mixed with natural but terror petroleum jelly powder produces rapid healing and exhibits Equivalent Madicassol® healing activity.

Key words: *Cytisus triflorus*, ethnobotanical study, chemical screening, alkaloid, Antimicrobial effect, healing activity.

ملخص

عملنا هذا يخص نبتة طبية و التي قمنا بقطفها من منطقة الحمداينة (المدية) هذه النبتة معروفة و تستعمل في مجال الطب التقليدي الجزائري وهي التيلوقيت *Cytisus triflorus*. وهي شجيرة تنتمي إلى عائلة البقوليات (Fabaceae) .

مثل كل النباتات. التيلوقيت تصنع الكثير من التفاعلات الثانوية التي يمكن أن تظهر خصائص طبية مهمة .

في هذا العمل نحاول أن نكشف عن بعض هذه الخصائص من خلال التحريات و الإحصاءات حول هذه النبتة, تحاليل كيميائية و فحوصات ضد مجهريه و ضد الندب .

النتائج تحريات و الاحصاءات ماهية النبتة تبرهن إن كل سكان الحمداينة يعرفون و يستعملون هذه النبتة لمعالجة مختلف الأمراض كالم المعدة و الندب الجروح.

التحليل الكيميائي *Cytisus triflorus* l'Hér بين وجود العديد من التفاعلات الثانوية و بكميات مختلفة بحيث الالكالويد موجود بكثرة .

استخلاص الالكالويد في الوسط القاعدي اظهر مردود هذا الأخير موجود بكثرة في الأوراق. هذا الالكالويد استعمل في فحص ضد المهجرية وقارناه مع المستخلص الممه. هذا الفحص بين أن الالكالويد له نشاط ضد بعض الجراثيم وليس له أي نشاط ضد الفطريات.

الفحص ضد الندب بين إن مسحوق الأوراق الممزوج مع الزبدة الطبيعية والفازلين له تأثير سريع و واضح على اختفاء الندب و مشابه مع الدواء Madicassol

الكلمات المفتاحية :

Cytisus triflorus. إحصاء ماهية النبتة. التحاليل الكيميائية. الالكالويد. ضد المهجرية و ضد الندب.

Sommaire

Introduction.....	1
Chapitre I : Données bibliographiques	
I.1. La phytothérapie	3
I.1.1. Définition.....	3
I.1.2. Avantages de la phytothérapie.....	3
I.2. Les plantes médicinales	3
I.2.1. Définition.....	3
I.2.2. Les principales substances actives de la plante	4
I.3. L'ethnobotanique	5
I.3.1. Définition	5
I.3.2. Intérêt de l'ethnobotanique	5
I.4. Généralités sur l'espèce <i>Cytisus triflorus</i> l'Hér.	6
I.4.1. Etymologie	6
I.4.2. Classification.....	7
I.4.3. Nomenclature et synonymes.....	7
I.4.4. Description morphologique.....	8
I.4.4.1. L'appareil végétatif.....	8
I.4.4.2. L'appareil reproducteur	8
I.4.5. Répartition géographique.....	9
I.4.6. Usages traditionnels en Algérie	10
I.5. Les alcaloïdes.....	10
I.5.1. Définition.....	10
I.5.2. Classification	10
I.5.3. Etat naturel et répartition	11
I.5.4. Les alcaloïdes quinolizidiniques	11
I.5.5. Activité biologique des alcaloïdes quinolizidiniques	13
I.5.6. Effet toxicologique des alcaloïdes quinolizidiniques	13
I.5.7. Propriétés physico-chimiques.....	13
Chapitre II : Matériel et méthodes	
II.1. Matériel	15
II.1.1. Matériel biologique.....	15
II.1.1.1. Matériel végétal	15
II.1.1.1.1. Description de la zone d'étude.....	15
II.1.1.1.2. Caractéristiques climatiques	16
II.1.1.1.3. La flore	16
II.1.1.2. Matériel animal	17

II.1.1.3. Les microorganismes	17
II.1.2. Matériel non biologique	18
II.2. Méthodes	18
II.2.1. Etude ethnobotanique	18
II.2.2. Etude phytochimique	19
II.2.2.1. Détermination du taux d'humidité	19
II.2.2.2. Le Screening chimique.....	20
II.2.3. Extraction en milieu alcalin des alcaloïdes totaux (AT).....	21
II.2.3.1. Protocole d'extraction des alcaloïdes totaux en milieu alcalin.....	21
II.2.3.2. Calcul du rendement	23
II.2.4. Evaluation du pouvoir antimicrobien	23
II.2.4.1. Protocole expérimental	23
II.2.4.2. Préparation des suspensions microbiennes	24
II.2.5. Etude de l'activité cicatrisante	26
II.2.5.1. Mode opératoire	26
II.2.5.2. Préparation de l'animal	27
II.2.5.3. L'application des traitements	28

Chapitre III : Résultat et Discussion

III.1. Résultats de l'enquête ethnobotanique	29
III.1.1. Fréquence d'utilisation du cytise à trois fleurs selon le profil des enquêtés (1 ^{ère} catégorie).....	29
III.1.2. Résultats de l'enquête ethnobotanique concernant la 2 ^{ème} catégorie (les herboristes)	32
III.1.3. Résultats de l'enquête ethnobotanique pour les phytothérapeutes et les tradipraticiennes.....	33
III.2. Résultat du test phytochimique.....	34
III.2.1. Détermination de la teneur en eau.....	34
III.2.2. Le Screening chimique	35
III.3. Résultats de l'extraction des alcaloïdes	36
III.3.1. Caractères organoleptiques de l'extrait des alcaloïdes.....	36
III.3.2. Rendement en alcaloïdes totaux	36
III.4. Résultats de l'activité antimicrobienne des alcaloïdes de <i>cytissus triflorus</i>	37
III.4.1. Activité antibactérienne.....	37
III.4.2. Activité antifongique	41
III.5. Résultats de l'activité cicatrisante du <i>cytissus triflorus</i> l'Hér	43
Conclusion.....	49
Références bibliographiques	
Annexe	

Introduction

A travers des siècles, l'homme a su accumuler des connaissances d'utilisation des plantes médicinales. De nos jours, le recours aux traitements à base des plantes médicinales connaît un énorme regain d'intérêt du fait que l'efficacité de certains médicaments tels que les antibiotiques (prescrits généralement comme solution inévitable aux infections graves) décroît car les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistent de plus en plus (**Iserin, 2001**).

Beaucoup de gens font appel aussi à la phytothérapie, car elle propose des remèdes naturels et bien acceptés par l'organisme et souvent associés aux traitements classiques (médicaments). Cet engouement n'a connu un autre élan qu'à partir du XVIII^e siècle après la réussite de l'extraction et l'isolement des principes actifs, essentiellement des métabolites secondaires, devenant par la suite une capitale important en représentant près de 33% de nos médicaments essentiels (**Iserin, 2001**).

Actuellement, de multiples études in vivo et in vitro sont réalisées à travers le monde dont le but de chercher de nouveaux constituants naturels ayant certaines activités biologiques (anti-cancérigènes et antidiabétiques) et d'estimer leurs toxicités.

L'Algérie possède une richesse floristique considérable, en particulier celle à intérêt médicinal. Ce potentiel comporte plusieurs espèces présentant divers intérêts en recherche scientifique dont plusieurs ont fait l'objet d'études phytochimiques (Ait Kaci, 2001). Les utilisations traditionnelles de ces plantes médicinales diffèrent d'une région à l'autre.

Dans le but de contribuer à la valorisation de ces ressources naturelles et de leurs utilisations en médecine traditionnelle Algérienne, nous avons choisi une plante de la famille des Fabaceae, le cytise à trois fleurs (*cytissus triflorus* l'Hér). C'est une espèce appartenant à la strate arbustive, poussant spontanément dans la montagne d'El Hammdania, où elle est très connue et utilisée comme remède traditionnel par les habitants de cette région, surtout pour soulager les maux gastriques et pour la cicatrisation des plaies.

Introduction

Aussi notre objectif en réalisant ce travail, est de vérifier certaines vertues de cette plante médicinale par des méthodes scientifiques. Pour cela nous avons procédé selon les étapes suivantes :

- Etude ethnobotanique concernant le *Cytisus triflorus* dans la région d'El Hammdania.
- Test phytochimique.
- Extraction des alcaloïdes quinolizidiniques.
- Evaluation du pouvoir antimicrobien des deux extraits de la plante (l'infusé et les alcaloïdes quinolizidiniques).
- Etude in vivo de l'activité cicatrisante du *Cytisus triflorus* sur des lapins.

I.1. La phytothérapie

I.1.1. Définition

La phytothérapie désigne l'utilisation des plantes médicinales à des fins thérapeutiques (du grec phyton qui signifie plante, et therapiea ; traitement).

Elle propose des remèdes naturels, bien acceptés par l'organisme. Elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en occident, spécialement dans le traitement des maladies chroniques comme l'asthme ou l'arthrite. De plus, les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs, qui se tournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme. On estime que 10 à 20% des hospitalisations sont dues aux effets secondaires des médicaments chimiques (**Lavery, 1999**).

I.1.2. Avantages de la phytothérapie

Malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre de multiples avantages :

- Les plantes médicinales présentant un rôle important dans la prévention et le traitement des maladies, lors qu'elles sont utilisées avec précaution.
- A l'exception de ces cent dernières années, les hommes n'ont eu que les plantes pour se soigner, qu'il s'agisse de maladies bénignes, rhume ou toux, ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria.
- Aujourd'hui, les traitements à base de plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments contre les bactéries a diminué et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistent de plus en plus (**in Benhamza ,2008**).

I.2. Les plantes médicinales

I.2.1. Définition

Une plante est dite médicinale lorsqu'au moins une de ses parties possède des propriétés médicinales assurées par de nombreux métabolites secondaires appelés « principes actifs ». Ces principes actifs ont des effets physiologiques importants pour l'homme et les animaux.

Malgré les avantages des plantes médicinales, ces dernières peuvent présenter un danger pour la santé humaine : selon la dose administrée, ils peuvent se manifester différemment : guérison ou toxicité voire même la mort subite. (**Guignard ,1996**).

I.2.2. Les principales substances actives de la plante

➤ **Les alcaloïdes**

Les alcaloïdes sont souvent amers. Ce sont des composés azotés, basique, pharmaceutique ment très actifs. D'origine naturelle et de distribution restreinte, les alcaloïdes existent sous la forme de sels solubles (citrate, malate et benzoate) ou sous forme d'une combinaison avec les tanins (**Bruneton, 1999**).

Les alcaloïdes sont des métabolismes secondaires qui sont synthétisés à partir des plantes supérieurs pour la protection contre le stress et les herbivores.

➤ **Les anthocyanes**

Les anthocyanes sont des pigments végétaux hydrosolubles de couleur rouge, violette ou bleu. Ils sont caractérisés par une génine comportant un noyau flavylum (2phénylbenzopyroxonium). S'accumulent dans les vacuoles des cellules les plus externes (épiderme et hypoderme), leur rôle est attractif pour les insectes (**Bruneton, 1993**).

➤ **Les tanins**

Sont des composants polyphénoliques qui contractent les tissus en liant les protéines et en les précipitant, d'où leur emploi pour « tanner » les peaux (**Iserin, 2001**). La combinaison entre les tanins et les protéines se fait par l'intermédiaire des liaisons hydrogènes entre les groupements OH et NH₂ des protéines et les OH phénoliques des tanins (**Guignard, 1996**).

➤ **Les flavonoïdes**

Les flavonoïdes sont des combinaisons naturelles de phénol avec des noyaux aromatique. En fonction de leur structure et du degré d'oxydation, ils se divisent en flavonols, flavones et flavonones (**Guignard, 2000**).

Les flavonoïdes sont des pigments quasiment universels des végétaux. Presque toujours hydrosolubles, ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Ils sont également présentes dans la cuticule épidermiques des feuilles, assurant la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement ultraviolet (**Bruneton, 1999**).

➤ **Les glucosides**

Un glucoside est constitué de deux composantes : une partie aglycone et une partie glucidique. La partie aglycone forme les différents types de métabolites secondaires tels que les coumarines, flavonoïdes, les glucosides jouent un grand rôle dans le stockage des réserves nutritives et la défense de la plante (**Barnes et al ., 2007**).

➤ **Les saponosides**

Appelé aussi les saponines, sont des hétérosides à génine stéroïdique ou triterpénique, très répandus dans le règne végétal, la plus part des saponosides présentent des propriétés hémolytique (**Iserin, 2001**).

➤ **Les coumarines**

Leur nom vient d « coumarou », le nom vernaculaire de la fève de tonka (*Coumrouna odorada*), dont elles ont été isolées pour la première fois.

Les coumarines sont très répandues chez les Dicotylédones : *Fabaceae* , *Asteraceae*, notamment dans les racines et les écorces. (**Guignard ,1996**).

Selon les espèces, les coumarines présentent plusieurs activités : fluidification de sang et soin des affections cutanées. Ils sont considérés comme des vasodilatateurs coronariens (**Iserin, 2001**).

I.3. Ethnobotanique

I.3.1. Définition

L'ethnobotanique est l'étude de l'utilisation traditionnelle des plantes par l'Homme dans un cadre géographique donné (**Spichiger et al ., 2004**). Elle étudie toutes les relations que l'homme entretient avec les plantes (**Achour, 2008 ; Bonnemaïson, 1997**).

I.3.2. Intérêt de l'ethnobotanique

L'ethnobotanique est une discipline qui s'intéresse à :

✓ L'évaluation du savoir des populations locales et de leurs relations avec les plantes, elle fournit des éléments qui permettent de mieux comprendre comment les sociétés anciennes se sont insérées dans leur milieu naturel (**Okafor ,1998**).

- ✓ La culture, la récolte et l'utilisation possible et effective des plantes, ainsi que leurs rôles dans la vision du monde et la langue. **Bonnemaison, (1997) ; Walter et al .,(2003)**
- ✓ L'ajout des compléments d'informations ethnobotaniques, comme les noms vernaculaires des plantes, les utilisations et les modes de préparations. **(Morere et Pujol ,2003).**
- ✓ L'élaboration d'une enquête concernant l'usage traditionnel des plantes dans une région, et la réalisation d'un herbier des plantes médicinales les plus utilisées traditionnellement.

I.4. Généralités sur l'espèce *Cytisus triflorus* L'Hér.

Le cytise à trois fleurs *Cytisus triflorus* L'Hér. (Figure1), appartient à la famille des Fabaceae (Papilionacées) qui constitue, à côté des Polygalaceae et Surianaceae, les principales familles de l'ordre des Fabales. Cette famille appelée également Légumineuse est subdivisée en trois sous-familles: Les Cesalpinoideae, les Mimosoideae et les Papilonoideae ces derniers regroupent le genre *cytissus* **(Judd, 2001 et Guignard ,2004).**

Le genre *cytissus* comprend plusieurs espèces généralement alcaloïdifières, dont cinq sont plus communes en Algérie ; *C. triflorus*, *C.arboreus*, *C.fontanesii*, *C.linifolius*, *C.purgans* **(Ait Kaci, 2001)**



Figure 1 : *Cytisus triflorus* L'Hér. (Original, 2013)

I.4.1. Etymologie

Le nom *Cytisus* dérive du latin, *Kytisos*, ancien nom de *Medicago arborea et triflorus* ; signifie à trois fleurs **(Beniston ,1984).**

I.4.2. Classification

L'espèce *Cytisus triflorus* est classée selon : **Botineau (2000)** et **APG II (2003)**

Règne : Eucaryotae

Sous règne : Plantae

Classe : Magnoliopsida

Sous classe : Rosidae

Ordre : Fabales

Famille : Fabaceae (Papilionaceae)

Sous famille : Papilonoïdeae

Genre : *Cytisus* L.

Espèce : *Cytisus triflorus* L'Hér.

I.4.3. Nomenclature et synonymes

L'espèce *Cytisus triflorus* L'Hér est couramment nommée : cytise à trois fleurs, genet à trois fleurs et cytise velu.

En Algérie, elle est connue sous le nom de Gikio, Bouharis (**Quezel et Santa ,1962**), Ilougui en Kabylie (**AIT KACI, 2001**) et Tilouguite, Ilougui (**Baba Aissa.2011**)

Selon **Maire (1987)** l'espèce *Cytisus triflorus* L'Hér., possède trois synonymes taxonomiques :

- *Cytisus villosus* Pourr.
- *Genista triflora* Rouyl.
- *Spartocytisus triflorus* Webb, et Berth.

I.4.4. Description morphologique**I.4.4.1. Appareil végétatif****➤ Le port**

Selon **Rameau et al., (1989)**, le cytise à trois fleurs est un arbuste à port dressé, de 1 à 2 m de hauteur. Les rameaux sont alternes, longs et rigides.

➤ Les feuilles

Elles sont pétiolées, trifoliolées, à folioles velues elliptiques. La médiane de la feuille est plus longue que les latérales **Rameau et al., (1989)**. Selon **Quezel et Santa (1962)**, les feuilles noircissent à la dessiccation, (Figure 2).



Figure 2 : les feuilles de *Cytisus triflorus* L'Hér. (Original, 2013)

I.4.4.2. Appareil reproducteur**➤ Les fleurs**

Selon **Bayer et al., (2005)**, les fleurs sont pédonculées et de 5-10 mm de long. Elles sont regroupées à l'aisselle des feuilles supérieures (1 à 3 fleurs). Le calice est campanulé, la corolle est de couleur jaune veinée de brun, grande, glabre et dressée. Les pièces florales (ailes et carène) sont aussi longues que l'étendard selon **Rameau et al., (1989)** (Figure 3).

En Algérie, la période de floraison du cytise se déroule en Avril et Mai selon **Baba Aissa (1999)**.



Figure 3 : Les fleurs du *Cytisus triflorus* L'Hér (Original, 2013)

➤ Les fruits

C'est des gousses de 2 à 4 cm de long, et de 4 à 6 mm de large, à poils blancs feutrés (Bayer *et al.*, 2005. Paul *et al.*, 2010.). (Figure 4)



Figure 4 : Les fruits de *Cytisus triflorus* L'Hér (Original, 2013).

I.4.5. Répartition géographique

❖ Dans le monde

Cette espèce se répartit dans les régions méridionales d'Europe et en Afrique de Nord (Paul Victor., 2010. et Maire, 1987).

Le cytise à trois fleurs pousse dans les forêts humides (Quezel et Santa, 1962), dans les buissons, et sur sols acides selon Bayer *et al.*, (2005) et sur substrats siliceux et sols profondes et frais selon Rameau *et al.*, (1989).

❖ En Algérie

Le cytise à trois fleurs se trouve dans le Tell Algéro-Constantinois, en Oranie, à M'Sila et dans les monts de Tlemcen (**Quezel et Santa, 1962**).

I.4.6. Usages traditionnels en Algérie

Le cytise à trois fleurs, est beaucoup apprécié dans la région d'Azazga (Wilaya de Tizi Ouzou) pour ses diverses utilisations, notamment médicinales. Dans cette région, l'espèce est utilisée comme un cicatrisant et antifongique. Dans la région de Mefetah, Wilaya de Blida, elle est utilisée contre les maux d'estomac. A Tizi Ghnif (Wilaya de Tizi Ouzou), il est utilisé également comme plante hémostatique et entre dans la composition des teintures à cheveux (mélangée avec le Henné). (**Chebili, 2010**).

Le cytise à trois fleurs est aussi utilisé dans la région d'El Hammdania pour traiter l'ulcère gastrique.

I.5. Les alcaloïdes**I.5.1. Définition**

Le terme d'alcaloïde a été introduit par W.MEISNER au début de XIXe siècle pour désigner les substances naturelles réagissant comme des bases ; comme des *alcalis* : de l'arabe *al kaly* : la soude, et du grec *eidōs*, l'aspect. Se sont des composés azotés basiques d'origine naturelle et de distribution restreinte. Les alcaloïdes existent sous forme de sels solubles (citrate, malate, benzoate) ou en combinaison avec les tanins (**Bruneton, 1999**). Ils se rencontrent surtout chez les angiospermes, au niveau cellulaire où ils s'accumulent dans les vacuoles. De plus ils constituent la source la plus importante de nos médicaments (**Guignard, 2000**).

I.5.2. Classification

Sur le plan chimique, les alcaloïdes constituent un groupe très hétérogène possédant cependant quelques propriétés physicochimiques communes. Ils portent tous la terminaison « ine » (**Guignard, 1996**). Selon la structure, les alcaloïdes sont classés comme suite :

a) Les protoalcaloïdes : qui sont des amines simples, dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique.

b) Les pseudoalcaloïdes : présentent le plus souvent, toutes les caractérisations des alcaloïdes vrais mais ne sont pas des dérivés des acides aminés.

c) Les alcaloïdes vrais : Présentent un azote inclus dans un hétérocycle. On les classe selon la nature de leur cycle en alcaloïdes pyrrolizidinique, alcaloïdes indoliques, alcaloïdes isoquinoléique, alcaloïdes pyrrolidiniques, alcaloïdes imidazolique, alcaloïdes topologiques, alcaloïdes piperidiniques, alcaloïdes quinoléiques, alcaloïdes tropaniques, et en alcaloïdes quinolizidiniques. (**Bruneton, 1999 et Cartier et Roux, 2007**).

I.5.3. Etat naturel et répartition

A l'état naturel, les alcaloïdes sont généralement salifiés par des acides organiques (tartate, malate, acétate, quinate) ou combinés à des tanins (**Guinard, 1996**).

❖ Alcaloïdes de *Cytisus triflorus* l'Hér

Les constituants majeurs identifiés chez divers *Cytisus* sont des bases simples ou alcalines dérivants essentiellement du noyau de quinolizidine qui est un hétérocycle azoté bicyclique particulièrement fréquent dans les structures alcaloïdiques (**Guignard, 1996**).

I.5.4. Les alcaloïdes quinolizidiniques

Les alcaloïdes quinolizidiniques se trouvent dans les divers genres de la famille des fabaceae. Ce sont des hétérocycles azoté bicyclique, particulièrement fréquents dans les structures des alcaloïdes (Figure 5).

Il faut cependant distinguer les composés qui comportent ce motif structural comme élément d'un édifice complexe, c'est le cas des protoberbérines, de la plupart des alcaloïdes indoliques ou des solanidanes, et ceux dits « quinolizidine simple », qui sont issus de métabolismes de lysine.

Près de 200 alcaloïdes quinolizidiniques sont mis en évidence, certains possèdent des propriétés pharmaceutiques variées : la cytosine issue de *Cytisus labornum* est considérée comme un stimulant respiratoire et circulatoire, la spartéine étant le composé majoritaire de l'espèce *Cytisus scoparius* présente des activités antiarythmique, analeptique cardiaque, et ocytocique (**Bruneton, 1999**).

Le noyau quinolizidinique (simple) :

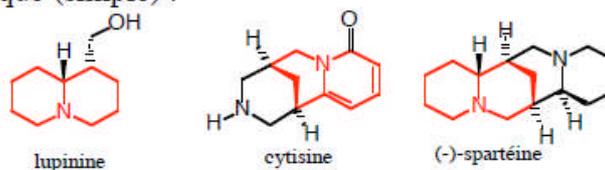


Figure 5 : structure chimique d'un noyau quinolizidinique

➤ Répartition dans la nature

Les alcaloïdes quinolizidiniques se trouvent dans la famille de Fabacée tels que les lupins, le cytise à trois fleurs et le genêt.

➤ Biosynthèse : Le précurseur des alcaloïdes quinolizidiniques est la lysine (figure 6).

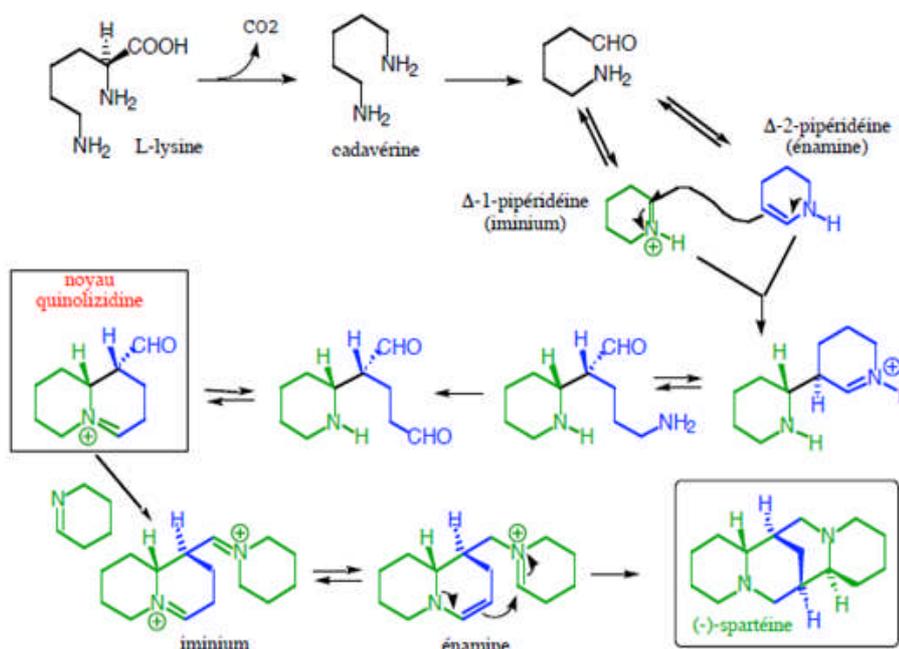


Figure 6 : Schéma présentant la synthèse de la sparteine à partir de la lysine.

(Vercaurteren.2010).

I.5.5. Activité biologique des alcaloïdes quinolizidiniques

L'activité biologique des alcaloïdes purs ou en mélange a été élucidée expérimentalement (**Kinghorn et Balandrin, 1984**). Une variété d'alcaloïde inhibe la fixation de la phénylalanine sur les ARNt. Une large gamme à un effet antibactérien et antifongique (**Wippich et Wink, 1985**). Ces alcaloïdes ont un fort effet sur la germination des plantes comme les graines de laitue à de faible concentration.

L'importance des alcaloïdes dans la protection des plantes contre les maladies et les agressions des herbivores (mollusques, insectes, lapins et vaches...) a été aussi démontrée (**Chebili, 2010**).

I.5.6. Effet toxicologique des alcaloïdes quinolizidiniques

La toxicité de certaines plantes de la famille de Fabaceae est souvent liée à leur forte teneur en alcaloïdes quinolizidiniques, notamment la cytisine et l'anagyrine qui est responsable d'une activité tératogène chez le bovins qui les broutent (**Bruneton, 1999**).

D'après les travaux de (**Chibili, 2010**) et (**Ait-Kaki, 2001**) sur la toxicité du cytise à trois fleurs testée sur les souris, montre que les alcaloïdes quinolizidiniques de cette plante, aux doses (50mg/kg) (90mg/kg), ont provoqué des mortalités aléatoires. Ces mêmes doses injectées par voie intra péritonéale provoque des changements dans le comportement général : la mobilité des souris a diminué et avaient tendance à s'isoler et à se replier sur elles mêmes.

Selon (**Chibili, 2010**), la diminution des activités des sujets traités par une molécule toxique signifie l'altération du système neuromusculaire.

I.5.7. Propriétés physico-chimiques

Les alcaloïdes sont des composés de masse moléculaire variant de 100 g/mol à environ 900 g/mol. Beaucoup ont une saveur amère.

Les alcaloïdes non oxygénés sont le plus souvent liquides, volatils, entraînés par la vapeur d'eau (nicotine, spartéine) ils ont une odeur forte et de faible masse moléculaire. Les alcaloïdes oxygénés sont généralement solides et cristallisables (mais la pilocaprine et l'arécoline sont sous forme liquide à la température ambiante) et de masse moléculaire élevée (**Axel et al., 2001**).

Les sels cristallisés, généralement de bonne stabilité, constituent la forme commerciale habituelle de ces molécules. La basicité des alcaloïdes est très variable, cette propriété étant étroitement fonction de la disponibilité du double libre de l'azote. Il est intéressant de noter que cette propriété rend les alcaloïdes, à l'état de base et en solution, plus sensibles à l'oxygène, la lumière et la chaleur (**Bruneton, 1999**).

Enfin, on connaît des alcaloïdes, surtout d'origine tropicale (quinine), qui agissent comme antiparasitaires, d'une façon générale, les alcaloïdes sont amers et utilisés comme apéritifs. (**Paul, et Ferdinand, 1977**).

Notre travail a été réalisé durant la période allant du début du mois d'avril jusqu'à la fin de Mai 2013.

- l'étude ethnobotanique a été réalisée dans la région d'El Hammdania.
- L'étude phytochimique, l'extraction des alcaloïdes, l'effet antimicrobien et l'effet cicatrisant ont été réalisés respectivement dans les laboratoires suivants : Saidal de Médéa, l'ENS de Couba, chimie organique de l'USDB, l'hôpital de Boufarik et la station vétérinaire de l'USDB.

II-1. Matériel

II-1.1. Matériel biologique

II-1.1.1. Matériel végétal

Le matériel qui a fait l'objet de notre étude, sont les feuilles du *Cytisus triflorus* l'Hér.

Nous avons récolté l'espèce au mois de février dans la région de Sidi Rabah du secteur d'El Hammdania (Wilaya de Médéa), à une altitude de 900 m.

L'identification d'espèce a été effectuée par l'herbier du département de botanique de l'ENSA (Ecole National de science d'Agronomie) et celui du Parc National de Chréa, secteur d'El Hammdania. Après la récolte, 1kg des feuilles sont mises à sécher à l'abri de la lumière, dans un endroit bien aéré pour éviter les moisissures et à température ambiante pour éviter la photo-oxydation des substances et, puis finement broyées au moulin électrique. La poudre obtenue est conservée dans un flacon en verre hermétiquement fermé.

II-1.1.1.1. Description de la zone d'étude

L'étude ethnobotanique a été effectuée au niveau du secteur El Hammdania (**Figure 7**), l'un des trois secteurs du parc National de Chréa qui fut créé en 1925 dans le but de protéger les ressources naturelles, favoriser le tourisme et développer les stations estivales (**Marc, 1930**).

Le secteur El Hammdania s'étend sur 3898 hectares, limité au Nord par Ain Romana, au Sud par Oued Djer, à l'Ouest par la route nationale N°1 et à l'Est par Djbel Djemaa.

Selon **Halimi, (1980)**, des études pédologiques montrent que ses sols sont composés dans leurs grandes parties par des substratums schisteux durs et très siliceux



Figure7: carte présentant le lieu de récolte de la plante *Cytisus triflorus* (Google earth)

Échelle: 1/ 50 000°

II-1.1.1.2. Caractéristiques climatiques

L'étage bioclimatique du secteur est sub-humide, il baigne dans un climat méditerranéen et se trouve sur la ligne de contact entre deux climats différents : celui du Nord est marqué par des amplitudes thermiques donc par un hiver frais, par contre le méridional est caractérisé par de rares précipitations, d'assez fortes amplitudes thermiques et par une humidité relative de l'air faible (Halimi, 1980).

Les températures annuelles isothermes varient entre 8°C et 11°C. Les températures maximales moyennes du mois le plus chaud varient entre 26,3°C et 33,6°C et les températures minimales moyennes du mois le plus froid varient entre 4°C et 7,3°C. Les précipitations moyennes sont comprises entre 760 et 1400 mm/an (Halimi, 1980).

II-1.1.1.3. La flore

La flore de l'atlas Blidien fait partie de la flore Nord Africaine. D'après Battandier *et al.*, (1952), les tranches altitudinales qui constituent des forêts d'olivier, de pistachiers lentisques et de pins d'Alep, signale la présence du cèdre qui supporte la neige, du chêne vert et chêne liège. Plusieurs formes herbacées existent également au niveau

des secteurs tels que la globulaire, le basilic, le romarin, la lavande, la mélisse, le marrube, la thapsia, l'absinthe et le cytise.

II.1.1.2. Matériel animal

Le matériel animal sur lequel nous avons testé l'effet cicatrisant est constitué de 12 lapins (6 femelles et 6 males) des race croisée (Californie et New Zélande), dont le poids varie de 2 à 3kg.



Figure 11 : Lot de deux lapins (Original ,2013)

❖ Les conditions d'élevage

- ✓ Alimentation : Ceregran.
- ✓ Boisson : l'eau de ville

❖ Les conditions d'ébergement

- Température : 20-24°C
- Humidité : 50 %
- Eclairage : 12h

II.1.1.3. Les microorganismes :

Pour la réalisation de l'activité antimicrobienne nous avons testé des souches bactériennes et des champignons qui nous ont été fournis par le laboratoire de bactériologie de l'hôpital de Boufarik et du laboratoire d'hygiène de Blida.

Tableau I : les souches microbiennes testées :

les souches microbiennes	Origine	Référence
<i>Escherichia coli</i>	SR / ECBU	ATCC 25922
<i>Bacillus subtilis</i>	SR	ATCC 6633
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	SR / ECBU	ATCC 27853
<i>Staphylococcus aureus</i>	SR / Pus d'abcès	ATCC 25923
<i>Salmonelle Typhinurium</i>	Hémoculture	/
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ECBU	/
<i>Penicilium sp</i>	LHB	/
<i>Aspergillus niger</i>	SR	ATCC 16404
<i>Aspergillus flavus</i>	LHB	/
<i>Aspergillus terrus</i>	LHB	/
<i>Candida albicans</i>	SR	ATCC 2091

ATCC: American Type Culture Collection.

SR : souches de références

ECBU : Etude cytologie et bactériologie des urines.

LHB : Laboratoire d'hygiène, Blida

I1-1.2. Matériel non biologique

L'ensemble du matériel et équipements utilisés au niveau du laboratoire tels que la verrerie, les appareils et les réactifs, sont mentionnés en Annexe II, III.

II-2. Méthodes

II-2.1. Etude ethnobotanique

La méthodologie utilisée est une enquête sur terrain. Le but de cette enquête est de recueillir le maximum d'informations concernant l'usage traditionnel du cytise à trois fleurs. Nous avons donc établi quatre questionnaires adressés respectivement à quatre catégories de personnes.

- 1^{ère} catégorie : 100 personnes choisies au hasard (des deux sexes) et de différents âges. Ce questionnaire a été réalisé dans la région d'El Hammdania (lieu de la récolte de plante)
- 2^{ème} catégorie : deux femmes tradipraticiennes habitant la même région dont l'âge moyen est de 62 ans.
- 3^{ème} catégorie : 10 herboristes de différents âges dans la région de Blida.
- 4^{ème} catégorie : deux phytothérapeutes, dont l'âge moyen est de 57ans au niveau de Blida et Médéa.

II.2.2.Etude phytochimique

II-2.2.1.Détermination du taux d'humidité

Le principe est basé sur la dessiccation de la prise préparé à une température de 105° C dans une étuve jusqu'à l'obtention d'un poids pratiquement constant (**Audigie et al. 1987 in Athamena (2009)**).

➤ Mode opératoire

Les feuilles fraîches sont pesées et séchées dans une étuve réglée à 105°C pendant 24h. L'échantillon est refroidi dans un dessiccateur pendant 30mn puis pesé une deuxième fois. Ensuite, il faut remettre dans une étuve pendant une heure et procéder à une nouvelle pesée. L'opération est poursuivie jusqu'à l'obtention d'un poids pratiquement constant.

➤ Expression des résultats

La teneur en matière sèche est donnée par la formule suivante :

$$\% = \frac{P_1}{P_0} \times 100$$

%MS = pourcentage de matière sèche.

P₀ = Poids de l'échantillon humide (en gramme).

P₁ = Poids de l'échantillon après dessiccation (en gramme).

La détermination de la teneur en eau est donnée par la formule suivante :

$$\%H = 100 - \%MS$$

%H = Humidité en pourcentage.

%MS = pourcentage de matière sèche.

II-2.2.2. Le screening chimique

Le screening chimique est un ensemble des réaction chimiques simples permettant d'orienté rapidement vers l'étude détaillée de quelques types de constituants chimiques (**Girre,1980.**)

Le but de cette étude est de mettre en évidence la présence des métabolites secondaires présentent dans le cytise à trois fleurs.

Les tests préliminaires sont effectués, soit sur la poudre du broyat, soit sur l'infusé de la plante.

Ces tests sont réalisés selon **Gherib, (1988)**

- **Préparation de l'infusé**

Selon le protocole de Saidal de Médéa :

Mettre 20g de poudre à infuser dans 100ml d'eau distillée pendant 15mn, après on filtre avec le papier Whatman.

- **Identification de quelques métabolites secondaires**

-Les tanins : Quelques gouttes d'une solution de $FeCl_3$ sont ajoutées à 5ml de l'infusé. La réaction donne une coloration bleue noire en présence des tanins.

-Les flavonoïdes : sont mis en évidence par la réaction cyanhydrique ou l'essai de chinoda :

A 5ml de l'infusé on additionne 5ml d'HCl, un copeau de Mg et 1ml d'alcool Isoamylique, la réaction des flavonols, flavonones et flavones par le magnésium métallique en présence de l'acide chlorhydrique, donne une coloration rouge orangé, cette coloration est dû à la présence des flavonoïdes.

-Les alcaloïdes : Prendre 5 ml de l'infusé ajouté 3 ml d'acide sulfurique concentré (96%) (H_2SO_4) et 5 ml d'une solution d'iodomercurate de potassium (réactif de Valser Mayer), la réaction donne une coloration blanc crème.

-Les saponosides : Leur présence est détectée de la manière suivante :

A 2ml l'infusé, on ajoute quelques gouttes d'acétate de plomb, la formation d'un précipité blanc indique la présence des saponosides.

- Les anthocyanines : Prendre 5ml de l'infusé mélangé avec 4 ml d'hydroxyle d'ammoniac (NH_4OH) concentré (30%).l'apparition d'une coloration rouge indique la présence des anthocyanine. (**Gherib, 1988**).

-Les coumarines : Faire bouillir 2g de poudre végétale dans 20ml d'alcool éthylique de KOH à 10% jusqu'à l'obtention d'un milieu faiblement acide (pH=2).

- **Les glucosides** : Réaction avec l'acide sulfurique : on met deux gouttes de l'acide sulfurique concentré, sur une masse de la poudre végétale. En présence des glucosides, la masse se colore en rouge brique, puis en violette.

II-2.3.Extraction en milieu alcalin des alcaloïdes totaux (AT)

➤ Principe

L'extraction des alcaloïdes est basée sur la solubilité en milieu alcalin. (Gerge et al., 1988)

.Elle comporte 4 étapes principales

II-2.3.1. Protocole d'extraction des alcaloïdes totaux en milieu alcalin.

-La macération des feuilles séchées et broyées dans une base forte (NH_4OH) dilué dans de l'eau distillée que solubilise les alcaloïdes sous forme de sels. Pendant 48h puis on filtre. Le filtrat est mis dans une ampoule à décanter. On ajoute 70 ml de Dichlorométhane (CHCl_2). Cette opération est répétée trois fois. Après la séparation des deux phases, on récupère la phase organique qui contient les alcaloïdes.

-Le rinçage de la phase organique par l'eau distillé. Cette opération est répétée trois fois. Après la séparation des deux phases, on récupère la phase organique. En ajoute à ce dernier 200ml d'eau distillée.

- Acidifier la phase organique par quelques gouttes d'HCL (2N) jusqu'à l'obtention d'un pH=2.

- Nous avons séparé les deux phases par une ampoule à décanter, puis on récupère la phase aqueuse.

-la phase aqueuse est alcalinisée par quelques gouttes de l'Ammoniaque (NH_4OH) concentré jusqu'à l'obtention d'un pH=10. Puis on ajoute 50ml de dichlorométhane (CHCl_2). (Répéter trois fois).

-Une extraction liquide/solide dans une ampoule à décanter assure le déplacement des alcaloïdes totaux de la phase aqueuse vers le solvant apolaire (phase organique)

-Vaporiser la phase organique à l'aide d'un rotavapeur puis on récupère le résidu sec contenant les alcaloïdes totaux. (figure 8)

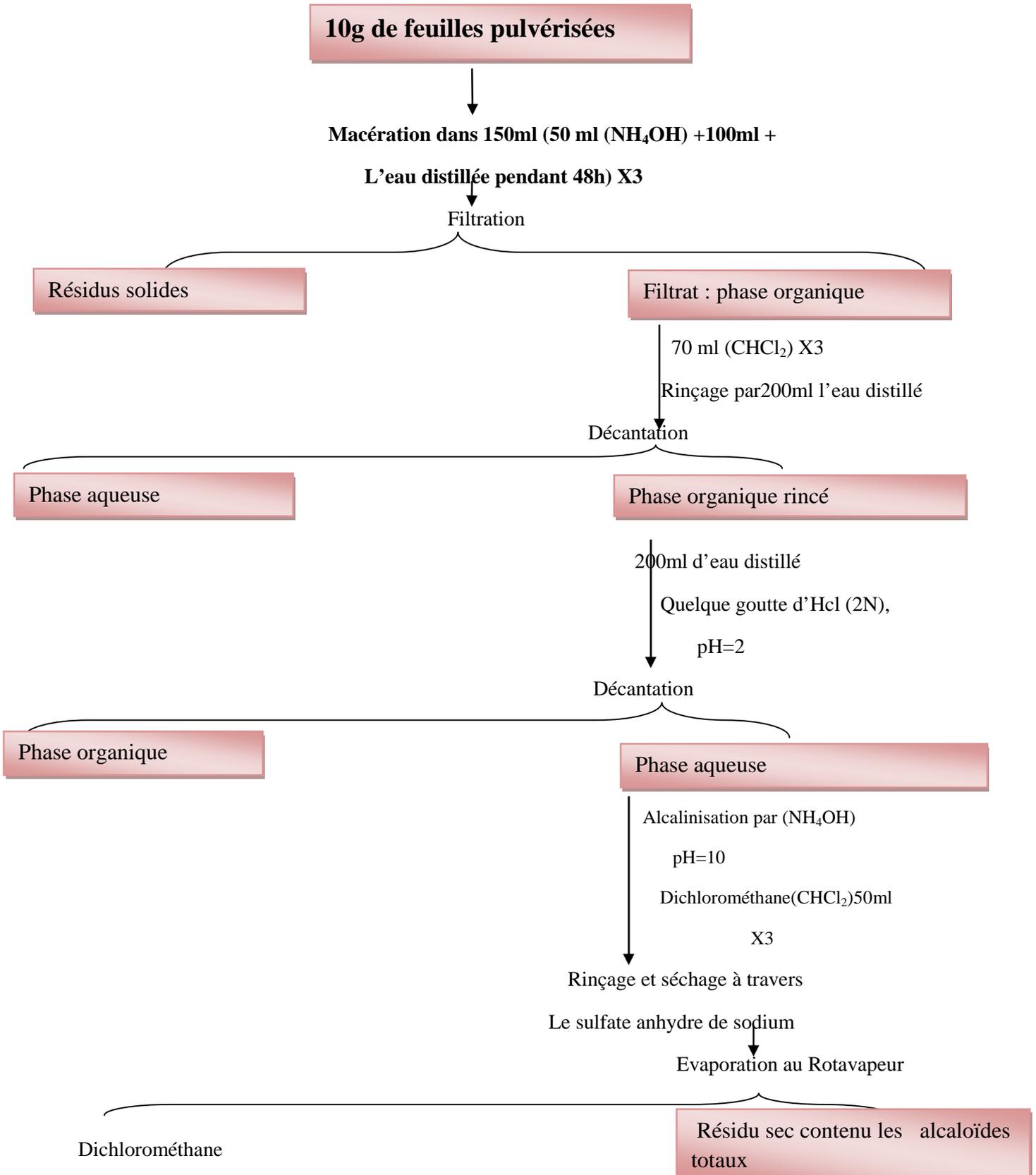


Figure 8: Protocole d'extraction des alcaloïdes totaux en milieu alcalin (Gerge et al., 1988).

✓ Caractères organoleptiques de l'extrait des alcaloïdes

D'après l'extraction des alcaloïdes quinolizidinique en milieu basique, nous avons cherché les Caractères organoleptiques tel qu'aspect, couleur, odeur et nature de notre extrait.

II-2.3.2.calcul du rendement

Le rendement en alcaloïdes totaux (R_{AT}) est évalué par le rapport entre la masse de l'extrait alcaloïdique et celle du matériel végétal utilisé :

$$R_{AT} = \frac{M_1}{M_0} \times 100$$

R_{AT} : rendement en alcaloïdes totaux %

M_1 : masse des alcaloïdes en gramme.

M_0 : masse des feuilles séchées broyées en gramme.

II-2.4. Evaluation du pouvoir antimicrobien

Certains composés chimiques et plus précisément les principes actifs ont une propriété inhibitrice sur quelques souches bactériennes et fongiques.

But

Le but est de mettre en évidence l'activité antibactérienne et antifongique des alcaloïdes extraits en milieu basique et de l'infusé des feuilles sèches de la plante étudiée (*Cytisus triflorus* l'Hér.). La méthode utilisée est celle de diffusion en milieu gélosé.

Principe

Pour réaliser la méthode de diffusion en milieu gélosé par des disques de 9mm, la culture microbienne est effectuée à la surface d'une gélose préparée selon l'exigence de la souche. Les disques sont pré imprégnés de l'infusé et de l'extrait d'alcaloïdes à différentes concentrations (100%,50%,25% et 12.5%), puis sont déposés à la surface de la gélose.

Les extraits diffusent à partir du disque en créant un gradient de concentration. Les caractères de sensibilité ou résistance de la souche en seront déduits par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition.

II.2.4.1. Protocole expérimental

Pour ce test nous avons utilisé l'infusé et l'extrait alcaloïdiques de la plante.

➤ Préparation des dilutions :

- la solution mère : Mettre 1g de poudre (des feuilles) dans 10ml d'eau distillée.
- Après une heure on filtre la solution mère par un papier filtre et on prépare trois dilutions dans des tubes à essai comme suite :
 - 1^{er} tube : solution mère (10ml).
 - 2^{eme} tube : dilution 50% (1ml de solution mère +9ml d'eau physiologique).
 - 3^{eme} tube : dilution 25% (1ml de solution 1 /2+9ml d'eau physiologique).
 - 4^{eme} tube : dilution 12.5% (1ml de solution 1 /4+9ml d'eau physiologique).
- ❖ **L'extrait alcaloïdique** : les alcaloïdes extraits sont des sels, pour récupérer ces derniers nous avons dilué dans 10ml de méthanol pour obtenir 17.5mg/ml de solution méthanolique. Nous avons préparés les dilutions suivantes : extrait méthanolique (100%) ,50%,25%, 12,5% et le témoin méthanol).

II-4.2. Préparation des suspensions microbiennes

À partir d'une jeune culture de 24heures pour les bactéries et de 5 jours pour les champignons et 3 jours pour la levure, nous réalisons des suspensions troubles, en prélevant 3à 5 colonies bien isolées et identiques à l'aide d'une anse stérile, cette dernière déchargée dans 10ml d'eau physiologique stérile puis nous agitions au vortex, (ce travail est effectué près du bec benzène).

La concentration optimale des suspensions est de : 10^5 et 10^6 germes /ml pour les bactéries et 10^{15} germes /ml pour les champignons.

- Nous avons préparé 8 boîtes de Pétrie contenant le milieu Muller-Hinton pour les bactéries, et 5 boîtes de Pétrie contenant le milieu Sabouraud pour les champignons, puis nous avons fait l'ensemencement (**Figure 9**).
- Les disques immergés dans chaque solution, puis mis dans la boîte de Pétrie (4 disques pour l'infusé et 5 disques pour l'extrait alcaloïdiques dans chaque boîte)(**Figure 10**).
- Les mêmes étapes sont réalisées pour les autres boîtes de Pétrie pour les bactéries et les champignons,

- L'incubation est faite dans l'étuve à 37°C pendant 24 heures pour la croissance des souches bactériennes, et à 25°C pendant 5 jours pour les champignons et 48h pour la levure.

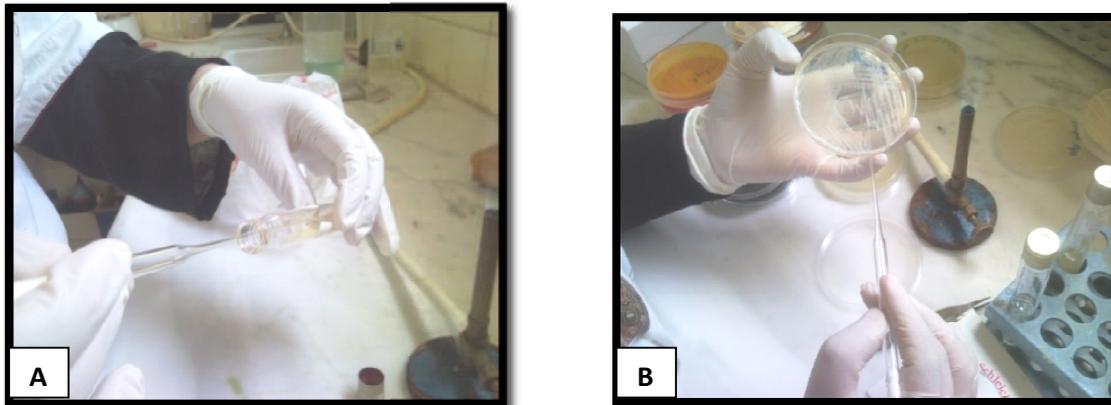


Figure 9: Prélèvement de la souche mère (A) et ensemencement sur boîtes de pétrie contenu le milieu de culture (B) (Original 2013).

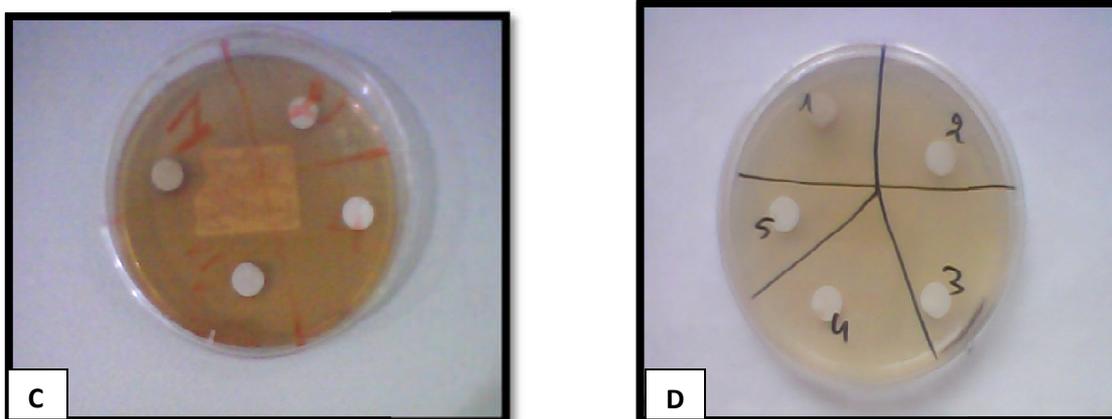


Figure 10 : Dépôt des disques imprégnés de l'infusé (C) et des alcaloïdes (D) à la surface d'une boîte ensemencée (Originale 2013).

II-4.3.Lecture

- Après incubation, on mesure les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse.

II-2.5. Etude de l'activité cicatrisante

But

Le but de notre travail est de tester l'effet cicatrisant de la plante.

Principe

Le principe consiste en l'application des traitements sur des plaies préalablement provoquées. Les applications sont faites quotidiennement jusqu'à la cicatrisation complète de la plaie (environ 15 jours).

II.2.5.1. Mode opératoire

L'activité cicatrisante a été testée sur 12 lapins (6 males et 6 femelles), dont l'âge moyen est de un an. Ils sont repartis en 6 lots : un male et une femelle.

Quatre traitements ont été testés pour la cicatrisation des plaies réalisées sur les lapins (Tableau II) et (figure 12) et deux témoins(positif et négatif)(figure 13).

Tableau II : Produits testés pour la cicatrisation des plaies réalisées sur les 6lots de lapins.

Les Lots	Lot N°1	Lot N°2	Lot N°3	Lot N°4	Lot N°5	Lot N°6
Le produit testé	<p>Pommade 1(10g de poudre + 40 g vaseline)</p> 	<p>Pommade2 (10g de poudre + 40 g beurre naturel)</p> 	<p>feuilles fraiche écrasée</p> 	<p>Poudre Des feuilles séchée</p> 	<p>L'eau physiologique</p> 	<p>Madicassol®</p> 

II.2.5.2.Préparation de l'animal

Nous avons provoqué deux types de plaies, sur les deux côtés du même lapin (gauche et droite) . Nous avons pris le côté droit pour faire une plaie profonde (peau scalpé) (**Figure 13**) et l'autre côté pour faire une plaie superficielle (incision) (**Figure 12**).

L'opération est réalisée selon les étapes suivantes :

- Epilation des lapins par une tondeuse électrique pour dégager une surface d'environ 5×5cm sur les deux côtés (gauche et droite).
- Désinfecter les régions tondues avec de l'alcool chirurgical à 70%.
- Marquer la zone pour faire l'incision

❖ Réalisation de la plaie superficielle (incision)

La plaie superficielle a été effectuée par scarification sur le côté gauche de chacun des 12 lapins, à l'aide d'une lame de scalpel. La scarification est peu profonde (0.5cm d'épaisseur et de 2cm de longueur) (**Figure 12**)

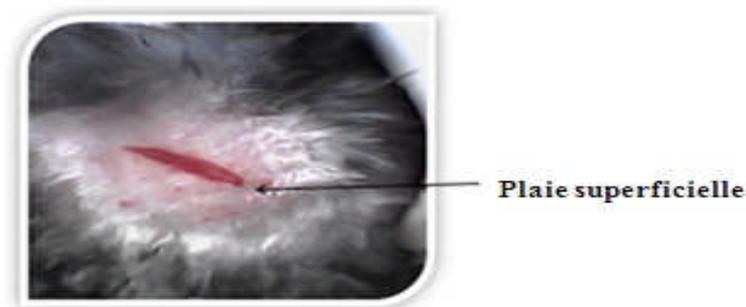


Figure 14 : Réalisation de la plaie superficielle (**original,2013**)

❖ Réalisation de la plaie profonde (peau enlevé)

La plaie profonde a été effectuée sur le côté droit de chacun des 12 lapins, en découpant la zone tracée à l'aide d'une paire de ciseaux et une pince, puis enlever la peau de cette zone de façon à obtenir une surface de 4cm² .Cette surface dépourvue de peau est nettoyée avec de l'alcool chirurgical à 70% (**Figure 13**)



Figure 15 : Réalisation de la plaie profonde (original,2013)

II.2.5.3.L’application des traitements

Nous avons appliqué quotidiennement les six traitements deux fois par jour pour les six lots de lapins, pendant 15 jours .Les quantités de chaque traitement sont mentionnées dans le tableau ci –dessous

Tableau III : la quantité des produits testés pour les deux types de plaies.

Types de plaies	Plaie superficiel (incision)	Plaie profonde (peau enlevée)
Lot N°1	1g de p ₁	2g de p ₁
Lot N°2	1g de p ₂	2g de p ₂
Lot N°3	1g de p ₃	2g de p ₃
Lot N°4	1g de p ₄	2g de p ₄
Lot N°5	1ml de p ₅	2ml de p ₅
Lot N°6	0.5g de p ₆	1g de p ₆

- P₁ : Pommade n°1(poudre+vaseline) P₂ : Pommade n°2(poudre+beurre naturel)
- P₃ : Feuilles fraiche écrasée P₄ : Poudre
- P₅ : Eau physiologique P₆ : Madicassol®

➤ La mesure des plaies se fait chaque jour.

III.1. Résultats de l'enquête ethnobotanique

III.1.1. Fréquence d'utilisation du cytise à trois fleurs selon le profil des enquêtés (1^{ère} catégorie)

L'enquête ethnobotanique sous forme de questionnaire (annexe I) adressé individuellement à cent personnes, choisies au hasard dans la région d'El Hammdania, nous a permis de recueillir des informations concernant l'usage traditionnel du cytise à trois fleurs. Les résultats sont illustrés sur les histogrammes ci-dessous :

➤ Connaissance de la plante selon l'âge

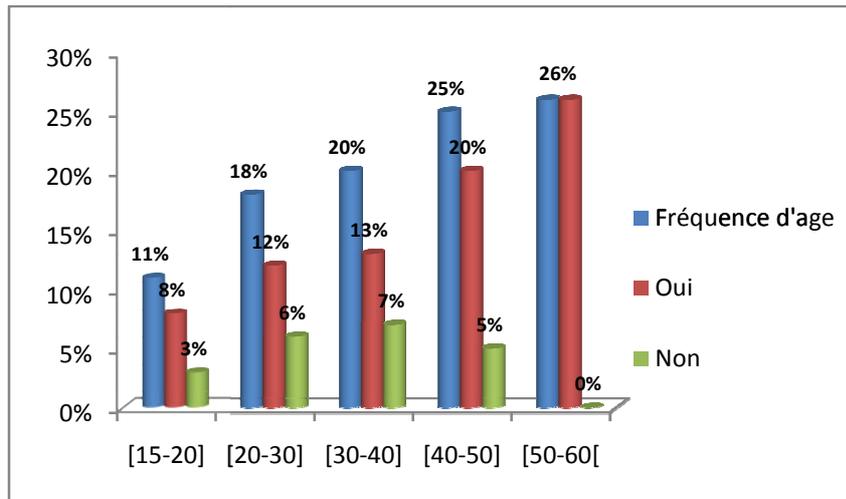


Figure 14: la fréquence de connaissance de la plante selon l'âge.

Selon les résultats obtenus (Figure 14), nous constatons que la majorité des personnes que nous avons questionnées connaissant le cytise à trois fleurs, soit (79%). Se sont les personnes âgées entre 50 et 60 ans qui connaissent mieux le cytise avec une fréquence de (26%). Viennent ensuite les tranches d'âges [40-50], [30-40], [20-30] et [15-20] avec respectivement : 11% , 18%, 20% et 25%.

➤ Le nom local de la plante

Toutes les personnes questionnées connaissent le cytise sous un seul nom local ou vernaculaire : « Tilouquite ».

➤ **Le niveau intellectuel et le sexe d'appartenance**

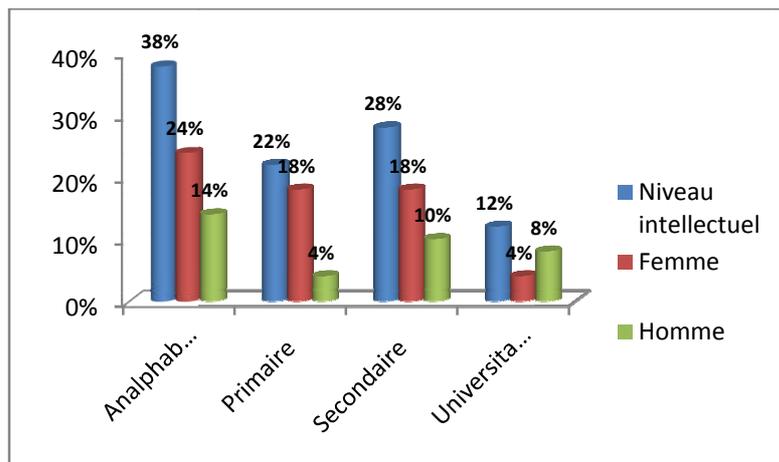


Figure 15 : fréquence de connaissance de la plante selon le niveau intellectuel et le sexe d'appartenance.

D'après les résultats recueillis dans la zone d'étude (Figure 15), la majorité des connaisseurs du cytise à trois fleurs sont des analphabètes avec une fréquence de 38%. Viennent ensuite les personnes dont le niveau est secondaire (28%) et primaire (22%). Les universitaires que nous avons questionnés connaissent peu cette plante.

Nous constatons que les femmes ont plus de connaissance sur cette plante par rapport aux hommes (64% contre 36%). Cela explique, que les femmes sont plus détentrices du savoir thérapeutique traditionnel.

➤ **Le domaine et la partie utilisée de la plante**

Les résultats que nous avons obtenus sont illustrés sur la figure 16. Ils montrent que toutes les personnes interrogées connaissant le cytise à trois fleurs, affirment utiliser cette plante uniquement dans le domaine médicinale et se sont les feuilles, qui sont utilisées pour préparer les remèdes traditionnels.

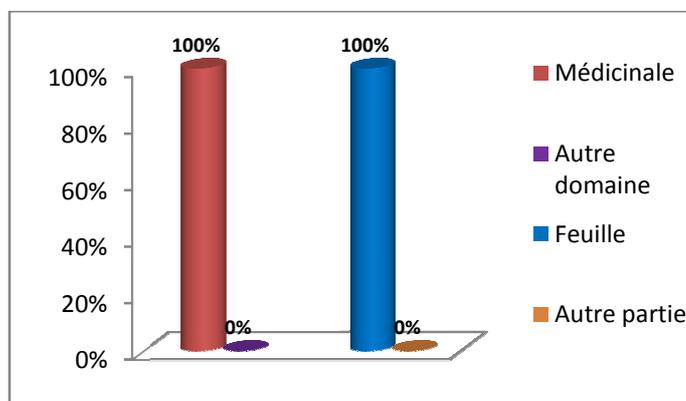


Figure16 : domaine et partie utilisée de la plante

➤ Les différentes maladies préconisées et mode de préparation des remèdes à base du cytise à trois fleurs.

Selon les résultats que nous avons obtenus (Figure 17), nous pouvons dire que cette plante est utilisée par la population locale pour traiter plusieurs maladies.

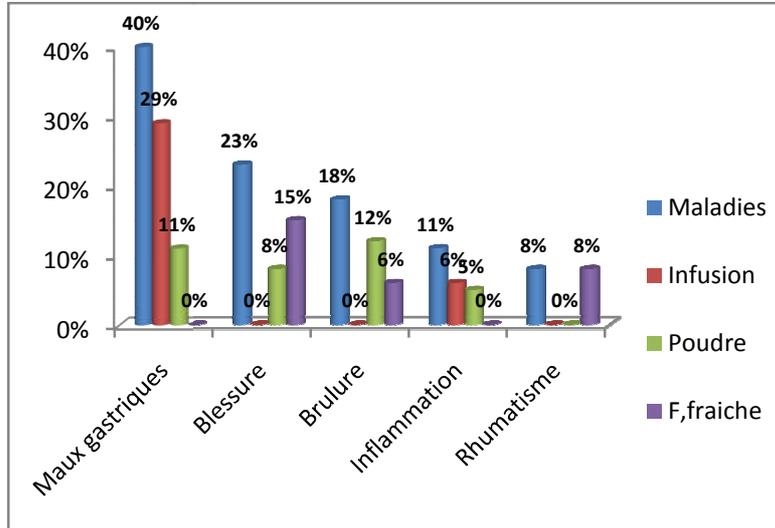


Figure 17 : fréquence d'utilisation du cytise à trois fleurs pour différentes maladies et mode de préparation.

En effet, 40% des personnes questionnées, utilisent le cytise à trois fleurs pour traiter les maux gastriques dont 29% l'utilisent sous forme d'infusion et 11% sous forme de poudre mélangée avec du miel ou à de l'huile d'olive. 23% affirment avoir utilisée cette plante pour la cicatrisation des blessures et 18% pour les brulures.

Concernant le mode d'emploi pour les brulures : 8% l'utilisent sous forme de poudre et 15% utilisent les feuilles fraîches. Tandis que 11% disent qu'elle peut être utilisée pour traiter l'inflammation, dont 6% l'utilisent sous forme d'infusion et 5% sous forme de poudre. D'autres personnes (8%) utilisent les feuilles fraîches de la plante sous forme de cataplasme pour traiter le rhumatisme.

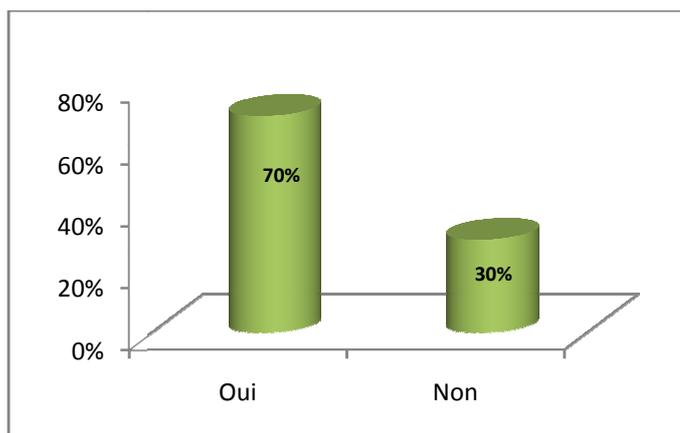
➤ **l'utilisation personnelle et l'efficacité de la plante**

Figure 18 : fréquence d'utilisation personnelle et efficacité de la plante

Selon la figure 18, nous constatons que 70% des personnes enquêtées utilisent eux même le cytise à trois fleurs et affirment que les résultats sont positifs à la suite du traitement par cette plante.

Ils affirment aussi que cette plante possède une efficacité remarquable et naturelle très accessible par l'organisme surtout pour traiter les deux maladies (maux d'estomac et la cicatrisation des plaies), sans effets secondaires.

Notons que toutes les personnes questionnées font eux même la récolte du cytise à trois fleurs pendant toute l'année.

III.1.2. Résultats de l'enquête ethnobotanique concernant la 2^{ème} catégorie (les herboristes)

Les 10 herboristes que nous avons questionné, dont l'âge est compris entre 20 et plus de 50 ans connaissent le cytise à trois fleurs. Les informations que nous avons obtenues de ces herboristes se résument comme suit :

-La plante présente beaucoup de vertus thérapeutiques, elle est utilisée seulement dans le domaine médicinal, pour les maladies liées à l'appareil digestif et pour la cicatrisation des plaies et des brulures.

-Les feuilles sont les seules parties de la plante qui sont utilisées pour la préparation des remèdes traditionnels.

-Le mode d'emploi utilisé est généralement l'infusion des feuilles fraîches ou séchées ou la poudre utilisée directement sur la plaie.

▪ **Remarque :**

Notons que 40% des herboristes ont un niveau primaire, 35% un niveau secondaire, 18% sont des analphabètes et 7% d'entre eux sont des universitaires. Nous notons aussi que 70% des herboristes affirment avoir acquis le savoir par héritage de génération en générations, d'autres en consultant des livres de plantes médicinales.

III.1.3. Résultats de l'enquête ethnobotanique pour les phytothérapeutes et les tradipraticiennes.

Selon les questions qui ont été posées aux deux phytothérapeutes et aux deux tradipraticiennes (dont l'âge moyen est respectivement de 60 et 78 ans), nous avons constaté les mêmes réponses :

-Ils connaissent bien cette plante dont le nom est Tilouguite, ils utilisent uniquement les feuilles pour la cicatrisation des plaies, des brûlures et de l'ulcère gastrique.

-Pour la cicatrisation, le mode de préparation est la pommade à base du cytise à trois fleurs.

-Pour l'ulcère gastrique, sous forme d'infusion ou poudre mélangée avec du miel ou de l'huile d'olive.

▪ **Remarque**

Les phytothérapeutes ont une formation de médecins généralistes et ont acquis le savoir de traiter par les plantes grâce à une formation en phytothérapie. Les tradipraticiennes, sont des analphabètes, elles ont acquis ce savoir par héritage (les recettes sont transmises de génération en génération) et par l'expérience.

▪ **Discussion**

L'étude ethnobotanique a été réalisée dans la région d'El Hammdania. Elle nous a permis de recueillir les informations suivantes :

Se sont les personnes âgées entre 50 et 60 ans qui connaissent mieux le cytise à trois fleurs (Tilouguite) avec une fréquence de (26%). Nos résultats sont similaires à ceux de **Achour et al., (2008)** et **Zadouerkeb et al., (2009)**, ces derniers ont réalisé une étude

ethnobotanique dans la même région et révèlent que se sont les personnes d'âge supérieur à 50 ans qui ont une fréquence de connaissance et d'utilisation des plantes médicinales soit 45%.

Bien que notre étude à été réalisée après 5ans, nos résultats ne diffèrent pas beaucoup de ceux de **Achour et al., (2008)** et **Zad Ouerkeb et al., (2009)**. Ceci pourrait être expliqué d'une part par le fait que la population de cette région préfère les remèdes naturels aux produits pharmaceutiques vu le nombre important des plantes médicinales facilement cueillies et les résultats qui se révèlent positifs et moins agressifs pour l'organisme. D'autre part nous pouvons expliquer cette préférence des hôpitaux. Car d'après notre visite à cette région, nous avons remarqué qu'il n'existe qu'un seul petit centre médical mal équipée géré par un seul médecin.

Nos résultats montrent que les femmes ont un savoir sur le cytise à trois fleurs plus que les hommes (64% contre 36%). Les mêmes résultats sont retrouvés par une étude ethnobotanique réalisée au Maroc par **Jouad et al., (2001)**, et expliquent que les femmes sont plus détentrices du savoir phytothérapeutique traditionnel par rapport aux hommes (63% contre 37%).

Les informations que nous avons obtenues des herboristes montrent que vendent le cytise à trois fleurs pour ses vertus thérapeutiques surtout pour les maladies suivantes : maux d'estomac (32%), cicatrisation des plaies et brûlures (60%). les modes d'utilisations de la plante est sous forme d'infusion (23%), pour maux d'estomac et en poudre ou feuilles fraîches pour la cicatrisation (28%).

Les mêmes informations nous ont été données par les deux phytothérapeutes et les deux veilles tradipraticiennes.

III.2. Résultat du test phytochimique

III.2.1. Détermination de la teneur en eau

Nous avons utilisé la méthode pondérale pour déterminer le taux d'humidité des feuilles fraîches de *Cytisus triflorus*. C'est la détermination de la perte de la masse par dessiccation à l'étuve. Nous avons obtenu un taux d'humidité de 36.20% dans une masse de 100g de la plante. Dans les organes végétaux, la teneur en eau est généralement très supérieure à 1% et dépasse souvent 10% (**De parveaux et Huber, 2007**).

III.2.2. Le Screening chimique

Les résultats du test phytochimique menée sur les feuilles de *Cytisus triflorus*, sont illustrés dans le tableau suivant :

Tableau IV : les métabolites secondaires mis en évidence par le test phytochimique du *Cytisus triflorus* .

Les métabolites secondaires	Résultats	Réactions
Les tanins	++	Bleu noire
Les flavonoïdes	++	Rouge orangée
Les alcaloïdes	+++	Blanc crème
Les Saponosides	++	précipité blanc
Les anthocyanine	-	Rouge
Les coumarines	-	obtention d'un milieu faiblement acide.
Les glucosides	+	rouge brique puis se transforme en violette

- +++ : Abondants.
- ++ : Moyennement abondants.
- + : présence.
- - : Absence.

Les résultats des tests préliminaires montrent que le cytise à trois fleurs renferme différents métabolites secondaires tels que les tanins, les flavonoïdes, les saponosides, dont les alcaloïdes sont majoritaires.

III.3. Résultats de l'extraction des alcaloïdes

L'extrait brut des alcaloïdes a été obtenu par la méthode d'extraction en milieu acide à partir des feuilles séchées.

III.3.1. Caractères organoleptiques de l'extrait des alcaloïdes

L'extrait des alcaloïdes obtenu présente les Caractères organoleptiques suivants :

Tableau V : les Caractères organoleptiques des alcaloïdes de cytise à trois fleurs.

Aspect	Couleur	Odeur	Nature
Onctueux	Vert foncé	Fort	Liposoluble

Ces caractères organoleptiques sont similaires à ceux déjà obtenus pour des extraits alcaloïdiques issus de la même espèce par **Abbas et Redouane (2007)**, **Chibili (2010)**.

III.3.2. Rendement en alcaloïdes totaux

Une quantité de 10g de feuilles de cytise à trois fleurs séchées et broyées a été répartie sur une extraction en milieu alcaline. Le rendement (R_{AT}) obtenu après extraction des alcaloïdes est de 1.75%. Cette valeur est la même que celle obtenue par **Chibili (2010)**, et supérieure à celle obtenue par **Khlafat (2008)**, travaillant sur la même matière végétale récoltée d'Azazga en février 2007 ($R_{AT}=0.21\%$) mais utilisant une méthode d'extraction en milieu acide. Cette différence des rendements sera due aux méthodes d'extraction adoptées (en milieu acide et en milieu alcalin), sachant que le même auteur a obtenu des rendements en alcaloïdes inférieures à partir des graines ($R_{AT}=0,13\%$) et des fruits secs ($R_{AT}=0.14\%$). Le rendement en alcaloïdes diffère selon les organes de la plante ayant subi l'extraction. Donc nous ne pouvons pas affirmer que l'extraction en milieu alcalin est la plus rentable.

En effet selon **Brunton (2007)**, la teneur en alcaloïdes d'une même espèce peut varier selon l'organe : l'espèce *C.laburnum* par exemple, a une teneur très élevée ($R_{AT}=3\%$) dans les graines, mais qui diminue pour les feuilles ($R_{AT}=0,3\%$), de même le rendement obtenu par **Abbas et Redouane (2007)** qui ont travaillé sur la même espèce a été également faible ($R_{AT}=0.21\%$) malgré l'emploi de la méthode d'extraction en milieu

alcalin, ceci peut être expliqué par l'épuisement incomplet de la phase aqueuse de ses alcaloïdes.

III.4. Résultats de l'activité antimicrobienne des alcaloïdes de *Cytisus triflorus*

III.4.1. Activité antibactérienne

Cette étude est basée sur la mesure du diamètre des halos d'inhibition de l'infusé et l'extrait d'alcaloïde obtenu à partir des feuilles du cytise à trois fleurs.

❖ Effet antibactérien de l'infusé

Les résultats de l'activité antibactérienne de l'infusé sont mentionnés dans le tableau suivant :

Tableau VI : Les diamètres des zones d'inhibition de l'infusé de *Cytisus triflorus* l'Hér

Concentration Souches bactériennes	Solution mère 100%	Dilution 50%	Dilution 25%	Dilution 12.5%
<i>Escherichia coli</i> (SR)	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> (ECBU)	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> (prélevé d'un pus d'abcès)	12.7mm	10.2mm	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	-	-	-	-
<i>Salmonella Typhi</i>	-	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	-
<i>psseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-

Toutes les bactéries sont résistantes quelque soit la concentration de l'infusé sauf *Staphylococcus aureus* (prélevé d'un pus d'abcès) est sensible, car le diamètre d'inhibition est de 12.7mm pour la concentration 100% et 10.2mm pour la concentration 50%.(Figure 19)

❖ Effet antibactérien des alcaloïdes

Les résultats sont reportés dans le tableau suivant :

Tableau VII : Les diamètres des zones d'inhibition des alcaloïdes de *Cytisus triflorus*

Concentration Souches Bactériennes	Solution mère 100%	Dilution 50%	Dilution 25%	Dilution 12.5%	Témoin (méthan ol)
<i>Escherichia coli</i> (SR)	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> (ECBU)	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> (prélevé d'un pus d'abcès)	15.5	12	10	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> (SR)	16	14.8	12	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	15.2	13.5	-	-	-
<i>Salmonella typhi</i>	-	-	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	-	-
<i>psseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-

- Diamètre de disque (9mm)

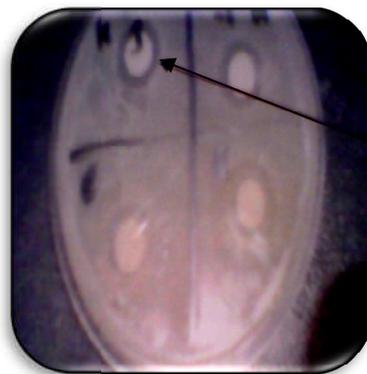
Par rapport à l'infusé, les alcaloïdes quinolizidinique possèdent une activité antibactérienne sur les souches (*Staphylococcus aureus* (prélevé d'un pus d'abcès), *Staphylococcus aureus* (SR) et *Bacillus subtilis*).

Une échelle de mesure de l'activité antibactérienne a été rapportée par le Comité Français de Microbiologie, (fiche technique de Saidal) classant ainsi les diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne comme suit :

- Fortement inhibitrice : $\text{Ø} \geq 28\text{mm}$ de la zone d'inhibition
- Moyennement inhibitrice : $28\text{mm} \geq \text{Ø} \geq 16\text{mm}$
- Faiblement inhibitrice : $16\text{mm} \geq \text{Ø} \geq 10\text{mm}$
- Non inhibitrice : $\text{Ø} \leq 10\text{mm}$ de la zone d'inhibition

En vu de nos résultats, nous notons que l'infusé des feuilles séchées du cytise à trois fleurs a une faible activité antimicrobienne pour les bactéries de Gram+ *Staphylococcus aureus* (prélevé à un pus d'abcès) avec un diamètre de 12.7 ,10.2 mm , pour la solution mère et pour la dilution 50%, et une résistance chez les autre bactéries.

Par contre l'extrait des alcaloïdes quinolizidiniques inhibent la croissance des bactéries pour une concentration de (100%, 50%, 25% et 12.5%) et sont comparés par le témoin (méthanol) ,qui a un effet remarquable sur les deux bactéries de Gram+ , *Staphylococcus aureus* (prélevé d'un pus d'abcès) (15.5mm,12mm et 11mm) de diamètre et *Staphylococcus aureus* (SR) ,(16mm,14.8mm et12mm) de diamètre *Bacillus subtilis* avec un diamètre (15.2mm et13.5mm) de diamètre et aucune zone d'inhibition pour les bactéries de Gram- , *Escherichia coli* (ECBU), *Salmonella Typhi* , *psseudomonas aerugenosa* , *Klebsiella pneumoniae* (tableau VII) et (Figure 20).



Zone d'inhibition chez la bactérie *Staphylococcus aureus*.

A)la zone d'inhibition chez la bactérie *staphylococcus aureus*



B)Absence de zone d'inhibition chez *psseudomonas aerugenosa*

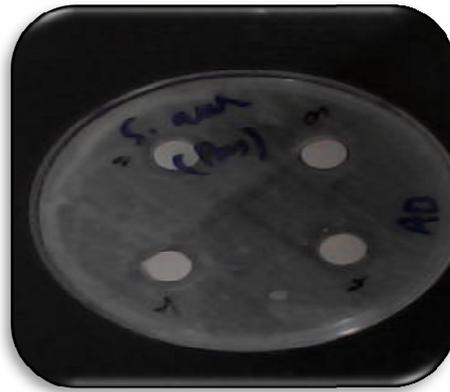


C) Absence de zone d'inhibition chez *Escherichia coli* (SR)

Figure19: Aspect des cultures et zones d'inhibition en présence l'infusé de *cytissus triflorus*



A) Zone d'inhibition de la bactérie *Staphylococcus aureus*(SR).



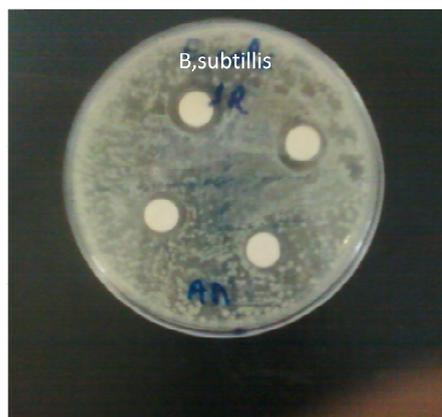
B) Zone d'inhibition de la bactérie *Staphylococcus aureus* (prélevé d'un pus)



C) absence de la zone d'inhibition *Escherichia coli* (ECBU)



D) absence de la zone d'inhibition chez la bactérie *salmonella Typhi*



E) Zone d'inhibition de la bactérie *Bacillus subtilis* (SR)

Figure20: Aspect des cultures et zones d'inhibition en présence des alcaloïdes quinolizidiniques de *cytissus triflorus* l'Hér

Nos résultats sont similaires aux travaux antérieurs de **Wink (1984)** et **Chibili (2010)**, sur l'activité antibactérienne des alcaloïdes sur le même genre de cytise, ils ont prouvé l'efficacité de ces alcaloïdes sur la bactérie de Gram+ (*Staphylococcus aureus*) plus que les autres bactéries de Gram- (*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*).

Wink (1984), montre dans une étude que la spartéine qui est l'alcaloïde majoritaire dans le genre *Cytisus Laburnum*. et (**Chibili, 2010**), concernant les alcaloïdes quinolizidiniques extraits à partir des feuilles du *Cytisus triflorus* l'Hér, ont une activité antimicrobienne contre les bactéries et les champignons.

Ces deux chercheurs ont prouvé la sensibilité des alcaloïdes sur les bactéries de Gram+ et la résistante sur les bactéries de Gram- .Car sont due à la nature de la paroi plasmique des bactéries à Gram- doublé et riche en lipopolysaccharides, ce qu'il donne une imperméabilité au principe actif.

Concernant les alcaloïdes quinolizidinique les mécanismes restent sombres, d'après quelques chercheurs, le mécanisme est peut être du à des changements au niveau de l'ADN puisque les alcaloïdes sont connus comme des inhibiteurs de la synthèse d'ADN par les topoisomérases et comme des induit d'ADN (**Guittat et al, 2003; Lisgarten et al., 2002**).

❖ **Activité antifongique**

L'évaluation de l'activité antifongique de l'infusé et de l'extrait d'alcaloïde de la plante sur les champignons, *penicillium sp*, *condida albinans* *Aspergillus niger*, *Aspergillus terrus*, *Aspergillus flavus* montrent aucun activité antifongique.

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau VIII

Tableau VIII : Les diamètres des zones d'inhibition d'alcaloïdes et l'infusé de *Cytisus triflorus* l'Hér pour les champignons

Concentration Souches fongiques	Solution mère 100%	Dilution 50%	Dilution 25%	Dilution 12.5%
<i>Penicillium sp</i>	-	-	-	-
<i>Aspergillus niger</i>	-	-	-	-
<i>Aspergillus terrus</i>	-	-	-	-
<i>Aspergillus flavus</i>	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i>	-	-	-	-

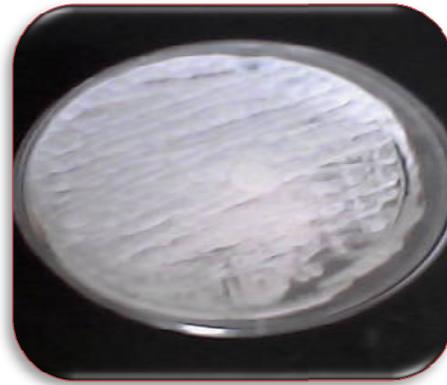
- Diamètre de disque (9mm)

D'après le Tableau VIII : l'infusé et l'extrait des alcaloïdes quinolizidiniques obtenu par l'extraction en milieu alcalin de la plante étudiée *cytissus triflorus* l'Hér a montré aucune activité antifongique pour tout les champignons phytopatogènes (*penicillium sp*), et les champignons toxigènes (*Aspergillus niger*, *Aspergillus terrus*, *Aspergillus flavus*) et la levure *Candida albicans*. car nous n'avons remarqué aucune zone d'inhibition chez toutes les cultures de champignons.(Figure 21).

Ces valeurs sont presque similaires aux travaux du **Chibili (2010)** qui trouve une activité faible sur *Candida albicans* avec un diamètre de 8mm (les disques de 6mm) et 12mm pour les champignons phytopathogène *Botrytis fabae*, il est à signaler que *Botrytis fabae* est l'un des champignons infestant certaines Fabaceae telle que la fève (*vicia faba* L.) provoquant la maladie des taches noires. **Bouhassan et al (2007)** ont mentionné la présence des génotypes de fève partiellement résistants à cette maladie .Les alcaloïdes qui caractérisent la famille des Fabaceae peuvent être impliquées bien dans le mécanisme de défense contre ces attaques fongiques.



A) Absence de zone d'inhibition chez le champignon *Penicillium sp.*



B) Absence de zone d'inhibition chez la levure *Candida albicans*



C) Absence de zone d'inhibition chez le champignon *Aspergillus niger*



D) Absence de zone d'inhibition chez le champignon *Aspergillus flavus*

Figure 21: Aspect des cultures et zones d'inhibition en présence des alcaloïdes et l'infusé de *cytistus triflorus* l'Hér

III.5. Résultats de l'activité cicatrisante du *cytistus triflorus* l'Hér

Notre étude est basée sur les préparations traditionnelles de la plante *cytistus triflorus* l'Hér sur les deux types de plaies.

Durant les 15 jours nous avons appliqué les différentes préparations à base de la plantes, pommade n°1 (vaseline + poudre), pommade n°2 (beurre naturel+poudre), feuilles fraîche écrasée pour le cataplasme, poudre pour l'application directe, et deux témoin (l'eau physiologie, Madicassol®).

Les remèdes sont appliqués 2 fois par jour.

➤ Evaluation de l'activité cicatrisante de la plaie superficielle

Les résultats d'évolution de l'activité cicatrisante de la plaie superficielle sont rassemblés dans le tableau XI et la figure 22.

Tableau IX : les longueurs des plaies superficielles chez les lapins.

traitements temps	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	Témoin positif	Témoin négatif
Le 1 ^{er} jour	2 cm					
Le 4 ^{ème} jours	1.2	1.35	1.55	1.25	1.2	1.35
Le 8 ^{ème} jours	0.44	0.35	0.45	0.5	0.35	0.45
Le 10 ^{ème} jours	0.00	0.00	0.1	0.00	0.00	0.4

T₁ : P. vaseline

T₂ : P. beurre

T₃ : Feuilles fraiche

T₄ : poudre

Témoin positif: Madécassol®

Témoin négatif: l'eau physiologie

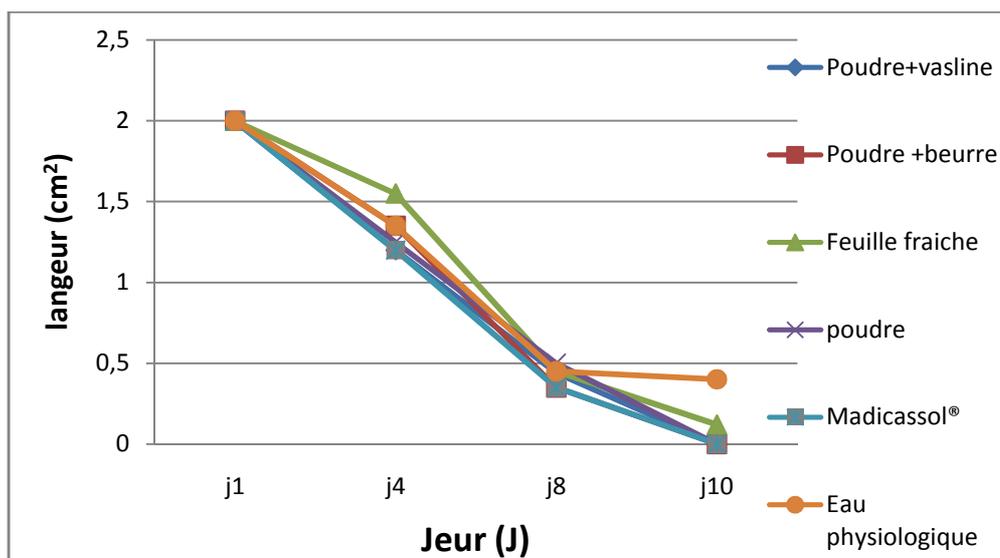


Figure22: Graphe présente l'évolution des plaies superficielles.

Les courbes ci-dessus (Figure 22) montrent que la plaie superficielle des lots traités par Madicassol®, les deux pommades (poudre+vaseline et poudre+beurre naturelle) et la poudre se cicatrisent rapidement dans le temps. En effet une cicatrisation totale a été enregistrée le 10^{ème} jour du traitement. Par contre les feuilles fraîches et le témoin négatif prennent un peu plus de temps pour la disparition totale de la plaie (11 et 13 jours).

➤ **Evaluation de l'activité cicatrisante de la plaie profonde**

Les résultats d'évolution de l'activité cicatrisante de la plaie profonde sont rassemblés dans le tableau X et la figure 23.

Tableau N°X : les moyennes des surfaces des plaies profondes chez les lapins.

traitements temps	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	Témoin positif	Témoin négatif
Le 1 ^{er} jour	4cm ²					
Le 4 ^{ème} jour	2.3	2.8	3.8	2.4	2.6	3.7
Le 8 ^{ème} jours	1.2	1.3	1.9	1.8	1.6	1.9
Le 12 ^{ème} jours	0.45	0.25	0.6	0.35	0.25	0.8
Le 15 ^{ème} jours	0.00	0.00	0.2	0.1	0.1	0.5

T₁: P. vaseline

T₂: P. beurre

T₃: Feuilles fraîche

T₄: poudre

Témoin positif: Madécassol®

Témoin négatif: l'eau physiologique

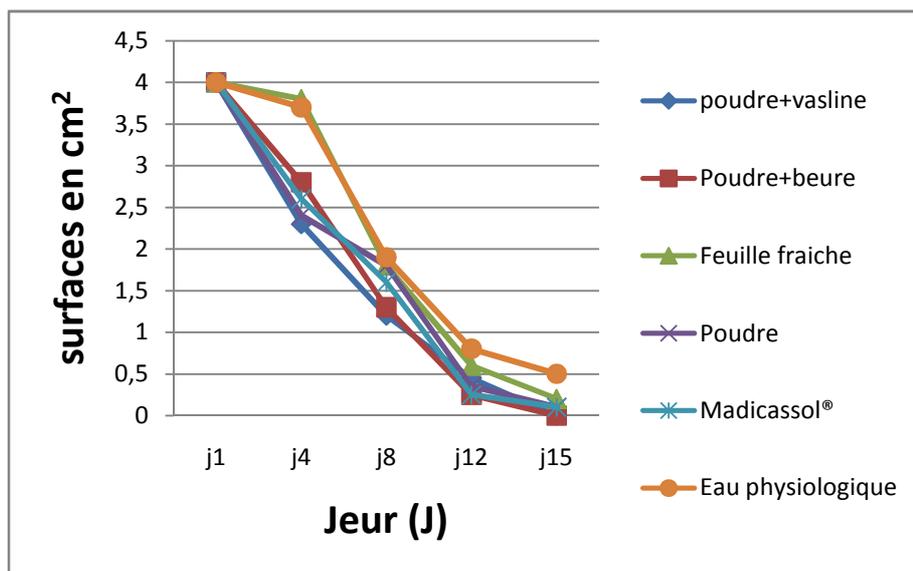


Figure 23: Graphe présente l'évolution des plaies profondes.

Selon la figure 23 nous avons constaté que la plaie profonde des lots traités par les deux pommades (poudre+vaseline et poudre+beurre naturelle) engendre une cicatrisation rapide, notamment entre le 4^{ème} et 12^{ème} jour du traitement .En effet une cicatrisation totale a été enregistrée le 15^{ème} jour du traitement. Par contre les feuilles fraîches, la poudre et les deux témoins prennent un peu de temps pour la disparition total de la plaie.

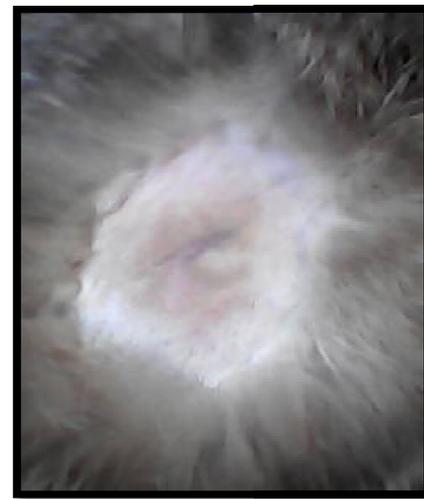
1^{er} jour4^{ème} jour8^{ème} jour10^{ème} jour

Figure 24: Evaluation de l'activité cicatrisante du traitement (poudre +vaseline) sur la plaie superficielle provoquée chez les lapins.



1^{er} jour



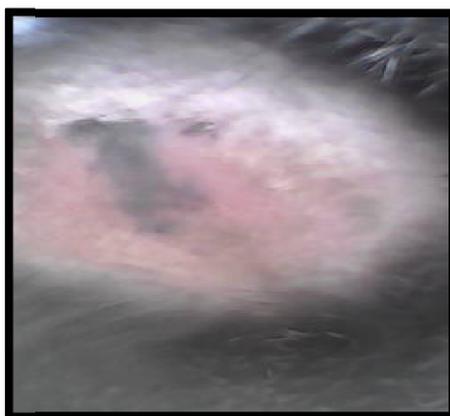
4^{eme} jour



8^{eme} jour



12^{eme} jour



15^{eme} jour

Figure 25: Evaluation de l'activité cicatrisante du traitement (poudre +vaseline) sur la plaie profonde provoquée chez les lapins.

▪ Discussion

Notre étude basée sur l'évaluation de l'activité cicatrisante testée sur des lapins auxquels nous avons provoqué deux types de plaies (superficielle et profonde).

Les résultats obtenus montrent que le traitement des lapins par des produits à base du *Cytisus triflorus* a permis de souligner une activité cicatrisante remarquable et comparable à ceux trouvés par un produit de référence Madicassol®.

D'après l'étude ethnobotanique effectuée, 41% de la population ont confirmé l'effet cicatrisant des feuilles de *Cytisus triflorus* et son usage courant sur les différents problèmes de peau. Ce qui est en accord avec les résultats que nous avons trouvés.

Selon (Isrin, 2001) les tanins et les phénols possédant un effet cicatrisant, puisque notre plante contient les tanins, cela peut expliquer l'activité cicatrisante de *Cytisus triflorus*.

Conclusion

Au terme de ce travail qui a porté en une première étape sur l'étude ethnobotanique au niveau de la région El Hammdania, dont l'objectif est de connaître l'utilisation traditionnelle du cytise à trois fleurs (*Cytisus triflorus* l'Hér.) .Nous avons constaté que la plante est très connue au niveau de la région d'El Hammdania.

La population de la région d'El Hammdania utilise cette plante pour traiter certaines maladies telles que l'ulcère gastrique, le rhumatisme et pour la cicatrisation des plaies et des brûlures.

La 2^{ème} étape de notre travail a concerné l'extraction des alcaloïdes quinolizidiniques, et les tests phytochimiques réalisés sur la poudre de la plante révèlent la présence des différents métabolites secondaires tels que : Tanins, Flavonoïdes, Alcaloïdes, Coumarines, et Leuco anthocyanes.

En ce qui concerne l'étude du pouvoir antimicrobien du *Cytisus triflorus* l'Hér., nous avons utilisé deux extraits de cette plante, l'infusé et les alcaloïdes quinolizidiniques, La méthode de diffusion sur gélose a montré que les alcaloïdes quinolizidiniques possèdent un pouvoir inhibiteur plus que l'infusé vis à vis des deux bactéries Gram⁺ (*Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*). Notons que les bactéries Gram⁻ (*E. coli*, *Salmonella Typhi*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae*). *Le penicillium sp*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus terreus*, *Candida albicans* sont résistantes pour les deux extraits de la plante.

L'activité cicatrisante du *Cytisus triflorus* l'Hér, est remarquable, en effet une cicatrisation totale des plaies provoquées et comparable a celle obtenu par le traitement de référence a été obtenue sur tous les lapins testés.

En perspective, nous pouvons suggérer qu'il serait important de poursuivre les travaux concernant cette plante pour une éventuelle élaboration d'un médicament à base de cette plante qui s'est avérée très efficace vis-à-vis du phénomène de la cicatrisation.

Références bibliographiques

- **Abbas L. et Redouane N., 2007.** Etude préliminaire de l'activité insecticide des alcaloïdes du Cytise à trois fleurs (*Cytisus triflorus*) et de la bactérie (*Bacillus thuringiensis*) vis-à-vis du pèlerin (*Schistocerca gregaria*). Mém. Ing. Fac. scie UMBB.
- **Ahour, 2008.** Contribution à l'étude ethnobotanique dans la région d'El Hamdania et caractérisation chimique de la mélisse (*mélissa officinalice*) et évidence de son effet sidatif. Thèse d'Ingénieur en biologie
- **Ait- Kaci K, 2001.** Contribution à l'étude chimique-chimio-taxonomique et biologique d'une légumineuse d'Azazga (*Cytisus triflorus*). Thèse Magister, ENS, Kouba.
- **APG II. 2003 .** An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II Bot .J. Linnean Soc. 141, 399-436.
- **Athamena S. (2009).** Etude quantitative des flavonoïdes des graines des *Cuminum cyminum* et les feuilles de *Rosmarinus officinalis* et l'évaluation des activités biologiques. Thèse en vue de l'obtention du diplôme de Magister en Biologie, Université El Hadj Lakhdar, Batna. 88p.
- **Audigie C., Figarella J., Zonszain F. 1978.** Manipulation d'analyse biochimique. Ed .Doin, Paris.
- **Axel G., Seguin E., Paris M. et Orecchiome A.M. 2001.** Le préparateur en pharmacie, Ed Tec & Doc. Paris.
- **Baba Aissa F ., 1999 .** Encyclopidie des plantes utiles ,(flore d'Algérie et du Maghreb) Rouiba Alger imprimeur, 460p
- **Battandier .R. et Trabut F . 1952:** Flore de l'Algerie et de la Tunisie .Ed ,Imprimen.
- **Barnes .J. Anderson.L-A, Phillipson .J-D, Herbal Medicines. (2007).** Pharmaceutical press (Ph.P) ,Third edition ,London .Chicago USA, 721 ,16-576.
- **Bayer. E. et al 2005.** Guide de la flore méditerranéenne, caractéristique, habitat, répartition et particularité de 536 espèces, Ed. Delachaux et Niestlé. SA. Paris.
- **Benhamza f , 2008.** L'effet biologique de la petite centaurée (*Erythraea centaurium L.*). Thèse d'état en science vétérinaire.pdf
- **Beniston W.S, 1984,** Fleur d'Algérie .Alger .Entreprise National du livre.

Références bibliographiques

- **Boudiba S, 2008** : Contribution à l'étude ethnobotanique de plantes médicinales du Parc National de Gouraya (W.de Béjaia),étude phytochimique et pharmacologique du chevrefeuille « *Lonicera implexa* L. »
- **Bouhassan A ., Sadiki M.et Tivoli B.(2007)**. Effects of temperature and inoculum concentration on expression of the components of partial resistance of *foba bean* to *Botrytis fabae* Sard. *Acta Botanica Gallica* ,**154**(1),53-62.
- **Bruneton,J (1993)**. Pharmacognosie phytochimie,plante médicinales. 2^{ème} Ed.Tec & Doc,Paris.
- **Bruneton J L. ,1999**. Pharmacognosie, photochimies, plantes médicinales .3^{ème} Ed. Tec & Doc, Paris.
- **Bruneton J., 2007**.Plantes toxiques .Ed. Tec & Doc, Paris.
- **Beniston N.T. et Beniston W.S.(1984)** . Fleurs d'Algérie .Ed. Entreprise nationale du livre
- **Bonnemaison J, 1997**, les fondaments géographique d'une identité .Histoire et géosymbole Tanin 2.
- **Catier O.et Roux D. (2007)**. Botanique,pharmacognosie , phytothérapie . Ed .Wotters Kluwer.Paris
- **Chibili .S.2010**. Extraction et caractésation des alcaloïdes quinolizidinique de la *cytissus triflorus* l'Hérit et l'étude de leur activité antimicrobienne et antioxydants. Thèse de Magister en biologie Université de Boumerdas.
- **Codell G.A (2007)**. The alkaloids: Chemistry and biology. Academic Press.
- **De parcevaux s.et laurent huber L.2007**.Bioclimatologie : Concepts et applications. Ed. Quae
- **Debulgne G., 2007**. Larousse, 1974: p 255
- **Dowe J.Caballion P, 1996**.Taxonomie accont of Arecaceae in Vacatu.Australie, Orstom
- **Gherib.A,J .1988** .Travaux pratique de chimie thérapeutique
- **Girre .Loic. 1980**.Connaitre et reconnaitre les plante médicinales Ouest –France –Rennes.Espagne.
- **Guignard .J.C, 1996**. Biochimie Végétal Edition Masson.Paris.
- **Guignard J-L ,2004**. Botanique systématique moléculaire. Ed .MASSON, Paris.
- **Guignard J-L ,2000**. Botanique systématique moléculaire. Ed .MASSON, Paris

Références bibliographiques

- **Halimi A, 1980.** L'atlas Blidéen climat et étage végétaux. Éd OPU .Alger.
- **Iserin P, 2001.** Encyclopie des plantes médicinales (identification, préparation, soin).Ed. Larousse, Paris.
- **Jacques B, En collaboration avec Alain A.Costesec, 1998.** Dictionnaire de biologie, Ed De Boeck.
- **Jouad et Haloui M,Khioumi H et Eddouks M.,2001.** Ethnobotanical survery of medicinal plants used for the tratement of diabets cardiac and senal diseases in the North centre region of Marocco (Fez- Boulemane).
- **Judd W-S ,2001.** Botanique systématique. Ed Deboeck,Paris.
- **Khalfat L., 2008.** Etude de la variation saisonnière des alcaloïdes de (*cytissus triflorus*) et evaluation de leur effet compare à celui des bactéries (*Bacillus* sp) sur certain parameters de (*locusta migratoria*) Mém ., UMBB.
- **Lavery. S, 1999.petit** « guide du bien-être : aromathérapie ».cologne,k.
- **Lavery Lisgarten J.N., Coll M. , Portugal J., Wright C. W .et Aymami J .(2002)** .The antimalarial and cytotoxic drug cryptolepine intercalates into DN at cytosine –cytosine sites .Nature Structural biol., **9** ,57-60.
- **Maire, R, 1987.** La Flor de L'Afrique de Nord, Vol.XVI, Ed Lechevalier.Paris.
- **Michel Botineau (2000),** Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs.Eddiyion Tec & Doc Lavoisier
- **Morere J.et Pujol R.2003** .Dictionnaire raisonné de biologie, Edition Frasons-Roche.Paris.
- **Oyebola, O .1989 :** Proceedings of the traditionnel medecine fair ;Edition : Logos .P154-155
- **Okafor J-C., 1998.** Varietals delimitation ,Irving a gabonensis .Nat,bel ,221p
- **Paul Victor ,2010.** Dictionnaire des plantes médicinales, Ed Konet Velag Gmbh
- **Paul schewenbrey et Ferdinand Paris ,2010.** Guide des plantes médicinales, Analyse, description et utilisation de 400 plantes. Ed Delachaux et Niestlé
- **Quezel .P et Santa, S.1962.** Nouvelle Flor de l'Algérie et des régions désertiques méridionales .Tome I. Ed CNPS. Paris.
- **Rameau et al.1989.** Flor forestière française, Guide écologique illustré, Institut pour le développement forestier.

Références bibliographiques

- **Sofowara M, 1996** : Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique ; Edition Karthaba .P369
- **Scalpert A.1991**.Antimicrobial properties of tannins.Phytochemistry, 30,3875-3883.
- **Spichiger R.E., Savolainen V.V., Figeat M. et Jeanmonod D.(2004)**.Botanique systématique des plantes à fleurs :Une approche phylogénétique nouvelle des Angiospermes des régions tempérées et tropicales .3^{ème} Ed : Presses polytechniques et Universitaires Romondes ,Lausanne.
- **Shepherd,G and Okafor (J-C)**,1991.Cameronforest management and regeration project Acadimic press 53,131
- **Thurzouva L. ;Sadier D. ;Devroye C. ;Symoens Met Fasbender B.,1978** :les plantes santé qui poussent autour de nous.Ed Elsevier Sequoia.Bruxelles,286p.
- **Tabtab N., 2001.Extraction** et identification des alcaloïdes quinolizidiniques chez *Genista kabylica (Fabaceae)*.Mém. USTHB.
- **Vercaurtern.J.2010**. Plan de cours de pharmacognosie, formation commune de base. Ed 2010.pdf
- **Walter .A. Lebio .V. 2003** :Jardin d'océane.Paris .IRD.Edition .
- **Wink M.1984**.Chemical defense of the Leguminosae.Are quinolizidine alkaloids parts of the antimicrobial defense system of lupins, Zeitschrift fur Naturforschung,C:Journal of Biosciences,39c,548-552.
- **Wippich C.et WINK M.1985**.Biological properties of alkaloids: Influence of quinolizidines alkaloids and gramine on the germination and development of powdery mildew,Erysiphe graminis f.sp.hordei.Experientia,41,1477-1479
- **Walter A- Lebio V ,2003**. Jardin d'Océanie, Paris. IRD édition
- **Zad Ourkab .S, Boulesname .R, 2009**. Contribution à étude ethnobotanique, phytochimique et activité hypoglycémiant du *Marrubium vulgare* L.

Remerciements

*Au terme de ce travail, nous remercions Dieu qui nous a
donné le courage et la volonté pour
mener à bien ce mémoire de fin d'étude.*

Nous remercions :

Notre Promotrice, Mme Benassel. N. pour ces précieux conseils

Et sa totale disponibilité,

*Son aide et son encouragement car c'est grâce à elle que
ce travail a été réalisé.*

*La présidente M^{me} Benmansour. N. Pour avoir honoré de
sa présence ce jury, en l'honneur de le présider.*

*M^{me} Cherif. H et M^{me} Taka. L. a avoir dignement accepté
d'évaluer ce travail.*

Nous tenons aussi à remercier M^{me} Metidji. H, et M^r Boutoumi

Qui nous ont aidés à faire l'extraction des Alcaloïdes.

Nos vifs remerciements vont aussi au personnel du groupe

Antibiotical de

M^{me} Lia, laboratoire physico-chimique, et surtout M^{me} Boukhatm R.

Pour son aide et sa gentillesse.

Et nous remercions aussi les membres du Parc National de Chréa

« Secteur El Hammdania »

M^{me} Kharoufi R pour sa bonne collaboration

En fin nous voudrions remercier tout ceux qui nous avons aidés de près ou

de loin de l'élaboration et la finalisation de ce travail.

A tout les enseignements du département de biologie de l'université de Blida

Sans oublier notre chef de département



Dédicaces

C'est avec une énorme joie et un infini plaisir, que je dédie ce modeste travail

Aux deux plus chères personnes de ma vie pour leur soutien, leurs

Encouragement, leur

Affection et leur judicieux conseils qui m'ont soutenu tout au long de mes

Années D'instruction mes parents que Dieu les garde pour moi.

A mes chers frères Amine et Samir

A mes 2 sœurs A ma et Nada.

A mon oncle Ahmed et sa femme (C'est à que j'ai été perdu cette année

Que Dieu les accueille dans son vaste paradis

A ma grand mère Hatoula grand père Rabah et mes tantes Djamila,

Yamina, Fatima et Fouzia, Hadjira

A mes très chères copines : Nasra, Fath elzhar, Samia, Fatima, Hanane, Lamia,

Salim, Feriel, Zinab Faiza et sa petite fille Maria

A tous les petits enfants de ma grande famille, Rommaïssa, Amina, Meriem

Aïcha, Ali, Ahmed, Khalil

Sans oublier mes chères amies : Meriem, Radia, Khadija, Naziha,

En fin, à tous ceux que j'aime et tous ceux qui n'aiment

Keltoum





Dédicaces

C'est avec une énorme joie et un infini plaisir, que je dédie ce modeste travail

Aux deux plus chères personnes de ma vie pour leur soutien, leurs

Encouragement, leur

Affection et leur judicieux conseil qui m'ont soutenu tout au long de mes

Années D'instruction mes parents que Dieu les garde pour moi.

A mon cher et unique frère Zade

A mes 3 sœurs Athlet, Saïda, Radia.

A mes deux grand mères Aïcha et Yassin et mes tantes Fatma Zohra, Fatima,

Karima, mes oncles : Abd El Kader et Mohamed

A mes très chères copines Lounis, Khadija, Soumia, Amina, Dahlia,

Djazi et Umet et leurs nouveaux né Anes, Hanifa,

Leïla, Fatima.

A mes belles filles de toute ma grande famille, Maram, Bouchra, Amira,

Nour El Iman, Maroua, Amina, Aya, Karouma.

Sans oublier mes chères amies : Halima, Soade, Newel, Sabiha, Naima

En fin, à tous ceux que j'aime et tous ceux qui n'aiment

Nesrine



Liste des figures

Figure1 : <i>cytissus triflorus</i> L'Hér.....	6
Figure 2 : les feuilles de <i>cytissus triflorus</i> L'Hér.....	8
Figure 3 : Les fleurs du <i>Cytissus triflorus</i> L'Hér.....	9
Figure 4 : Les fruits de <i>Cytissus triflorus</i> L'Hér.....	9
Figure 5 : structure chimique d'un noyau quinolizidiniques.....	12
Figure6 : Schéma représente synthèse de la spartéine à partir de la lysine.....	12
Figure 7 : carte représente le lieu de récolte de la plante.....	16
Figure 8 : Les lapins testés.....	17
Figure 9 : Protocole d'extraction des alcaloïdes totaux en milieu alcalin.....	22
Figure 10 : Prélèvement de la souche mère (A) et ensemencement sur boîtes de pétrie contenu le milieu de culture (B).....	25
Figure 11 : Dépôt des disques imprégnés de l'infusé (C) et des alcaloïdes (D) à la surface d'une boîte ensemencée.....	25
Figure 12 : Réalisation de la plaie superficielle.....	27
Figure 13 : Réalisation de la plaie profonde.....	28
Figure 14 : Fréquence de connaissance de la plante selon l'âge.....	29
Figure 15 : Fréquence de connaissance de la plante selon le niveau intellectuel et le Sexe d'appartenance.....	30
Figure16 : Domaine et partie utilisée de la plante.....	30
Figure 17 : Fréquence d'utilisation du cytise pour différentes maladies et mode de préparation.....	31
Figure 18 : Fréquence d'utilisation personnelle et efficacité de la plante.....	32
Figure19 : Aspect des cultures et zones d'inhibition en présence l'infusé.....	39
Figure20 Aspect des cultures et zones d'inhibition en présence des alcaloïdes Quinolizidiniques de <i>cytissus triflorus</i> l'Hér.....	40
Figure 21 : Aspect des cultures et zones d'inhibition en présence des alcaloïdes et l'infusé de <i>cytissus triflorus</i> l'Hér.....	43
Figure22 : Graphe représente l'évolution de l'activité cicatrisante des plaies profonde en fonction de temps.....	44
Figure23 : Evolution de l'activité cicatrisante du traitement (poudre +vaseline) sur la plaie superficielle provoquée chez les lapins.....	45
Figure 24 : Evolution de l'activité cicatrisante du traitement (poudre +vaseline) sur la plaie profonde provoquée chez les lapins.....	46

Liste des tableaux

Tableau I : les souches microbiennes et leur référence.....	18
Tableau II : la distribution des lapins et les produits testé.....	26
Tableau III : la quantité des produits testé pour les deux plaies.....	28
Tableau IV : les métabolites secondaires mise en évidence par le teste phytochimique du <i>Cytisus triflorus</i> l'Hér.....	35
Tableau V : les Caractères organoleptiques des alcaloïdes de cytise trois fleurs.....	36
Tableau VI : Les zones d'inhibition des cultures bactérienne en présence de l'infusé de <i>Cytisus triflorus</i>	37
Tableau VII : Les zones d'inhibition d'alcaloïdes de <i>Cytisus triflorus</i> Pour les bactéries	38
Tableau VIII : Absence des zones d'inhibition des cultures bactérienne d'alcaloïdes et l'infusé de <i>Cytisus triflorus</i> l'Hérit pour les champignons.....	42
Tableau N° IX : Longueurs des plaies superficielles chez les lapins.....	44
Tableau N°X : Moyennes des surfaces des plaies profondes chez les lapins.....	45

Glossaire

Alcaloïdifères : se sont de plante riche en alcaloïdes

Cicatrisation : est un phénomène qui débute par la formation d'un tissu fibreux, qui remplace une perte de substance (lorsque une blessure par exemple). (Larousse médicale, 2005)

Corolle : ensemble des pétales d'une fleur formant le second verticille

Hémostatique Arrête ou réduit les saignements

L'ulcère gastrique : L'ulcère gastro-duodéal (ou ulcère peptique) est une lésion ; située sur la muqueuse digestive qui est au contact avec les sécrétions acides gastriques, localisée à l'estomac ou au duodénum. Ce même type d'ulcère peut être retrouvé sur la muqueuse de l'œsophage. (Larousse médicale, 2005)

Ocytocique : est un médicament possèdent la capacité de provoqué ou stimulé les contractions de l'utérus au moment de l'accouchement

Salifiés : dans les se trouve sous forme des sels

Stimulant circulatoire : Améliore localement la circulation sanguine notamment dans les extrémités des membres (Larousse, 2001).

Tératogène : c'est un agent qui provoque des anomalies du développement embryonnaire. (Racques, 1998)

PDF Creator
www.nuance.com

Résumé

Notre travail a porté sur une plante médicinale que nous avons cueillie à El Hammdania (Médéa). Cette plante est connue et utilisée en médecine traditionnelle Algérienne. Il s'agit du cytise à trois fleurs (*Cytisus triflorus* L'Hér.), c'est un arbuste appartenant à la famille des Fabaceae.

Dans ce travail nous avons pu dévoiler certains de ces vertus à travers : Etude ethnobotanique, le screening phytochimique, l'effet antimicrobien et les tests sur l'activité cicatrisante.

Les résultats de l'étude ethnobotanique montrent que toute la population interrogée (114 personnes) à El Hammdania connaît et utilise la plante pour traiter les différentes maladies telles que les maux de l'estomac et pour la cicatrisation des plaies.

Le screening chimique du *Cytisus triflorus* ; révèle la présence de plusieurs catégories de métabolites secondaires à des teneurs différentes dont les alcaloïdes sont majoritaires.

L'extraction des alcaloïdes dans le milieu basique montre que le rendement est très élevé dans les feuilles du cytise à trois fleurs, ces alcaloïdes ont été testés sur des souches bactériennes et fongiques et sont comparés avec l'infusé de la plante. Ce test de l'activité antimicrobienne montre que les alcaloïdes extraits manifestent une activité antibactérienne sur quelque souche bactérienne et n'ont aucuns effets sur les champignons.

L'étude de l'activité cicatrisante, montre que la poudre mélangée à du beurre naturel ou à la vaseline engendre une cicatrisation rapide et manifeste une activité cicatrisante équivalente à celle du produit de référence (Madicassol®).

Mots clés : *Cytisus triflorus*, étude ethnobotanique, screening chimique, alcaloïde, effet antimicrobien, activité cicatrisante.

Our work has focused on a medicinal plant that we gathered in El Hammdania (Médéa). This plant is known and used in Traditional medicine Algeria. This is the three laburnum flowers (*Cytisus triflorus* Hér.) Is a shrub belonging to the family Fabaceae.

Like any plant, *Cytisus triflorus* l'Hér synthesizes many secondary metabolisms which may exhibit significant medicinal properties. In this work we try to reveal some of these virtues through: ethnobotanical study, the phytochemical screening, the antimicrobial effect and testing of the healing activity.

The results of the ethnobotanical study show that almost all the surveyed population in El Hammdania knows and uses the plant to treat various diseases such as stomach pain and wound healing.

The chemical screening of *Cytisus triflorus* reveals the presence of several classes of secondary metabolites in different tenures whose alkaloids predominate.

The extraction of alkaloids in the basic medium shows that the yield is very high in the leaves of three laburnum flowers; these alkaloids were tested for bacterial and fungal strains and compared with the in fused plant.

This test shows that the antimicrobial activity alkaloids exhibit antimicrobial activity of some bacteria strains and no effects on fungi.

The study of the healing activity shows that mixed with natural but terror petroleum jelly powder produces rapid healing and exhibits Equivalent Madicassol® healing activity.

Key words: *Cytisus triflorus*, ethnobotanical study, chemical screening, alkaloid, Antimicrobial effect, healing activity.

ملخص

عملنا هذا يخص نبتة طبية و التي قمنا بقطفها من منطقة الحمداينة (المدية) هذه النبتة معروفة و تستعمل في مجال الطب التقليدي الجزائري وهي التيلوقيت *Cytisus triflorus*. وهي شجيرة تنتمي إلى عائلة البقوليات (Fabaceae) .

مثل كل النباتات. التيلوقيت تصنع الكثير من التفاعلات الثانوية التي يمكن أن تظهر خصائص طبية مهمة .

في هذا العمل نحاول أن نكشف عن بعض هذه الخصائص من خلال التحريات و الإحصاءات حول هذه النبتة, تحاليل كيميائية و فحوصات ضد مجهريه و ضد الندب .

النتائج تحريات و الإحصاءات ماهية النبتة تبرهن إن كل سكان الحمداينة يعرفون و يستعملون هذه النبتة لمعالجة مختلف الأمراض كالأمعاء و الندب الجروح.

التحليل الكيميائي *Cytisus triflorus* ل'Hér بين وجود العديد من التفاعلات الثانوية و بكميات مختلفة بحيث الالكالويد موجود بكثرة .

استخلاص الالكالويد في الوسط القاعدي اظهر مردود هذا الأخير موجود بكثرة في الأوراق. هذا الالكالويد استعمل في فحص ضد المهجريه وقارناه مع المستخلص المعه. هذا الفحص بين ان الالكالويد له نشاط ضد بعض الجراثيم وليس له أي نشاط ضد الفطريات.

الفحص ضد الندب بين إن مسحوق الأوراق المزوج مع الزبدة الطبيعية والفازلين له تأثير سريع و واضح على اختفاء الندب و مشابه مع الدواء Madicassol

الكلمات المفتاحية :

Cytisus triflorus. إحصاء ماهية النبتة. التحاليل الكيميائية. الالكالويد ضد المهجريه و ضد الندب.

Sommaire

Introduction.....	1
-------------------	---

Chapitre I : Données bibliographiques

I.1. La phytothérapie	3
I.1.1. Définition.....	3
I.1.2. Avantages de la phytothérapie.....	3
I.2. Les plantes médicinales	3
I.2.1. Définition.....	3
I.2.2. Les principales substances actives de la plante	4
I.3. L'ethnobotanique	5
I.3.1. Définition	5
I.3.2. Intérêt de l'ethnobotanique	5
I.4. Généralités sur l'espèce <i>Cytisus triflorus</i> l'Her.....	6
I.4.1. Etymologie	6
I.4.2. Classification.....	7
I.4.3. Nomenclature et synonymes.....	7
I.4.4. Description morphologique.....	8
I.4.4.1. L'appareil végétatif.....	8
I.4.4.2. L'appareil reproducteur.....	8
I.4.5. Répartition géographique.....	9
I.4.6. Usages traditionnels en Algérie.....	10
I.5. Les alcaloïdes.....	10
I.5.1. Définition.....	10
I.5.2. Classification	10
I.5.3. Etat naturel et répartition	11
I.5.4. Les alcaloïdes quinolizidiniques	11
I.5.5. Activité biologique des alcaloïdes quinolizidiniques	13
I.5.6. Effet toxicologique des alcaloïdes quinolizidiniques	13
I.5.7. Propriétés physico-chimiques.....	13

Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1. Matériel	15
II.1.1. Matériel biologique.....	15
II.1.1.1. Matériel végétal	15
II.1.1.1.1. Description de la zone d'étude.....	15
II.1.1.1.2. Caractéristiques climatiques	16
II.1.1.1.3. La flore	16
II.1.1.2. Matériel animal	17

II.1.1.3. Les microorganismes	17
II.1.2. Matériel non biologique	18
II.2. Méthodes	18
II.2.1. Etude ethnobotanique	18
II.2.2. Etude phytochimique	19
II.2.2.1. Détermination du taux d'humidité	19
II.2.2.2. Le Screening chimique.....	20
II.2.3. Extraction en milieu alcalin des alcaloïdes totaux (AT).....	21
II.2.3.1. Protocole d'extraction des alcaloïdes totaux en milieu alcalin.....	21
II.2.3.2. Calcul du rendement	23
II.2.4. Evaluation du pouvoir antimicrobien	23
II.2.4.1. Protocole expérimental	23
II.2.4.2. Préparation des suspensions microbiennes	24
II.2.5. Etude de l'activité cicatrisante	26
II.2.5.1. Mode opératoire	26
II.2.5.2. Préparation de l'animal	27
II.2.5.3. L'application des traitements	28

Chapitre III : Résultat et Discussion

III.1. Résultats de l'enquête ethnobotanique	29
III.1.1. Fréquence d'utilisation du cytise à trois fleurs selon le profil des enquêtés (1 ^{ère} catégorie).....	29
III.1.2. Résultats de l'enquête ethnobotanique concernant la 2 ^{ème} catégorie (les herboristes)	32
III.1.3. Résultats de l'enquête ethnobotanique pour les phytothérapeutes et les tradipraticiennes.....	33
III.2. Résultat du test phytochimique.....	34
III.2.1. Détermination de la teneur en eau.....	34
III.2.2. Le Screening chimique.....	35
III.3. Résultats de l'extraction des alcaloïdes	36
III.3.1. Caractères organoleptiques de l'extrait des alcaloïdes.....	36
III.3.2. Rendement en alcaloïdes totaux	36
III.4. Résultats de l'activité antimicrobienne des alcaloïdes de <i>cytissus triflorus</i>	37
III.4.1. Activité antibactérienne.....	37
III.4.2. Activité antifongique	41
III.5. Résultats de l'activité cicatrisante du <i>cytissus triflorus</i> l'Hér	43
Conclusion.....	49
Références bibliographiques	
Annexe	

Introduction

A travers des siècles, l'homme a su accumuler des connaissances d'utilisation des plantes médicinales. De nos jours, le recours aux traitements à base des plantes médicinales connaît un énorme regain d'intérêt du fait que l'efficacité de certains médicaments tels que les antibiotiques (prescrits généralement comme solution inévitable aux infections graves) décroît car les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistent de plus en plus (**Iserin, 2001**).

Beaucoup de gens font appel aussi à la phytothérapie, car elle propose des remèdes naturels et bien acceptés par l'organisme et souvent associés aux traitements classiques (médicaments). Cet engouement n'a connu un autre élan qu'à partir du XVIII^e siècle après la réussite de l'extraction et l'isolement des principes actifs, essentiellement des métabolites secondaires, devenant par la suite une capitale important en représentant près de 33% de nos médicaments essentiels (**Iserin, 2001**).

Actuellement, de multiples études *in vivo* et *in vitro* sont réalisées à travers le monde dont le but de chercher de nouveaux constituants naturels ayant certaines activités biologiques (anti-cancérigènes et antidiabétiques) et d'estimer leurs toxicités.

L'Algérie possède une richesse floristique considérable, en particulier celle à intérêt médicinal. Ce potentiel comporte plusieurs espèces présentant divers intérêts en recherche scientifique dont plusieurs ont fait l'objet d'études phytochimiques (Ait Kaci, 2001). Les utilisations traditionnelles de ces plantes médicinales diffèrent d'une région à l'autre.

Dans le but de contribuer à la valorisation de ces ressources naturelles et de leurs utilisations en médecine traditionnelle Algérienne, nous avons choisi une plante de la famille des Fabaceae, le cytise à trois fleurs (*Cytisus triflorus* L'Hér). C'est une espèce appartenant à la strate arbustive, poussant spontanément dans la montagne d'El Hammdania, où elle est très connue et utilisée comme remède traditionnel par les habitants de cette région, surtout pour soulager les maux gastriques et pour la cicatrisation des plaies.

Introduction

Aussi notre objectif en réalisant ce travail, est de vérifier certaines vertues de cette plante médicinale par des méthodes scientifiques. Pour cela nous avons procédé selon les étapes suivantes :

- Etude ethnobotanique concernant le *Cytisus triflorus* dans la région d'El Hammdania.
- Test phytochimique.
- Extraction des alcaloïdes quinolizidiniques.
- Evaluation du pouvoir antimicrobien des deux extraits de la plante (l'infusé et les alcaloïdes quinolizidiniques).
- Etude in vivo de l'activité cicatrisante du *Cytisus triflorus* sur des lapins.

PDF Create! 4 Trial
www.nuance.com

I.1. La phytothérapie

I.1.1. Définition

La phytothérapie désigne l'utilisation des plantes médicinales à des fins thérapeutiques (du grec phyton qui signifie plante, et therapiea ; traitement).

Elle propose des remèdes naturels, bien acceptés par l'organisme. Elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en occident, spécialement dans le traitement des maladies chroniques comme l'asthme ou l'arthrite. De plus, les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs, qui se tournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme. On estime que 10 à 20% des hospitalisations sont dues aux effets secondaires des médicaments chimiques (**Lavery, 1999**).

I.1.2. Avantages de la phytothérapie

Malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre de multiples avantages :

- Les plantes médicinales présentant un rôle important dans la prévention et le traitement des maladies, lors qu'elles sont utilisées avec précaution.
- A l'exception de ces cent dernières années, les hommes n'ont eu que les plantes pour se soigner, qu'il s'agisse de maladies bénignes, rhume ou toux, ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria.
- Aujourd'hui, les traitements à base de plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments contre les bactéries a diminué et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistent de plus en plus (**in Benhamza ,2008**).

I.2. Les plantes médicinales

I.2.1. Définition

Une plante est dite médicinale lorsqu'au moins une de ses parties possède des propriétés médicinales assurées par de nombreux métabolites secondaires appelés « principes actifs ». Ces principes actifs ont des effets physiologiques importants pour l'homme et les animaux.

Malgré les avantages des plantes médicinales, ces dernières peuvent présenter un danger pour la santé humaine : selon la dose administrée, ils peuvent se manifester différemment : guérison ou toxicité voire même la mort subite. (**Guignard ,1996**).

I.2.2. Les principales substances actives de la plante

➤ **Les alcaloïdes**

Les alcaloïdes sont souvent amers. Ce sont des composés azotés, basique, pharmaceutique ment très actifs. D'origine naturelle et de distribution restreinte, les alcaloïdes existent sous la forme de sels solubles (citrate, malate et benzoate) ou sous forme d'une combinaison avec les tanins (**Bruneton, 1999**).

Les alcaloïdes sont des métabolismes secondaires qui sont synthétisés à partir des plantes supérieurs pour la protection contre le stress et les herbivores.

➤ **Les anthocyanes**

Les anthocyanes sont des pigments végétaux hydrosolubles de couleur rouge, violette ou bleu. Ils sont caractérisés par une génine comportant un noyau flavylum (2phénylbenzopyroxonium). S'accumulent dans les vacuoles des cellules les plus externes (épiderme et hypoderme), leur rôle est attractif pour les insectes (**Bruneton, 1993**).

➤ **Les tanins**

Sont des composants polyphénoliques qui contractent les tissus en liant les protéines et en les précipitant, d'où leur emploi pour « tanner » les peaux (**Iserin, 2001**). La combinaison entre les tanins et les protéines se fait par l'intermédiaire des liaisons hydrogènes entre les groupements OH et NH₂ des protéines et les OH phénoliques des tanins (**Guignard, 1996**).

➤ **Les flavonoïdes**

Les flavonoïdes sont des combinaisons naturelles de phénol avec des noyaux aromatique. En fonction de leur structure et du degré d'oxydation, ils se divisent en flavonols, flavones et flavonones (**Guignard, 2000**).

Les flavonoïdes sont des pigments quasiment universels des végétaux. Presque toujours hydrosolubles, ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Ils sont également présentes dans la cuticule épidermiques des feuilles, assurant la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement ultraviolet (**Bruneton, 1999**).

➤ Les glucosides

Un glucoside est constitué de deux composantes : une partie aglycone et une partie glucidique. La partie aglycone forme les différents types de métabolites secondaires tels que les coumarines, flavonoïdes, les glucosides jouent un grand rôle dans le stockage des réserves nutritives et la défense de la plante (**Barnes et al ., 2007**).

➤ Les saponosides

Appelé aussi les saponines, sont des hétérosides à génine stéroïdique ou triterpénique, très répandus dans le règne végétal, la plus part des saponosides présentent des propriétés hémolytique (**Iserin, 2001**).

➤ Les coumarines

Leur nom vient d « coumarou », le nom vernaculaire de la fève de tonka (*Coumrouna odorata*), dont elles ont été isolées pour la première fois.

Les coumarines sont très répandues chez les Dicotylédones *Fabaceae* , *Asteraceae*, notamment dans les racines et les écorces. (**Guignard, 1996**).

Selon les espèces, les coumarines présentent plusieurs activités : fluidification de sang et soin des affections cutanées. Ils sont considérés comme des vasodilatateurs coronariens (**Iserin, 2001**).

I.3. Ethnobotanique

I.3.1. Définition

L'ethnobotanique est l'étude de l'utilisation traditionnelle des plantes par l'Homme dans un cadre géographique donné (**Spichiger et al ., 2004**). Elle étudie toutes les relations que l'homme entretient avec les plantes (**Achour, 2008 ; Bonnemaïson, 1997**).

I.3.2. Intérêt de l'ethnobotanique

L'ethnobotanique est une discipline qui s'intéresse à :

✓ L'évaluation du savoir des populations locales et de leurs relations avec les plantes, elle fournit des éléments qui permettent de mieux comprendre comment les sociétés anciennes se sont insérées dans leur milieu naturel (**Okafor, 1998**).

- ✓ La culture, la récolte et l'utilisation possible et effective des plantes, ainsi que leurs rôles dans la vision du monde et la langue. **Bonnemaison, (1997) ; Walter et al., (2003)**
- ✓ L'ajout des compléments d'informations ethnobotaniques, comme les noms vernaculaires des plantes, les utilisations et les modes de préparations. **(Morere et Pujol, 2003).**
- ✓ L'élaboration d'une enquête concernant l'usage traditionnel des plantes dans une région, et la réalisation d'un herbier des plantes médicinales les plus utilisées traditionnellement.

I.4. Généralités sur l'espèce *Cytisus triflorus* L'Hér.

Le cytise à trois fleurs *Cytisus triflorus* L'Hér. (Figure1), appartient à la famille des Fabaceae (Papilionacées) qui constitue, à côté des Polygalaceae et Surianaceae, les principales familles de l'ordre des Fabales. Cette famille appelée également Légumineuse est subdivisée en trois sous-familles: Les Cesalpinoideae, les Mimosoideae et les Papilonoideae ces derniers regroupent le genre *cytissus* **(Judd, 2001 et Guignard, 2004).**

Le genre *cytissus* comprend plusieurs espèces généralement alcaloïdiques, dont cinq sont plus communes en Algérie ; *C. triflorus*, *C. arboreus*, *C. fontanesii*, *C. linifolius*, *C. purgans* **(Ait Kaci, 2001)**



Figure 1 : *Cytisus triflorus* L'Hér. (Original, 2013)

I.4.1. Etymologie

Le nom *Cytisus* dérive du latin, *Kytisos*, ancien nom de *Medicago arborea et triflorus* ; signifie à trois fleurs **(Beniston, 1984).**

I.4.2. Classification

L'espèce *Cytisus triflorus* est classée selon : **Botineau (2000)** et **APG II (2003)**

Règne : Eucaryotae

Sous règne : Plantae

Classe : Magnoliopsida

Sous classe : Rosidae

Ordre : Fabales

Famille : Fabaceae (Papilionaceae)

Sous famille : Papilonoïdeae

Genre : *Cytisus* L.

Espèce : *Cytisus triflorus* L'Hér.

I.4.3. Nomenclature et synonymes

L'espèce *Cytisus triflorus* L'Hér est couramment nommée : cytise à trois fleurs, genet à trois fleurs et cytise velu.

En Algérie, elle est connue sous le nom de Gikio, Bouharis (**Quezel et Santa ,1962**), Ilougui en Kabylie (**AIT KACI, 2001**) et Tilouguite, Ilougui (**Baba Aissa.2011**)

Selon **Maire (1987)** l'espèce *Cytisus triflorus* L'Hér., possède trois synonymes taxonomiques :

- *Cytisus villosus* Pourr.
- *Genista triflora* Rouyl.
- *Spartocytisus triflorus* Webb, et Berth.

I.4.4. Description morphologique

I.4.4.1. Appareil végétatif

➤ Le port

Selon **Rameau et al., (1989)**, le cytise à trois fleurs est un arbuste à port dressé, de 1 à 2 m de hauteur. Les rameaux sont alternes, longs et rigides.

➤ Les feuilles

Elles sont pétiolées, trifoliolées, à folioles velues elliptiques. La médiane de la feuille plus longue que les latérales **Rameau et al., (1989)**. Selon **Quezel et Santa (1962)**, les feuilles noircissent à la dessiccation, (Figure 2).



Figure 2 : les feuilles de *Cytisus triflorus* L'Hér. (Original, 2013)

I.4.4.2. Appareil reproducteur

➤ Les fleurs

Selon **Bayer et al., (2005)**, les fleurs sont pédonculées et de 5-10 mm de long. Elles sont regroupées à l'aisselle des feuilles supérieures (1 à 3 fleurs). Le calice est campanulé, la corolle est de couleur jaune veinée de brun, grande, glabre et dressée. Les pièces florales (ailes et carène) sont aussi longues que l'étendard selon **Rameau et al., (1989)** (Figure 3).

En Algérie, la période de floraison du cytise se déroule en Avril et Mai selon **Baba Aissa (1999)**.



Figure 3 : Les fleurs du *Cytisus triflorus* L'Hér (Original, 2013)

➤ Les fruits

C'est des gousses de 2 à 4 cm de long, et de 4 à 6 mm de large, à poils blancs feutrés (Bayer *et al.*, 2005. Paul *et al.*, 2010.). (Figure 4)



Figure 4 : Les fruits de *Cytisus triflorus* L'Hér (Original, 2013).

I.4.5. Répartition géographique

❖ Dans le monde

Cette espèce se répartit dans les régions méridionales d'Europe et en Afrique de Nord (Paul Victor., 2010. et Maire, 1987).

Le cytise à trois fleurs pousse dans les forêts humides (Quezel et Santa, 1962), dans les buissons, et sur sols acides selon Bayer *et al.*, (2005) et sur substrats siliceux et sols profondes et frais selon Rameau *et al.*, (1989).

❖ En Algérie

Le cytise à trois fleurs se trouve dans le Tell Algéro-Constantinois, en Oranie, à M'Sila et dans les monts de Tlemcen (**Quezel et Santa, 1962**).

I.4.6. Usages traditionnels en Algérie

Le cytise à trois fleurs, est beaucoup apprécié dans la région d'Azazga (Wilaya de Tizi Ouzou) pour ses diverses utilisations, notamment médicinales. Dans cette région, l'espèce est utilisée comme un cicatrisant et antifongique. Dans la région de Mefetah, Wilaya de Blida, elle est utilisée contre les maux d'estomac. A Tizi Ghnif (Wilaya de Tizi Ouzou), il est utilisé également comme plante hémostatique et entre dans la composition des teintures à cheveux (mélangée avec le Henné). (**Chebili, 2010**).

Le cytise à trois fleurs est aussi utilisé dans la région d'El Hammdania pour traiter l'ulcère gastrique.

I.5. Les alcaloïdes

I.5.1. Définition

Le terme d'alcaloïde a été introduit par W. MEISNER au début de XIXe 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. Se sont des composés azotés basiques d'origine naturelle et de distribution restreinte. Les alcaloïdes existent sous forme de sels solubles (citrate, malate, benzoate) ou en combinaison avec les tanins (**Bruneton, 1999**). Ils se rencontrent surtout chez les angiospermes, au niveau cellulaire où ils s'accumulent dans les vacuoles. De plus ils constituent la source la plus importante de nos médicaments (**Guignard, 2000**).

I.5.2. Classification

Sur le plan chimique, les alcaloïdes constituent un groupe très hétérogène possédant cependant quelques propriétés physicochimiques communes. Ils portent tous la terminaison « ine » (**Guignard, 1996**). Selon la structure, les alcaloïdes sont classés comme suite :

a) **Les protoalcaloïdes** : qui sont des amines simples, dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique.

b) **Les pseudoalcaloïdes** : présentent le plus souvent, toutes les caractérisations des alcaloïdes vrais mais ne sont pas des dérivés des acides aminés.

c) **Les alcaloïdes vrais** : Présentent un azote inclus dans un hétérocycle. On les classe selon la nature de leur cycle en alcaloïdes pyrrolizidinique, alcaloïdes indoliques, alcaloïdes isoquinoléique, alcaloïdes pyrrolidiniques, alcaloïdes imidazolique, alcaloïdes topologiques, alcaloïdes piperidiniques, alcaloïdes quinoléiques, alcaloïdes tropaniques, et en alcaloïdes quinolizidiniques. (Bruneton, 1999 et Cartier et Roux, 2007).

I.5.3. Etat naturel et répartition

A l'état naturel, les alcaloïdes sont généralement salifiés par des acides organiques (tartate, malate, acétate, quinate) ou combinés à des tanins (Guinard, 1996).

❖ Alcaloïdes de *Cytisus triflorus* L'Hér

Les constituants majeurs identifiés chez divers *Cytisus* sont des bases simples ou alcalines dérivant essentiellement du noyau de quinolizidine qui est un hétérocycle azoté bicyclique particulièrement fréquent dans les structures alcaloïdiques (Guinard, 1996)

I.5.4. Les alcaloïdes quinolizidiniques

Les alcaloïdes quinolizidiniques se trouvent dans les divers genres de la famille des fabaceae. Ce sont des hétérocycles azotés bicycliques, particulièrement fréquents dans les structures des alcaloïdes (Figure 5).

Il faut cependant distinguer les composés qui comportent ce motif structural comme élément d'un édifice complexe, c'est le cas des protoberbérines, de la plupart des alcaloïdes indoliques ou des solanidanes, et ceux dits « quinolizidine simple », qui sont issus de métabolismes de lysine.

Près de 200 alcaloïdes quinolizidiniques sont mis en évidence, certains possèdent des propriétés pharmaceutiques variées : la cytosine issue de *Cytisus labornum* est considérée comme un stimulant respiratoire et circulatoire, la spartéine étant le composé majoritaire de l'espèce *Cytisus scoparius* présente des activités antiarythmique, analeptique cardiaque, et ocytocique (Bruneton, 1999).

Le noyau quinolizidinique (simple) :

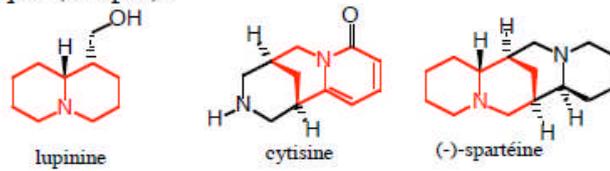


Figure 5 : structure chimique d'un noyau quinolizidinique

➤ Répartition dans la nature

Les alcaloïdes quinolizidiniques se trouvent dans la famille de Fabacée tels que les lupins, le cytise à trois fleurs et le genêt.

➤ Biosynthèse : Le précurseur des alcaloïdes quinolizidiniques est la lysine (figure 6).

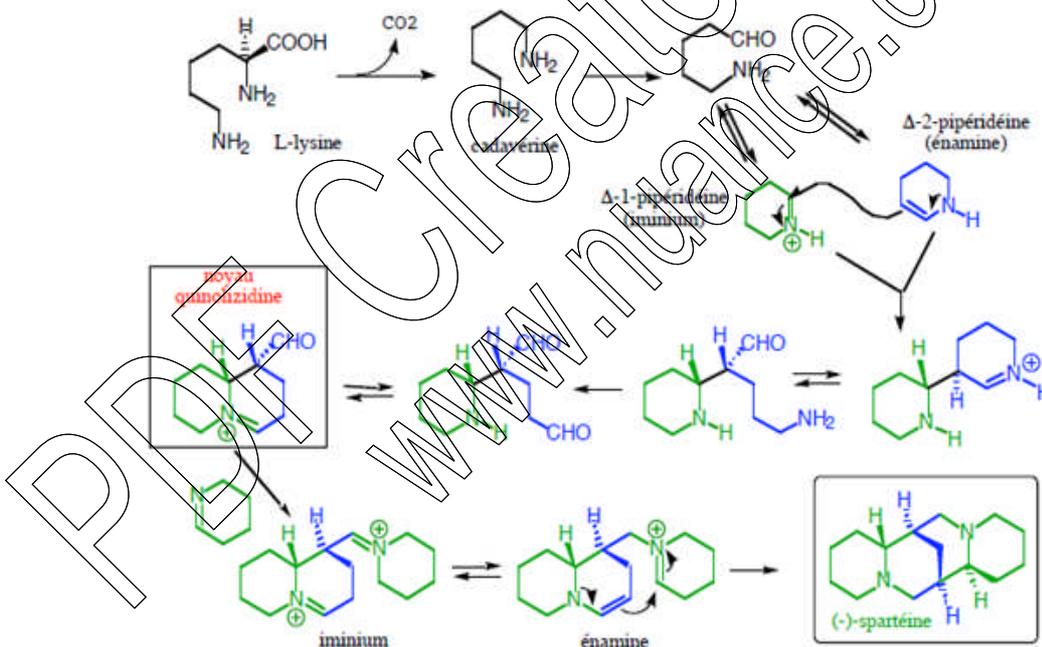


Figure 6 : Schéma présentant la synthèse de la sparteine à partir de la lysine.

(Vercaurteren.2010).

I.5.5. Activité biologique des alcaloïdes quinolizidiniques

L'activité biologique des alcaloïdes purs ou en mélange a été élucidée expérimentalement (**Kinghorn et Balandrin, 1984**). Une variété d'alcaloïde inhibe la fixation de la phénylalanine sur les ARNt. Une large gamme à un effet antibactérien et antifongique (**Wippich et Wink, 1985**). ces alcaloïdes ont un fort effet sur la germination des plantes comme les graines de laitue à de faible concentration.

L'importance des alcaloïdes dans la protection des plantes contre les maladies et les agressions des herbivores (mollusques, insectes, lapins et vaches...) a été aussi démontrée (**Chebili, 2010**).

I.5.6. Effet toxicologique des alcaloïdes quinolizidiniques

La toxicité de certaines plantes de la famille de Fabaceae est souvent liée à leur forte teneur en alcaloïdes quinolizidiniques, notamment la cytisine et l'anagyryne qui est responsable d'une activité tératogène chez le bovins qui les broutent (**Bruneton, 1999**).

D'après les travaux de (**Chibili, 2010**) et (**Ait-Kaki, 2001**) sur la toxicité du cytise à trois fleurs testée sur les souris, montre que les alcaloïdes quinolizidiniques de cette plante, aux doses (50mg/kg) (90mg/kg), ont provoqué des mortalités aléatoires. Ces mêmes doses injectées par voie intra péritonéale provoque des changements dans le comportement général : la mobilité des souris a diminué et avaient tendance à s'isoler et à se replier sur elles mêmes.

Selon (**Chibili, 2010**), la diminution des activités des sujets traités par une molécule toxique signifie l'altération du système neuromusculaire.

I.5.7. Propriétés physico-chimiques

Les alcaloïdes sont des composés de masse moléculaire variant de 100 g/mol à environ 900 g/mol. Beaucoup ont une saveur amère.

Les alcaloïdes non oxygénés sont le plus souvent liquides, volatils, entraînés par la vapeur d'eau (nicotine, spartéine) ils ont une odeur forte et de faible masse moléculaire. Les alcaloïdes oxygénés sont généralement solides et cristallisables (mais la pilocaprine et l'arécoline sont sous forme liquide à la température ambiante) et de masse moléculaire élevée (**Axel et al., 2001**).

Les sels cristallisés, généralement de bonne stabilité, constituent la forme commerciale habituelle de ces molécules. La basicité des alcaloïdes est très variable, cette propriété étant étroitement fonction de la disponibilité du double libre de l'azote. Il est intéressant de noter que cette propriété rend les alcaloïdes, à l'état de base et en solution, plus sensibles à l'oxygène, la lumière et la chaleur (**Bruneton, 1999**).

Enfin, on connaît des alcaloïdes, surtout d'origine tropicale (quinine), qui agissent comme antiparasitaires, d'une façon générale, les alcaloïdes sont amers et utilisés comme apéritifs. (**Paul, et Ferdinand, 1977**).

PDF Create! 4 Trial
www.nuance.com

Notre travail a été réalisé durant la période allant du début du mois d'avril jusqu'à la fin de Mai 2013.

- l'étude ethnobotanique a été réalisée dans la région d'El Hammdania.
- L'étude phytochimique, l'extraction des alcaloïdes, l'effet antimicrobien et l'effet cicatrisant ont été réalisés respectivement dans les laboratoires suivants : Soidal de Médéa, l'ENS de Couba, chimie organique de l'USDB, l'hôpital de Boufarik et la station vétérinaire de l'USDB.

II-1. Matériel

II-1.1. Matériel biologique

II-1.1.1. Matériel végétal

Le matériel qui a fait l'objet de notre étude, sont les feuilles du *Cytisus triflorus* l'Hér.

Nous avons récolté l'espèce au mois de février dans la région de Sidi Rabah du secteur d'El Hammdania (Wilaya de Médéa), à une altitude de 900 m.

L'identification d'espèce a été effectuée par l'herbier du département de botanique de l'ENSA (Ecole National de science d'Agronomie) et celui du Parc National de Chréa, secteur d'El Hammdania. Après la récolte, 1kg des feuilles sont mises à sécher à l'abri de la lumière, dans un endroit bien aéré pour éviter les moisissures et à température ambiante pour éviter la photo-oxydation des substances et, puis finement broyées au moulin électrique. La poudre obtenue est conservée dans un flacon en verre hermétiquement fermé.

II-1.1.1.1. Description de la zone d'étude

L'étude ethnobotanique a été effectuée au niveau du secteur El Hammdania (**Figure 7**), l'un des trois secteurs du parc National de Chréa qui fut créé en 1925 dans le but de protéger les ressources naturelles, favoriser le tourisme et développer les stations estivales (**Marc, 1930**).

Le secteur El Hammdania s'étend sur 3898 hectares, limité au Nord par Ain Romana, au Sud par Oued Djer, à l'Ouest par la route nationale N°1 et à l'Est par Djbel Djemaa.

Selon **Halimi, (1980)**, des études pédologiques montrent que ses sols sont composés dans leurs grandes parties par des substratums schisteux durs et très siliceux



Figure7: carte présentant le lieu de récolte de la plante *Cytisus triflorus* (Google earth)

Échelle: 1/ 50 000°

II-1.1.1.2. Caractéristiques climatiques

L'étage bioclimatique du secteur est sub-humide, il baigne dans un climat méditerranéen et se trouve sur la ligne de contact entre deux climats différents : celui du Nord est marqué par des amplitudes thermiques donc par un hiver frais, par contre le méridional est caractérisé par de rares précipitations, d'assez fortes amplitudes thermiques et par une humidité relative de l'air faible (Halimi, 1980).

Les températures annuelles isothermes varient entre 8°C et 11°C. Les températures maximales moyennes du mois le plus chaud varient entre 26,3°C et 33,6°C et les températures minimales moyennes du mois le plus froid varient entre 4°C et 7,3°C. Les précipitations moyennes sont comprises entre 760 et 1400 mm/an (Halimi, 1980).

II-1.1.1.3. La flore

La flore de l'atlas Blidien fait partie de la flore Nord Africaine. D'après Battandier *et al.*, (1952), les tranches altitudinales qui constituent des forêts d'olivier, de pistachiers lentisques et de pins d'Alep, signale la présence du cèdre qui supporte la neige, du chêne vert et chêne liège. Plusieurs formes herbacées existent également au niveau

des secteurs tels que la globulaire, le basilic, le romarin, la lavande, la mélisse, le marrube, la thapsia, l'absinthe et le cytise.

II.1.1.2. Matériel animal

Le matériel animal sur lequel nous avons testé l'effet cicatrisant est constitué de 12 lapins (6 femelles et 6 males) des race croisée (Californie et New Zélande), dont le poids varie de 2 à 3kg.



Figure 11 : Lot de deux lapins (Original ,2013)

❖ Les conditions d'élevage

- ✓ Alimentation : Ceregran.
- ✓ Boisson : l'eau de ville

❖ Les conditions d'hébergement

- Température : 20-24°C
- Humidité : 50 %
- Eclairage : 12h

II.1.1.3. Les microorganismes :

Pour la réalisation de l'activité antimicrobienne nous avons testé des souches bactériennes et des champignons qui nous ont été fournis par le laboratoire de bactériologie de l'hôpital de Boufarik et du laboratoire d'hygiène de Blida.

Tableau I : les souches microbiennes testées :

les souches microbiennes	Origine	Référence
<i>Escherichia coli</i>	SR / ECBU	ATCC 25922
<i>Bacillus subtilis</i>	SR	ATCC 6633
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	SR / ECBU	ATCC 27853
<i>Staphylococcus aureus</i>	SR / Pus d'abcès	ATCC 25923
<i>Salmonelle Typhinurium</i>	Hémoculture	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ECBU	/
<i>Penicilium sp</i>	LHB	/
<i>Aspergillus niger</i>	SR	ATCC 16404
<i>Aspergillus flavus</i>	LHB	/
<i>Aspergillus terreus</i>	LHB	
<i>Candida albicans</i>	SR	ATCC 2091

ATCC: American Type Culture Collection.

SR : souches de références

ECBU : Etude cytologie et bactériologie des urines.

LHB : Laboratoire d'hygiène, Blida

II-1.2. Matériel non biologique

L'ensemble du matériel et équipements utilisés au niveau du laboratoire tels que la verrerie, les appareils et les réactifs, sont mentionnés en Annexe II, III.

II-2. Méthodes

II-2.1. Etude ethnobotanique

La méthodologie utilisée est une enquête sur terrain. Le but de cette enquête est de recueillir le maximum d'informations concernant l'usage traditionnel du cytise à trois fleurs. Nous avons donc établi quatre questionnaires adressés respectivement à quatre catégories de personnes.

- 1^{ère} catégorie : 100 personnes choisies au hasard (des deux sexes) et de différents âges. Ce questionnaire a été réalisé dans la région d'El Hammdania (lieu de la récolte de plante)
- 2^{ème} catégorie : deux femmes tradipraticiennes habitant la même région dont l'âge moyen est de 62 ans.
- 3^{ème} catégorie : 10 herboristes de différents âges dans la région de Blida.
- 4^{ème} catégorie : deux phytothérapeutes, dont l'âge moyen est de 57ans au niveau de Blida et Médéa.

II.2.2.Etude phytochimique

II-2.2.1.Détermination du taux d'humidité

Le principe est basé sur la dessiccation de la prise préparé à une température de 105° C dans une étuve jusqu'à l'obtention d'un poids pratiquement constant (**Audigie et al. 1987 in Athamena (2009)**).

➤ **Mode opératoire**

Les feuilles fraîches sont pesées et séchées dans une étuve réglée à 105°C pendant 24h. L'échantillon est refroidi dans un dessiccateur pendant 30min puis pesé une deuxième fois. Ensuite, il faut remettre dans une étuve pendant une heure et procéder à une nouvelle pesée. L'opération est poursuivie jusqu'à l'obtention d'un poids pratiquement constant.

➤ **Expression des résultats**

La teneur en matière sèche est donnée par la formule suivante :

$$\% = \frac{P_1}{P_0} \times 100$$

%MS = pourcentage de matière sèche.

P₀ = Poids de l'échantillon humide (en gramme).

P₁ = Poids de l'échantillon après dessiccation (en gramme).

La détermination de la teneur en eau est donnée par la formule suivante :

$$\%H = 100 - \%MS$$

%H = Humidité en pourcentage.

%MS = pourcentage de matière sèche.

II-2.2.2. Le screening chimique

Le screening chimique est un ensemble des réaction chimiques simples permettant d'orienter rapidement vers l'étude détaillée de quelques types de constituants chimiques (**Girre, 1980.**)

Le but de cette étude est de mettre en évidence la présence des métabolites secondaires présents dans le cytise à trois fleurs.

Les tests préliminaires sont effectués, soit sur la poudre du broyat, soit sur l'infusé de la plante.

Ces tests sont réalisés selon **Gherib, (1988)**

- **Préparation de l'infusé**

Selon le protocole de Saidal de Médéa :

Mettre 20g de poudre à infuser dans 100ml d'eau distillée pendant 15mn, après on filtre avec le papier Whatman.

- **Identification de quelques métabolites secondaires**

-**Les tanins** : Quelques gouttes d'une solution de $FeCl_3$ sont ajoutées à 5ml de l'infusé. La réaction donne une coloration bleue noire en présence des tanins.

-**Les flavonoïdes** : sont mis en évidence par la réaction cyanhydrique ou l'essai de chinoda :

A 5ml de l'infusé on additionne 5ml d' HCl , un copeau de Mg et 1ml d'alcool Isoamylique, la réaction des flavonols, flavonones et flavones par le magnésium métallique en présence de l'acide chlorhydrique, donne une coloration rouge orangé, cette coloration est dû à la présence des flavonoïdes.

-**Les alcaloïdes** : Prendre 5 ml de l'infusé ajouté 3 ml d'acide sulfurique concentré (96%) (H_2SO_4) et 5 ml d'une solution d'iodomercure de potassium (réactif de Valser Mayer), la réaction donne une coloration blanc crème.

-**Les saponosides** : Leur présence est détectée de la manière suivante :

A 2ml l'infusé, on ajoute quelques gouttes d'acétate de plomb, la formation d'un précipité blanc indique la présence des saponosides.

- **Les anthocyanines** : Prendre 5ml de l'infusé mélangé avec 4 ml d'hydroxyle d'ammoniac (NH_4OH) concentré (30%). l'apparition d'une coloration rouge indique la présence des anthocyanine. (**Gherib, 1988.**)

-**Les coumarines** : Faire bouillir 2g de poudre végétale dans 20ml d'alcool éthylique de KOH à 10% jusqu'à l'obtention d'un milieu faiblement acide ($pH=2$).

- **Les glucosides** : Réaction avec l'acide sulfurique : on met deux gouttes de l'acide sulfurique concentré, sur une masse de la poudre végétale. En présence des glucosides, la masse se colore en rouge brique, puis en violette.

II-2.3.Extraction en milieu alcalin des alcaloïdes totaux (AT)

➤ Principe

L'extraction des alcaloïdes est basée sur la solubilité en milieu alcalin. (Gerge et al., 1988). Elle comporte 4 étapes principales

II-2.3.1. Protocole d'extraction des alcaloïdes totaux en milieu alcalin.

-La macération des feuilles séchées et broyées dans une base forte (NH_4OH) diluée dans de l'eau distillée qui solubilise les alcaloïdes sous forme de sels. Pendant 48h puis on filtre. Le filtrat est mis dans une ampoule à décanter. On ajoute 70 ml de Dichlorométhane (CHCl_2). Cette opération est répétée trois fois. Après la séparation des deux phases, on récupère la phase organique qui contient les alcaloïdes.

-Le rinçage de la phase organique par l'eau distillée. Cette opération est répétée trois fois. Après la séparation des deux phases, on récupère la phase organique. On ajoute à ce dernier 200ml d'eau distillée.

- Acidifier la phase organique par quelques gouttes d'HCL (2N) jusqu'à l'obtention d'un pH=2.

- Nous avons séparé les deux phases par une ampoule à décanter, puis on récupère la phase aqueuse.

-la phase aqueuse est alcalinisée par quelques gouttes de l'Ammoniaque (NH_4OH) concentré jusqu'à l'obtention d'un pH=10. Puis on ajoute 50ml de dichlorométhane (CHCl_2). (Répéter trois fois).

-Une extraction liquide/solide dans une ampoule à décanter assure le déplacement des alcaloïdes totaux de la phase aqueuse vers le solvant apolaire (phase organique)

-Vaporiser la phase organique à l'aide d'un rotavapeur puis on récupère le résidu sec contenant les alcaloïdes totaux. (**figure 8**)

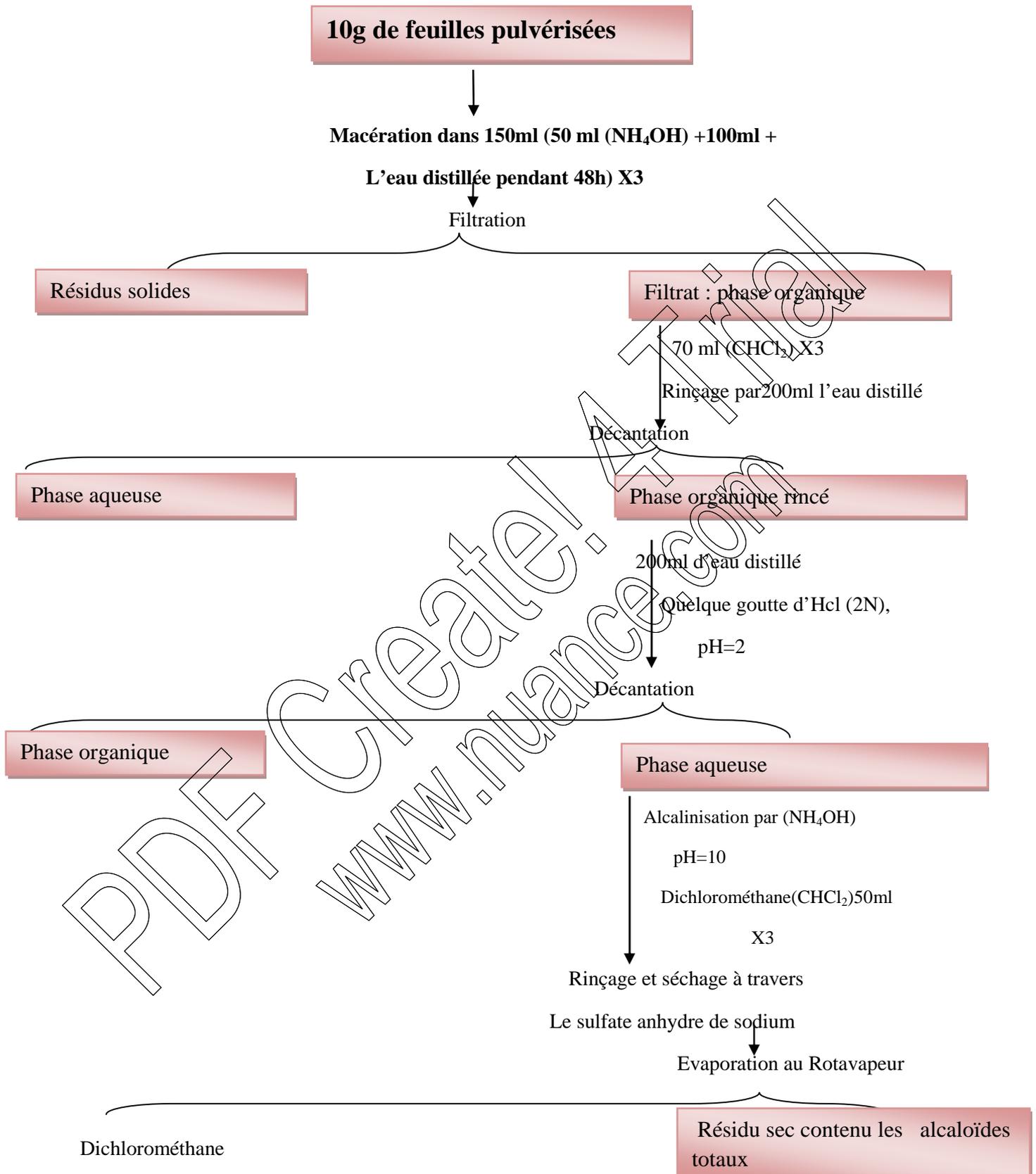


Figure 8: Protocole d'extraction des alcaloïdes totaux en milieu alcalin (Gerge et al., 1988).

✓ **Caractères organoleptiques de l'extrait des alcaloïdes**

D'après l'extraction des alcaloïdes quinolizidinique en milieu basique, nous avons cherché les Caractères organoleptiques tel qu'aspect, couleur, odeur et nature de notre extrait.

II-2.3.2.calcul du rendement

Le rendement en alcaloïdes totaux (R_{AT}) est évalué par le rapport entre la masse de l'extrait alcaloïdique et celle du matériel végétal utilisé :

$$R_{AT} = \frac{M_1}{M_0} \times 100$$

R_{AT} : rendement en alcaloïdes totaux %

M_1 : masse des alcaloïdes en gramme.

M_0 : masse des feuilles séchées broyées en gramme.

II-2.4. Evaluation du pouvoir antimicrobien

Certains composés chimiques et plus précisément les principes actifs ont une propriété inhibitrice sur quelques souches bactériennes et fongiques.

But

Le but est de mettre en évidence l'activité antibactérienne et antifongique des alcaloïdes extraits en milieu basique et de l'infusé des feuilles sèches de la plante étudiée (*Cytisus triflorus* L'Hér.). La méthode utilisée est celle de diffusion en milieu gélosé.

Principe

Pour réaliser la méthode de diffusion en milieu gélosé par des disques de 9mm, la culture microbienne est effectuée à la surface d'une gélose préparée selon l'exigence de la souche. Les disques sont pré imprégnés de l'infusé et de l'extrait d'alcaloïdes à différentes concentrations (100%,50%,25% et 12.5%), puis sont déposés à la surface de la gélose.

Les extraits diffusent à partir du disque en créant un gradient de concentration. Les caractères de sensibilité ou résistance de la souche en seront déduits par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition.

II.2.4.1. Protocole expérimental

Pour ce test nous avons utilisé l'infusé et l'extrait alcaloïdiques de la plante.

➤ Préparation des dilutions :

- la solution mère : Mettre 1g de poudre (des feuilles) dans 10ml d'eau distillée.
- Après une heure on filtre la solution mère par un papier filtre et on prépare trois dilutions dans des tubes à essai comme suite :

1^{er} tube : solution mère (10ml).

2^{eme} tube : dilution 50% (1ml de solution mère +9ml d'eau physiologique).

3^{eme} tube : dilution 25% (1ml de solution 1/2+9ml d'eau physiologique).

4^{eme} tube : dilution 12.5% (1ml de solution 1/4+9ml d'eau physiologique).

- ❖ **L'extrait alcaloïdique :** les alcaloïdes extraits sont des sels, pour récupérer ces derniers nous avons dilué dans 10ml de méthanol pour obtenir 17.5mg/ml de solution méthanolique. Nous avons préparés les dilutions suivantes : extrait méthanolique (100%), 50%, 25%, 12,5% et le témoin méthanol).

II-4.2. Préparation des suspensions microbiennes

À partir d'une jeune culture de 24 heures pour les bactéries et de 5 jours pour les champignons et 3 jours pour la levure, nous réalisons des suspensions troubles, en prélevant 3 à 5 colonies bien isolées et identiques à l'aide d'une anse stérile, cette dernière déchargée dans 10ml d'eau physiologique stérile puis nous agitons au vortex, (ce travail est effectué près du bec benzène).

La concentration optimale des suspensions est de : 10^5 et 10^6 germes /ml pour les bactéries et 10^{15} germes /ml pour les champignons.

- Nous avons préparé 8 boîtes de Pétrie contenant le milieu Muller-Hinton pour les bactéries, et 5 boîtes de Pétrie contenant le milieu Sabouraud pour les champignons, puis nous avons fait l'ensemencement (**Figure 9**).
- Les disques immergés dans chaque solution, puis mis dans la boîte de Pétrie (4 disques pour l'infusé et 5 disques pour l'extrait alcaloïdiques dans chaque boîte)(**Figure 10**).
- Les mêmes étapes sont réalisées pour les autres boîtes de Pétrie pour les bactéries et les champignons,

- L'incubation est faite dans l'étuve à 37°C pendant 24 heures pour la croissance des souches bactériennes, et à 25°C pendant 5 jours pour les champignons et 48h pour la levure.

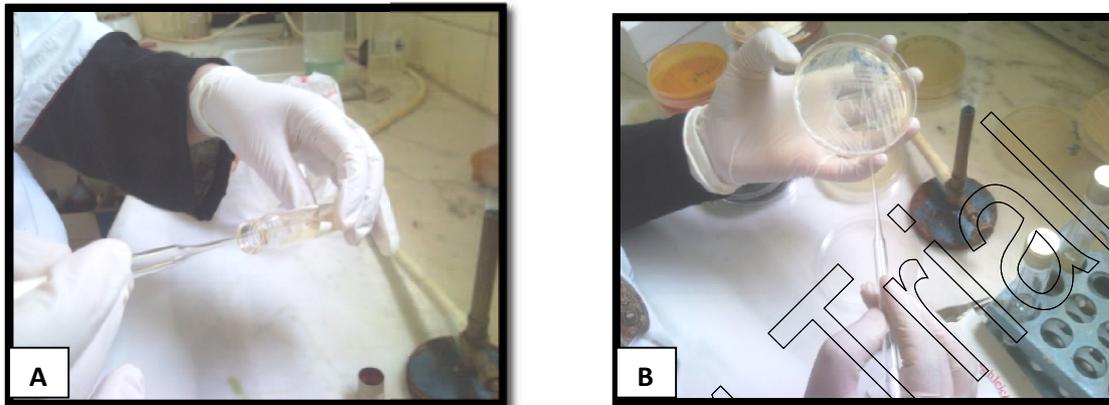


Figure 9 : Prélèvement de la souche mère (A) et ensemencement sur boîtes de pétrie contenu le milieu de culture (B) (Original 2013).

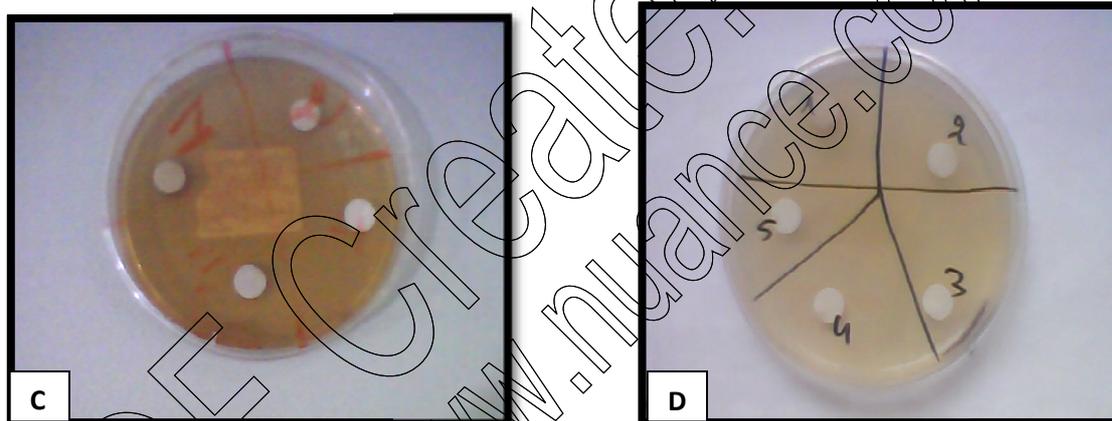


Figure 10 : Dépôt des disques imprégnés de l'infusé (C) et des alcaloïdes (D) à la surface d'une boîte ensemencée (Originale 2013).

II-4.3.Lecture

- Après incubation, on mesure les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse.

II-2.5. Etude de l'activité cicatrisante

But

Le but de notre travail est de tester l'effet cicatrisant de la plante.

Principe

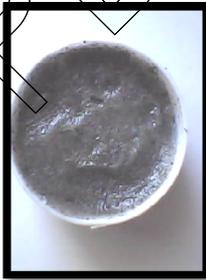
Le principe consiste en l'application des traitements sur des plaies préalablement provoquées. Les applications sont faites quotidiennement jusqu'à la cicatrisation complète de la plaie (environ 15 jours).

II.2.5.1. Mode opératoire

L'activité cicatrisante a été testée sur 12 lapins (6 mâles et 6 femelles), dont l'âge moyen est de un an. Ils sont repartis en 6 lots : un mâle et une femelle.

Quatre traitements ont été testés pour la cicatrisation des plaies réalisées sur les lapins (Tableau II) et (figure 12) et deux témoins (positif et négatif)(figure 13).

Tableau II : Produits testés pour la cicatrisation des plaies réalisées sur les 6 lots de lapins.

Les Lots	Lot N°1	Lot N°2	Lot N°3	Lot N°4	Lot N°5	Lot N°6
Le produit testé	<p>Pommade 1(10g de poudre + 40 g vaseline)</p> 	<p>Pommade2 (10g de poudre + 40 g beurre naturel)</p> 	<p>feuilles fraîche écrasée</p> 	<p>Poudre Des feuilles séchée</p> 	<p>L'eau physiologique</p> 	<p>Madicassol®</p> 

II.2.5.2.Préparation de l'animal

Nous avons provoqué deux types de plaies, sur les deux côtés du même lapin (gauche et droite) . Nous avons pris le côté droit pour faire une plaie profonde (peau scalpé) (**Figure 13**) et l'autre côté pour faire une plaie superficielle (incision) (**Figure 12**).

L'opération est réalisée selon les étapes suivantes :

- Epilation des lapins par une tondeuse électrique pour dégager une surface d'environ 5×5cm sur les deux côtés (gauche et droite).
- Désinfecter les régions tondues avec de l'alcool chirurgical à 70%.
- Marquer la zone pour faire l'incision

❖ Réalisation de la plaie superficielle (incision)

La plaie superficielle a été effectuée par scarification sur le côté gauche de chacun des 12 lapins, à l'aide d'une lame de scalpel. La scarification est peu profonde (0.5cm d'épaisseur et de 2cm de longueur) (**Figure 12**)



Figure 14 : Réalisation de la plaie superficielle (original,2013)

❖ Réalisation de la plaie profonde (peau enlevé)

La plaie profonde a été effectuée sur le côté droit de chacun des 12 lapins, en découpant la zone tracée à l'aide d'une paire de ciseaux et une pince, puis enlever la peau de cette zone de façon à obtenir une surface de 4cm². Cette surface dépourvue de peau est nettoyée avec de l'alcool chirurgical à 70% (**Figure 13**)



Figure 15 : Réalisation de la plaie profonde (original,2013)

II.2.5.3.L’application des traitements

Nous avons appliqué quotidiennement les six traitements deux fois par jour pour les six lots de lapins, pendant 15 jours .Les quantités de chaque traitement sont mentionnées dans le tableau ci –dessous

Tableau III : la quantité des produits testés pour les deux types de plaies.

Types de plaies	Plaie superficiel (incision)	Plaie profonde (peau enlevée)
Lot N°1	1g de p ₁	2g de p ₁
Lot N°2	1g de p ₂	2g de p ₂
Lot N°3	1g de p ₃	2g de p ₃
Lot N°4	1g de p ₄	2g de p ₄
Lot N°5	1ml de p ₅	2ml de p ₅
Lot N°6	0.5g de p ₆	1g de p ₆

P₁ : Pommade n°1(poudre+vaseline) P₂ : Pommade n°2(poudre+beurre naturel)

P₃ : Feuilles fraîche écrasée

P₄ : Poudre

P₅ : Eau physiologique

P₆ : Madicassol®

➤ La mesure des plaies se fait chaque jour.

III.1. Résultats de l'enquête ethnobotanique

III.1.1. Fréquence d'utilisation du cytise à trois fleurs selon le profil des enquêtés (1^{ère} catégorie)

L'enquête ethnobotanique sous forme de questionnaire (annexe I) adressé individuellement à cent personnes, choisies au hasard dans la région d'El Hammdania, nous a permis de recueillir des informations concernant l'usage traditionnel du cytise à trois fleurs. Les résultats sont illustrés sur les histogrammes ci-dessous :

➤ Connaissance de la plante selon l'âge

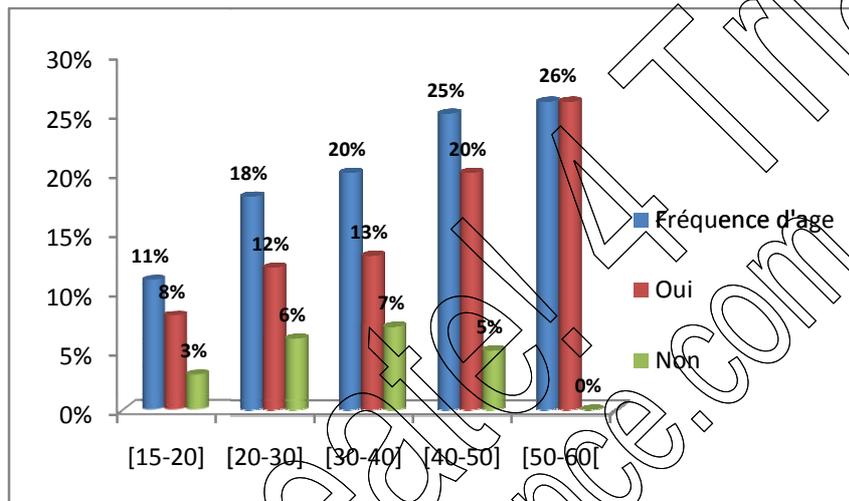


Figure 14: la fréquence de connaissance de la plante selon l'âge.

Selon les résultats obtenus (Figure 14), nous constatons que la majorité des personnes que nous avons questionnées connaissent le cytise à trois fleurs, soit (79%). Se sont les personnes âgées entre 50 et 60 ans qui connaissent mieux le cytise avec une fréquence de (26%). Viennent ensuite les tranches d'âges [40-50], [30-40], [20-30] et [15-20] avec respectivement : 11% , 18%, 20% et 25%.

➤ Le nom local de la plante

Toutes les personnes questionnées connaissent le cytise sous un seul nom local ou vernaculaire : « Tilouquite ».

➤ Le niveau intellectuel et le sexe d'appartenance

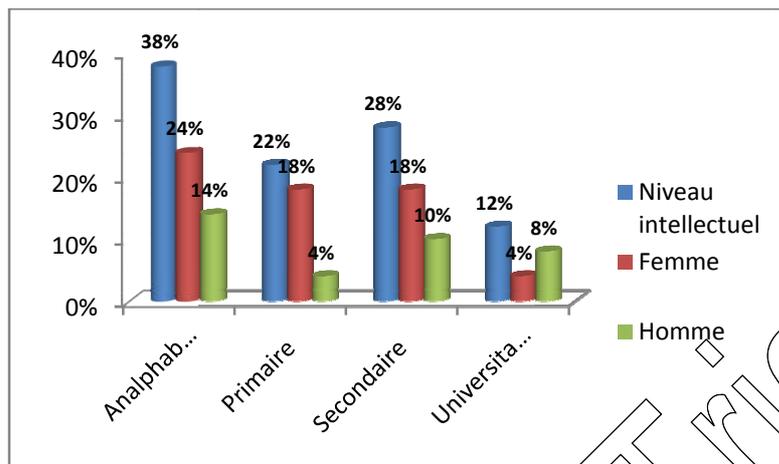


Figure 15 : fréquence de connaissance de la plante selon le niveau intellectuel et le sexe d'appartenance.

D'après les résultats recueillis dans la zone d'étude (Figure 15), la majorité des connaisseurs du cytise à trois fleurs sont des analphabètes avec une fréquence de 38%. Viennent ensuite les personnes dont le niveau est secondaire (28%) et primaire (22%). Les universitaires que nous avons questionnés connaissent peu cette plante.

Nous constatons que les femmes ont plus de connaissance sur cette plante par rapport aux hommes (64% contre 36%). Cela explique que les femmes sont plus détentrices du savoir thérapeutique traditionnel.

➤ Le domaine et la partie utilisée de la plante

Les résultats que nous avons obtenus sont illustrés sur la figure 16. Ils montrent que toutes les personnes interrogées connaissant le cytise à trois fleurs, affirment utiliser cette plante uniquement dans le domaine médicinale et se sont les feuilles, qui sont utilisées pour préparer les remèdes traditionnels.

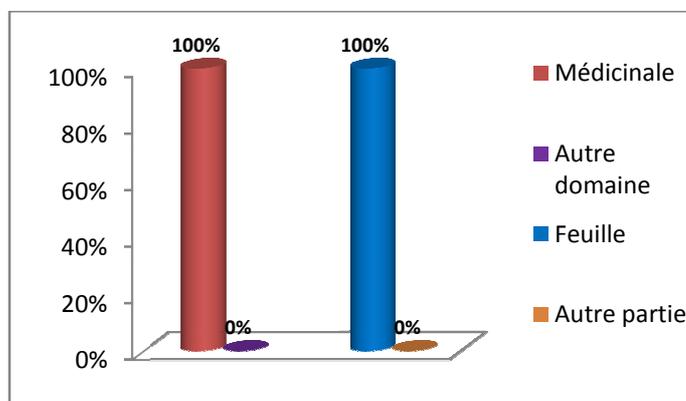


Figure 16 : domaine et partie utilisée de la plante

➤ Les différentes maladies préconisées et mode de préparation des remèdes à base du cytise à trois fleurs.

Selon les résultats que nous avons obtenus (Figure 17), nous pouvons dire que cette plante est utilisée par la population locale pour traiter plusieurs maladies.

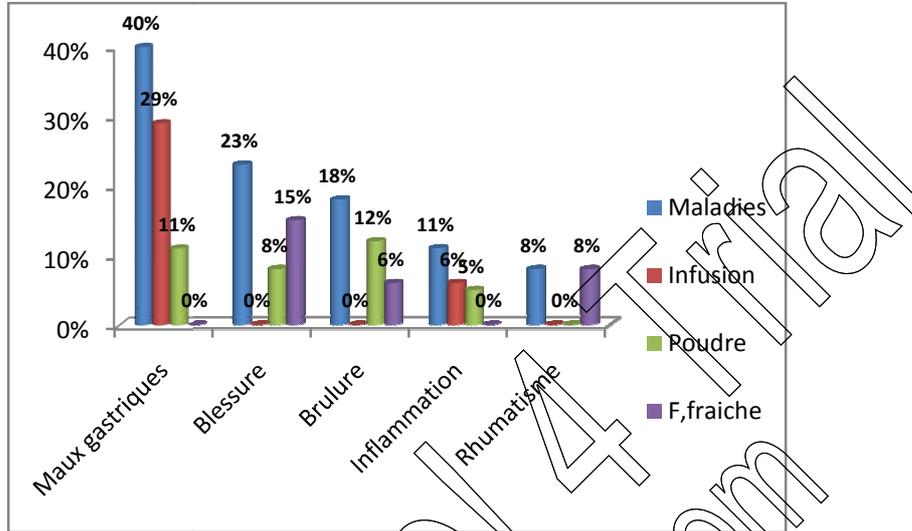


Figure 17 : fréquence d'utilisation du cytise à trois fleurs pour différentes maladies et mode de préparation.

En effet, 40% des personnes questionnées, utilisent le cytise à trois fleurs pour traiter les maux gastriques dont 29% l'utilisent sous forme d'infusion et 11% sous forme de poudre mélangée avec du miel ou à de l'huile d'olive. 23% affirment avoir utilisée cette plante pour la cicatrisation des blessures et 18% pour les brulures.

Concernant le mode d'emploi pour les brulures : 8% l'utilisent sous forme de poudre et 15% utilisent les feuilles fraîches. Tandis que 11% disent qu'elle peut être utilisée pour traiter l'inflammation, dont 6% l'utilisent sous forme d'infusion et 5% sous forme de poudre. D'autres personnes (8%) utilisent les feuilles fraîches de la plante sous forme de cataplasme pour traiter le rhumatisme.

➤ **l'utilisation personnelle et l'efficacité de la plante**

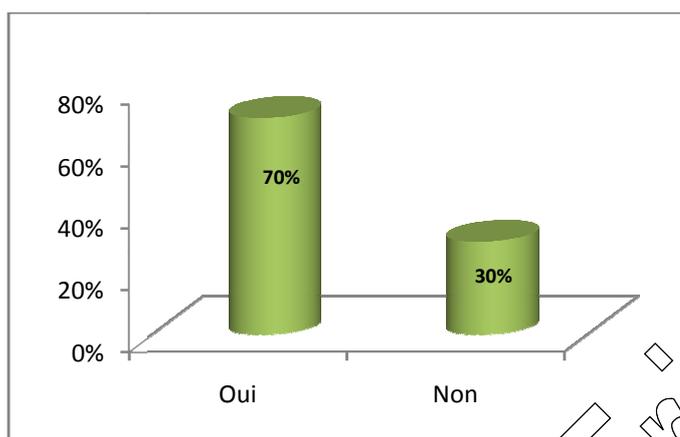


Figure 18 : fréquence d'utilisation personnelle et efficacité de la plante

Selon la figure 18, nous constatons que 70% des personnes enquêtées utilisent eux même le cytise à trois fleurs et affirment que les résultats sont positifs à la suite du traitement par cette plante.

Ils affirment aussi que cette plante possède une efficacité remarquable et naturelle très accessible par l'organisme surtout pour traiter les deux maladies (maux d'estomac et la cicatrisation des plaies), sans effets secondaires.

Notons que toutes les personnes questionnées font eux même la récolte du cytise à trois fleurs pendant toute l'année.

III.1.2. Résultats de l'enquête ethnobotanique concernant la 2^{ème} catégorie (les herboristes)

Les 10 herboristes que nous avons questionné, dont l'âge est compris entre 20 et plus de 50 ans connaissent le cytise à trois fleurs. Les informations que nous avons obtenues de ces herboristes se résument comme suit :

- La plante présente beaucoup de vertus thérapeutiques, elle est utilisée seulement dans le domaine médicinal, pour les maladies liées à l'appareil digestif et pour la cicatrisation des plaies et des brulures.
- Les feuilles sont les seules parties de la plante qui sont utilisées pour la préparation des remèdes traditionnels.

-Le mode d'emploi utilisé est généralement l'infusion des feuilles fraîches ou séchées ou la poudre utilisée directement sur la plaie.

▪ **Remarque :**

Notons que 40% des herboristes ont un niveau primaire, 35% un niveau secondaire, 18% sont des analphabètes et 7% d'entre eux sont des universitaires. Nous notons aussi que 70% des herboristes affirment avoir acquis le savoir par héritage de génération en générations, d'autres en consultant des livres de plantes médicinales.

III.1.3. Résultats de l'enquête ethnobotanique pour les phytothérapeutes et les tradipraticiennes.

Selon les questions qui ont été posées aux deux phytothérapeutes et aux deux tradipraticiennes (dont l'âge moyen est respectivement de 60 et 78 ans), nous avons constaté les mêmes réponses :

-Ils connaissent bien cette plante dont le nom est Tilouguite, ils utilisent uniquement les feuilles pour la cicatrisation des plaies, des brûlures et de l'ulcère gastrique.

-Pour la cicatrisation, le mode de préparation est la pommade à base du cytise à trois fleurs.

-Pour l'ulcère gastrique, sous forme d'infusion ou poudre mélangée avec du miel ou de l'huile d'olive.

▪ **Remarque**

Les phytothérapeutes ont une formation de médecins généralistes et ont acquis le savoir de traiter par les plantes grâce à une formation en phytothérapie. Les tradipraticiennes, sont des analphabètes, elles ont acquis ce savoir par héritage (les recettes sont transmises de génération en génération) et par l'expérience.

▪ **Discussion**

L'étude ethnobotanique a été réalisée dans la région d'El Hammdania. Elle nous a permis de recueillir les informations suivantes :

Se sont les personnes âgées entre 50 et 60 ans qui connaissent mieux le cytise à trois fleurs (Tilouguite) avec une fréquence de (26%). Nos résultats sont similaires à ceux de **Achour et al., (2008)** et **Zadouerkeb et al., (2009)**, ces derniers ont réalisé une étude

ethnobotanique dans la même région et révèlent que se sont les personnes d'âge supérieur à 50 ans qui ont une fréquence de connaissance et d'utilisation des plantes médicinales soit 45%.

Bien que notre étude à été réalisée après 5ans, nos résultats ne diffèrent pas beaucoup de ceux de **Achour et al., (2008)** et **Zad Ouerkeb et al., (2009)**. Ceci pourrait être expliqué d'une part par le fait que la population de cette région préfère les remèdes naturels aux produits pharmaceutiques vu le nombre important des plantes médicinales facilement cueillies et les résultats qui se révèlent positifs et moins agressifs pour l'organisme. D'autre part nous pouvons expliquer cette préférence des hôpitaux. Car d'après notre visite à cette région, nous avons remarqué qu'il n'existe qu'un seul petit centre médical mal équipée géré par un seul médecin.

Nos résultats montrent que les femmes ont un savoir sur le cytise à trois fleurs plus que les hommes (64% contre 36%). Les mêmes résultats sont retrouvés par une étude ethnobotanique réalisée au Maroc par **Jouad et al., (2001)**, et expliquent que les femmes sont plus détentrices du savoir phytothérapeutique traditionnel par rapport aux hommes (63% contre 37%).

Les informations que nous avons obtenues des herboristes montrent que vendent le cytise à trois fleurs pour ses vertus thérapeutiques surtout pour les maladies suivantes : maux d'estomac (32%), cicatrisation des plaies et brûlures (60%). les modes d'utilisations de la plante est sous forme d'infusion (23%) pour maux d'estomac et en poudre ou feuilles fraîches pour la cicatrisation (28%).

Les mêmes informations nous ont été données par les deux phytothérapeutes et les deux veilles tradipraticiennes.

III.2. Résultat du test phytochimique

III.2.1. Détermination de la teneur en eau

Nous avons utilisé la méthode pondérale pour déterminer le taux d'humidité des feuilles fraîches de *Cytisus triflorus*. C'est la détermination de la perte de la masse par dessiccation à l'étuve. Nous avons obtenu un taux d'humidité de 36.20% dans une masse de 100g de la plante. Dans les organes végétaux, la teneur en eau est généralement très supérieure à 1% et dépasse souvent 10% (**De parveaux et Huber, 2007**).

III.2.2. Le Screening chimique

Les résultats du test phytochimique menée sur les feuilles de *Cytisus triflorus*, sont illustrés dans le tableau suivant :

Tableau IV : les métabolites secondaires mis en évidence par le test phytochimique du *Cytisus triflorus* .

Les métabolites secondaires	Résultats	Réactions
Les tanins	++	Bleu noire
Les flavonoïdes	++	Rouge orangée
Les alcaloïdes	+++	Blanc crème
Les Saponosides	++	précipité blanc
Les anthocyanine		Rouge
Les coumarines	-	obtention d'un milieu faiblement acide.
Les glucosides	+	rouge brique puis se transforme en violette

- +++ : Abondants.
- ++ : Moyennement abondants.
- + : présence.
- - : Absence.

Les résultats des tests préliminaires montrent que le cytise à trois fleurs renferme différents métabolites secondaires tels que les tanins, les flavonoïdes, les saponosides, dont les alcaloïdes sont majoritaires.

III.3. Résultats de l'extraction des alcaloïdes

L'extrait brut des alcaloïdes a été obtenu par la méthode d'extraction en milieu acide à partir des feuilles séchées.

III.3.1. Caractères organoleptiques de l'extrait des alcaloïdes

L'extrait des alcaloïdes obtenu présente les Caractères organoleptiques suivants :

Tableau V : les Caractères organoleptiques des alcaloïdes de cytise à trois fleurs.

Aspect	Couleur	Odeur	Nature
Onctueux	Vert foncé	Fort	Liposoluble

Ces caractères organoleptiques sont similaires à ceux déjà obtenus pour des extraits alcaloïdiques issus de la même espèce par **Abbas et Redouane (2007)**, **Chibili (2010)**.

III.3.2. Rendement en alcaloïdes totaux

Une quantité de 10g de feuilles de cytise à trois fleurs séchées et broyées a été répartie sur une extraction en milieu alcaline. Le rendement (R_{AT}) obtenu après extraction des alcaloïdes est de 1,75%. Cette valeur est la même que celle obtenue par **Chibili (2010)**, et supérieure à celle obtenue par **Khilafat (2008)**, travaillant sur la même matière végétale récoltée d'Azazga en février 2007 ($R_{AT}=0.21\%$) mais utilisant une méthode d'extraction en milieu acide. Cette différence des rendements sera due aux méthodes d'extraction adoptées (en milieu acide et en milieu alcalin), sachant que le même auteur a obtenu des rendements en alcaloïdes inférieures à partir des graines ($R_{AT}=0,13\%$) et des fruits secs ($R_{AT}=0.14\%$). Le rendement en alcaloïdes diffère selon les organes de la plante ayant subi l'extraction. Donc nous ne pouvons pas affirmer que l'extraction en milieu alcalin est la plus rentable.

En effet selon **Brunton (2007)**, la teneur en alcaloïdes d'une même espèce peut varier selon l'organe : l'espèce *C.laburnum* par exemple, a une teneur très élevée ($R_{AT}=3\%$) dans les graines, mais qui diminue pour les feuilles ($R_{AT}=0,3\%$), de même le rendement obtenu par **Abbas et Redouane (2007)** qui ont travaillé sur la même espèce a été également faible ($R_{AT}=0.21\%$) malgré l'emploi de la méthode d'extraction en milieu

alcalin, ceci peut être expliqué par l'épuisement incomplet de la phase aqueuse de ses alcaloïdes.

III.4. Résultats de l'activité antimicrobienne des alcaloïdes de *Cytisus triflorus*

III.4.1. Activité antibactérienne

Cette étude est basée sur la mesure du diamètre des halos d'inhibition de l'infusé et l'extrait d'alcaloïde obtenu à partir des feuilles du cytise à trois fleurs.

❖ Effet antibactérien de l'infusé

Les résultats de l'activité antibactérienne de l'infusé sont mentionnés dans le tableau suivant :

Tableau VI : Les diamètres des zones d'inhibition de l'infusé de *Cytisus triflorus* l'Hér

Concentration	Solution mère 100%	Dilution 50%	Dilution 25%	Dilution 12.5%
Souches bactériennes				
<i>Escherichia coli</i> (SR)	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> (ECBU)	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> (prélevé d'un pus d'abcès)	12.7mm	10.2mm	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	-	-	-	-
<i>Salmonella Typhi</i>	-	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	-
<i>psseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-

Toutes les bactéries sont résistantes quelque soit la concentration de l'infusé sauf *Staphylococcus aureus* (prélevé d'un pus d'abcès) est sensible, car le diamètre d'inhibition est de 12.7mm pour la concentration 100% et 10.2mm pour la concentration 50%.(Figure 19)

❖ Effet antibactérien des alcaloïdes

Les résultats sont reportés dans le tableau suivant :

Tableau VII : Les diamètres des zones d'inhibition des alcaloïdes de *Cytisus triflorus*

Concentration Souches Bactériennes	Solution mère 100%	Dilution 50%	Dilution 25%	Dilution 12.5%	Témoin (méthanol)
<i>Escherichia coli</i> (SR)	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> (ECBU)	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> (prélevé d'un pus d'abcès)	15.5	12	10	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> (SR)	16	14.8	12	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	15.2	13.5	-	-	-
<i>Salmonella typhi</i>	-	-	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	-	-
<i>psseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-

• Diamètre de disque (9mm)

Par rapport à l'infusé, les alcaloïdes quinolizidinique possèdent une activité antibactérienne sur les souches (*Staphylococcus aureus* (prélevé d'un pus d'abcès), *Staphylococcus aureus* (SR) et *Bacillus subtilis*).

Une échelle de mesure de l'activité antibactérienne a été rapportée par le Comité Français de Microbiologie, (fiche technique de Saidal) classant ainsi les diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne comme suit :

- Fortement inhibitrice : $\text{Ø} \geq 28\text{mm}$ de la zone d'inhibition
- Moyennement inhibitrice : $28\text{mm} \geq \text{Ø} \geq 16\text{mm}$
- Faiblement inhibitrice : $16\text{mm} \geq \text{Ø} \geq 10\text{mm}$
- Non inhibitrice : $\text{Ø} \leq 10\text{mm}$ de la zone d'inhibition

En vu de nos résultats, nous notons que l'infusé des feuilles séchées du cytise à trois fleurs a une faible activité antimicrobienne pour les bactéries de Gram+ *Staphylococcus aureus* (prélevé à un pus d'abcès) avec un diamètre de 12.7 ,10.2 mm , pour la solution mère et pour la dilution 50%, et une résistance chez les autre bactéries.

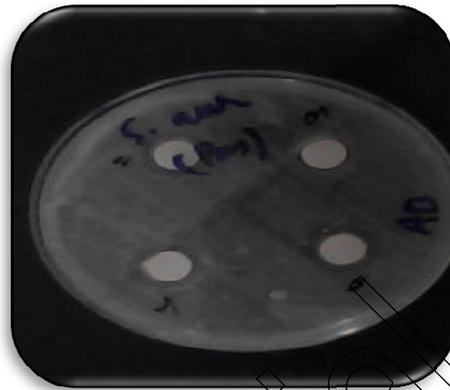
Par contre l'extrait des alcaloïdes quinolizidiniques inhibent la croissance des bactéries pour une concentration de (100%, 50%, 25% et 12.5%) et sont comparés par le témoin (méthanol) ,qui a un effet remarquable sur les deux bactéries de Gram+ , *Staphylococcus aureus* (prélevé d'un pus d'abcès) (15.5mm,12mm et 11mm) de diamètre et *Staphylococcus aureus* (SR) ,(16mm,14.8mm et12mm) de diamètre *Bacillus subtilis* avec un diamètre (15.2mm et13.5mm) de diamètre et aucune zone d'inhibition pour les bactéries de Gram- , *Escherichia coli* (ECBU), *Salmonella Typhi* , *psseudomonas aerugenosa* , *Klebsiella pneumoniae* (tableau VII) et (Figure 20).



Figure19: Aspect des cultures et zones d'inhibition en présence l'infusé de *cytisis triflorus*



A) Zone d'inhibition de la bactérie *Staphylococcus aureus*(SR).



B) Zone d'inhibition de la bactérie *Staphylococcus aureus* (prélevé d'un pus)



C) absence de la zone d'inhibition *Escherichia coli* (ECBU)



D) absence de la zone d'inhibition chez la bactérie *salmonella Typhi*



E) Zone d'inhibition de la bactérie *Bacillus subtilis* (SR)

Figure20: Aspect des cultures et zones d'inhibition en présence des alcaloïdes quinolizidiniques de *cytissus triflorus* l'Hér

Nos résultats sont similaires aux travaux antérieurs de **Wink (1984)** et **Chibili (2010)**, sur l'activité antibactérienne des alcaloïdes sur le même genre de cytise, ils ont prouvé l'efficacité de ces alcaloïdes sur la bactérie de Gram+ (*Staphylococcus aureus*) plus que les autres bactéries de Gram- (*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*).

Wink (1984), montre dans une étude que la spartéine qui est l'alcaloïde majoritaire dans le genre *Cytisus Laburnum*. et (**Chibili, 2010**), concernant les alcaloïdes quinolizidiniques extraits à partir des feuilles du *Cytisus triflorus* l'Hér, ont une activité antimicrobienne contre les bactéries et les champignons.

Ces deux chercheurs ont prouvé la sensibilité des alcaloïdes sur les bactéries de Gram+ et la résistante sur les bactéries de Gram- .Car sont due à la nature de la paroi plasmique des bactéries à Gram- doublé et riche en lipopolysaccharides, ce qu'il donne une imperméabilité au principe actif.

Concernant les alcaloïdes quinolizidinique les mécanismes restent sombres, d'après quelques chercheurs, le mécanisme est peut être du à des changements au niveau de l'ADN puisque les alcaloïdes sont connus comme des inhibiteurs de la synthèse d'ADN par les topoisomérases et comme des induit d'ADN (**Guittat et al, 2003; Lisgarten et al., 2002**).

❖ **Activité antifongique**

L'évaluation de l'activité antifongique de l'infusé et de l'extrait d'alcaloïde de la plante sur les champignons, *penicillium sp*, *condida albinans* *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus*, *Aspergillus flavus* montrent aucun activité antifongique.

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau VIII

Tableau VIII : Les diamètres des zones d'inhibition d'alcaloïdes et l'infusé de *Cytisus triflorus* l'Hér pour les champignons

Concentration Souches fongiques	Solution mère 100%	Dilution 50%	Dilution 25%	Dilution 12.5%
<i>Penicillium</i> <i>sp</i>	-	-	-	-
<i>Aspergillus niger</i>	-	-	-	-
<i>Aspergillus</i> <i>terrus</i>	-	-	-	-
<i>Aspergillus</i> <i>flavus</i>	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i>	-	-	-	-

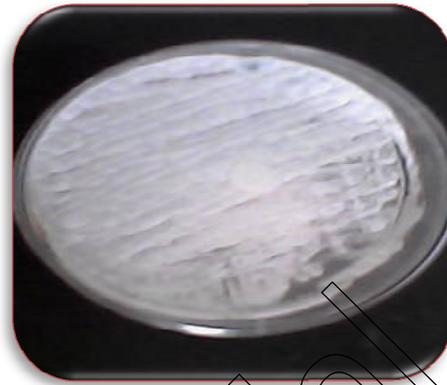
- Diamètre de disque (9mm)

D'après le Tableau VIII : l'infusé et l'extrait des alcaloïdes quinolizidiniques obtenu par l'extraction en milieu alcalin de la plante étudiée *Cytisus triflorus* l'Hér a montré aucune activité antifongique pour tout les champignons phytopatogènes (*penicillium sp*), et les champignons toxigènes (*Aspergillus niger*, *Aspergillus terrus*, *Aspergillus flavus*) et la levure *Candida albicans*. car nous n'avons remarqué aucune zone d'inhibition chez toutes les cultures de champignons. (Figure 21).

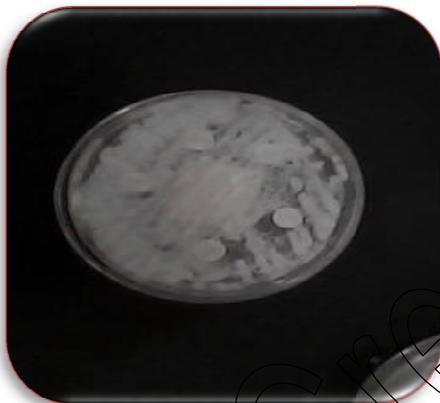
Ces valeurs sont presque similaires aux travaux du **Chibili (2010)** qui trouve une activité faible sur *Candida albicans* avec un diamètre de 8mm (les disques de 6mm) et 12mm pour les champignons phytopathogène *Botrytis fabae*, il est à signaler que *Botrytis fabae* est l'un des champignons infestant certaines Fabaceae telle que la fève (*vicia faba* L.) provoquant la maladie des taches noires. **Bouhassan et al (2007)** ont mentionné la présence des génotypes de fève partiellement résistants à cette maladie .Les alcaloïdes qui caractérisent la famille des Fabaceae peuvent être impliquées bien dans le mécanisme de défense contre ces attaques fongiques.



A) Absence de zone d'inhibition chez le champignon *Penicillium sp.*



B) Absence de zone d'inhibition chez la levure *Candida albicans*



C) Absence de zone d'inhibition chez le champignon *Aspergillus niger*



D) Absence de zone d'inhibition chez le champignon *Aspergillus flavus*

Figure 21: Aspect des cultures et zones d'inhibition en présence des alcaloïdes et l'infusé de *Cytisus triflorus* l'Hér

III.5. Résultats de l'activité cicatrisante du *Cytisus triflorus* l'Hér

Notre étude est basée sur les préparations traditionnelles de la plante *Cytisus triflorus* l'Hér sur les deux types de plaies.

Durant les 15 jours nous avons appliqué les différentes préparations à base de la plante, pommade n°1 (vaseline + poudre), pommade n°2 (beurre naturel+poudre), feuilles fraîche écrasée pour le cataplasme, poudre pour l'application directe, et deux témoin (l'eau physiologie, Madicassol®).

Les remèdes sont appliqués 2 fois par jour.

➤ Evaluation de l'activité cicatrisante de la plaie superficielle

Les résultats d'évolution de l'activité cicatrisante de la plaie superficielle sont rassemblés dans le tableau XI et la figure 22.

Tableau IX : les longueurs des plaies superficielles chez les lapins.

traitements	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	Témoin positif	Témoin négatif
Le 1 ^{er} jour	2 cm					
Le 4 ^{ème} jours	1.2	1.35	1.55	1.25	1.2	1.35
Le 8 ^{ème} jours	0.44	0.35	0.45	0.5	0.35	0.45
Le 10 ^{ème} jours	0.00	0.00	0.1	0.00	0.00	0.4

T₁: P. vaseline

T₂: P. beurre

T₃: Feuilles fraiche

T₄: poudre

Témoin positif: Madécassol®

Témoin négatif: l'eau physiologie

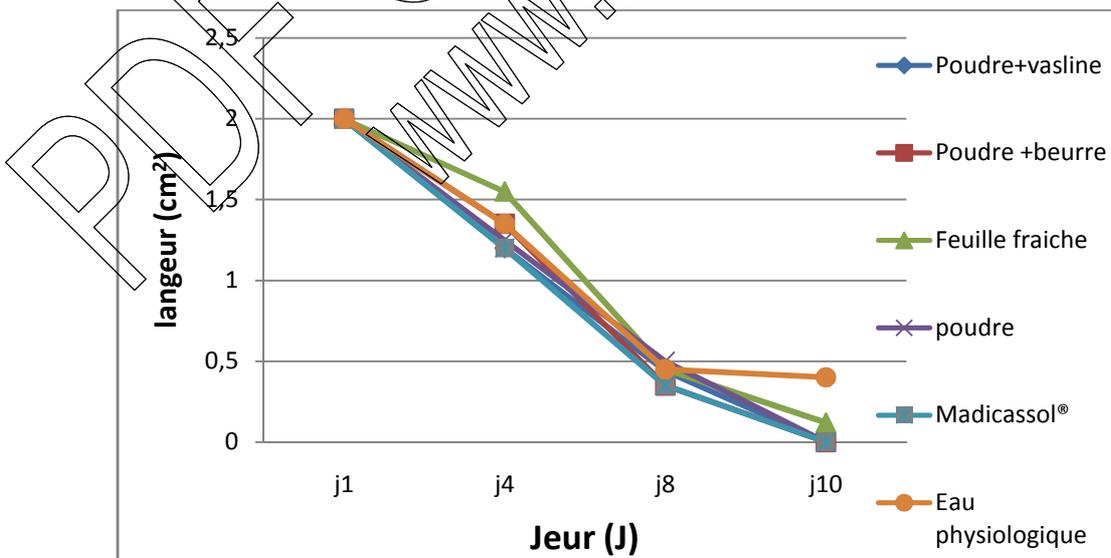


Figure22: Graphe présente l'évolution des plaies superficielles.

Les courbes ci-dessus (Figure 22) montrent que la plaie superficielle des lots traités par Madicassol®, les deux pommades (poudre+vaseline et poudre+beurre naturelle) et la poudre se cicatrisent rapidement dans le temps. En effet une cicatrisation totale a été enregistrée le 10^{ème} jour du traitement. Par contre les feuilles fraîches et le témoin négatif prennent un peu plus de temps pour la disparition totale de la plaie (11 et 13 jours).

➤ **Evaluation de l'activité cicatrisante de la plaie profonde**

Les résultats d'évolution de l'activité cicatrisante de la plaie profonde sont rassemblés dans le tableau X et la figure 23.

Tableau N°X : les moyennes des surfaces des plaies profondes chez les lapins.

traitements temps	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	Témoin positif	Témoin négatif
Le 1 ^{er} jour	4cm ²					
Le 4 ^{ème} jour	2.3	2.8	3.8	2.4	2.6	3.7
Le 8 ^{ème} jours	1.2	1.3	1.9	1.8	1.6	1.9
Le 12 ^{ème} jours	0.45	0.25	0.6	0.35	0.25	0.8
Le 15 ^{ème} jours	0.00	0.00	0.2	0.1	0.1	0.5

T₁: P. vaseline T₂: P. beurre T₃: Feuilles fraîche T₄: poudre
 Témoin positif: Madécassol® Témoin négatif: l'eau physiologique

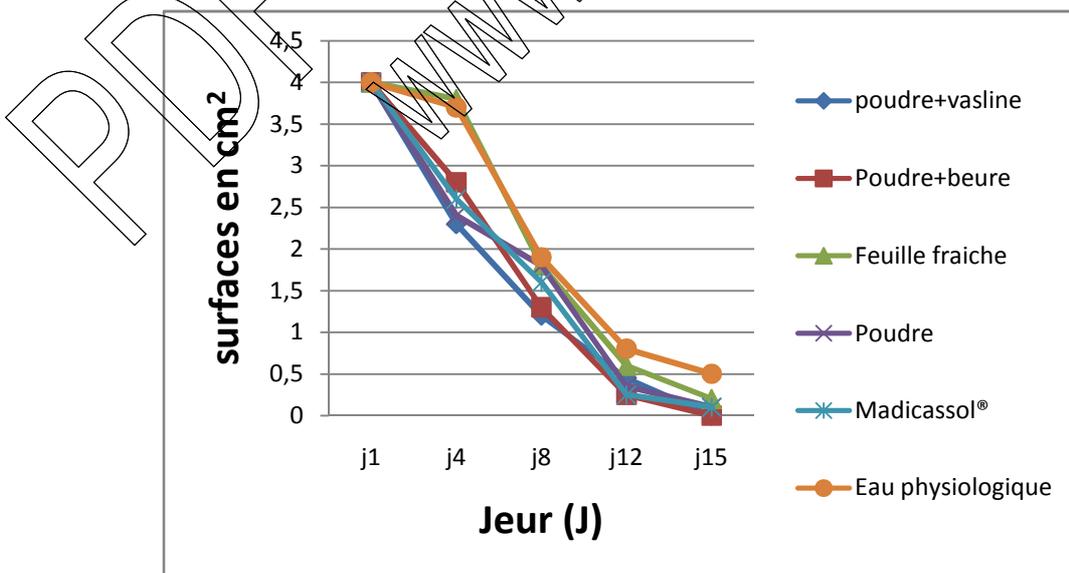


Figure 23: Graphe présente l'évolution des plaies profondes.

Selon la figure 23 nous avons constaté que la plaie profonde des lots traités par les deux pommades (poudre+vaseline et poudre+beurre naturelle) engendre une cicatrisation rapide, notamment entre le 4^{ème} et 12^{ème} jour du traitement .En effet une cicatrisation totale a été enregistrée le 15^{ème} jour du traitement. Par contre les feuilles fraîches, la poudre et les deux témoins prennent un peu de temps pour la disparition total de la plaie.



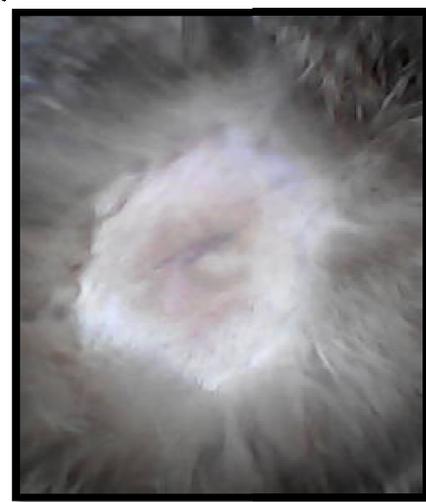
1^{er} jour



4^{ème} jour



8^{ème} jour



10^{ème} jour

Figure 24: Evaluation de l'activité cicatrisante du traitement (poudre +vaseline) sur la plaie superficielle provoquée chez les lapins.



1^{er} jour



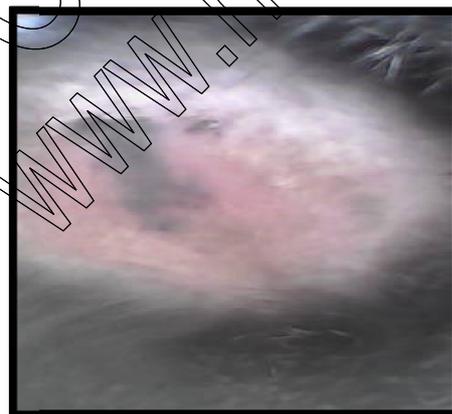
4^{eme} jour



8^{eme} jour



12^{eme} jour



15^{eme} jour

Figure 25: Evaluation de l'activité cicatrisante du traitement (poudre +vaseline) sur la plaie profonde provoquée chez les lapins.

▪ Discussion

Notre étude basée sur l'évaluation de l'activité cicatrisante testée sur des lapins auxquels nous avons provoqué deux types de plaies (superficielle et profonde).

Les résultats obtenus montrent que le traitement des lapins par des produits à base du *Cytisus triflorus* a permis de souligner une activité cicatrisante remarquable et comparable à ceux trouvés par un produit de référence Madicassol®.

D'après l'étude ethnobotanique effectuée, 41% de la population ont confirmé l'effet cicatrisant des feuilles de *Cytisus triflorus* et son usage courant sur les différents problèmes de peau. Ce qui est en accord avec les résultats que nous avons trouvés.

Selon (Isrin, 2001) les tanins et les phénols possédant un effet cicatrisant, puisque notre plante contient les tanins, cela peut expliquer l'activité cicatrisante de *Cytisus triflorus*.

PDF Create! 4 Trial
www.nuance.com

ANNEXE

ANNEXE III

❖ Extraction des alcaloïdes

verrerie et petite matériel	Equipement et appareils	produit chimiques
Ampoule à décanter	Agitateur magnétiques	acide chlorhydrique(HCl)
Ballon à col rodé	Balance analytique	Ammoniac concentré à 28%(NH ₄ OH)
Baron magnétique	Etuve	Chloroforme(CHCl ₃)
Entonnoir	Rotavapeur	Ether de pétrole (CH ₃ -(CH ₂) n-CH ₃)
Eprouvettes	PH mètre	Réactif Mayer.
Erlenmeyer		Sulfate anhydre de sodium(Na ₂ SO ₄)
Papier pH		
Papier filtre		
Pipettes pasteur		
Tubes à essai		
Papier aluminium		
Bicher		

ANNEX IV

❖ Effet antimicrobien

1-matériel

- Les boîtes de pétrie
- Les couvions
- Pipette de pasteur
- Bec benzène
- Les seringues 1ml
- Les tubes stériles
- L'étuve
- Crayon marqueur
- L'eau physiologie
- Pied à coulisse
- Agitateur

2 -les milieux de culture

- Mueller Hinton gélosé
- Sabouraud gélosé

3-les souches utilisées

Tableau I : les souches utilisées pour l'effet anti microbien.

	Les Bactéries	Les Champignons
E	<i>Escherichia coli</i>	<i>Penicillium</i>
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Aspergillus niger</i>
S	<i>Salmonella Typhi</i>	<i>Aspergillus terreus</i>
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Candida albicans</i>

ANNEX V

❖ Effet cicatrisant

➤ Matériel

- Moulin électrique
- Balance analytique
- Balance pour animaux
- Pied à coulisse
- Matériel chirurgie, pair de ciseaux, lame, sparadrap, alcool 70%
- Plante sèche (poudre) 10g
- Vaseline 40g
- Beurre naturelle 40g
- Plante fraîche 10g
- Madicassol ®
- L'eau physiologie
- Les lapins

PDF Create! 4 Trial
www.nuance.com