

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de BLIDA 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biotechnologie



Mémoire de Fin d'Études en Vue de l'Obtention du Diplôme de Master Académique en
Science de la Nature et de la Vie

Option : *Système de Production Agro-Ecologique*

Thème

**Étude phyto-chimique de *Teucrium polium geyrii* Maire
« Chendgoura » de la région du Hoggar.**

Présenté par :

OUMEDDI NAZIHA

BENKESSIRAT NESRINE

Devant le jury composé de :

M ^{me} MOUAS Y.	MCB	Blida-1-	Présidente
M ^r HAMIDI Y.	Attaché de recherche	Blida-1-	Examineur
M ^{me} BEN REBIHA F.Z.	Professeur	Blida-1-	Promotrice
M ^{me} LAKEHAL S.	Attachée de recherche	Blida-1-	Co-promotrice

BLIDA le 14 Juillet 2019

Remerciement

A terme de ce travail, nous tenons à remercier **ALLAH** le miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'achever ce travail.

Nous tenons à présenter nos profondes gratitude et nos sincères remerciements à tous les membres du Jury :

Notre présidente M^{me} **MOUASY** maître de conférences B à l'université de Blida.

Et Mr **HAMIDI.Y** Attaché de recherche à l'université de Blida, d'avoir accepté d'examiner notre travail.

A notre promotrice M^{me} "**BEN REBIHA.F/Z**" professeur au département des biotechnologies d'avoir encadré et dirigé ce travail et à M^{me} "**LAKEHALS**" pour son encadrement.

Nous tenons à exprimer nos remerciements à tous les enseignants qui ont contribué à notre formation durant tout notre cursus, de près ou de loin et à M^{me} **KARIMA** technicienne du laboratoire d'amélioration des plantes.

Nous voudrions exprimer nos remerciements les plus sincères au technicien de laboratoire du *CFPA Sidi Abdelkader Blida* Mr "**BOUAMRANE**" pour son accueil chaleureux et son soutien tout au long de notre stage, ainsi qu'à toute l'équipe du laboratoire *Venus*.

Dédicace

Du profond de mon cœur, je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers :

À mes parents..

Mon père, école de mon enfance....

Ma mère, celle qui m'a donné la vie, et qui s'est sacrifié pour ma réussite.

Qu'Allah vous garde en bonne santé..

À mon cher frère " ABDENNOUR ", pour son appui et son encouragement,

À ma chère sœur "ASMA", pour sa présence et son soutien moral.

À toute la famille "OUMEDDI" et la famille "DANOUNE"

À ma chère binôme "NESRINE", sa jumelle " YASMINE " et toute sa famille.

À toutes mes cousines spécialement "SABRINE" et "NESRINE" et tous mes amis :

DOUNIA, KHADIDJA, MERIEM, FELLA, HMIDA, ISMAIL.

À tous ceux qui m'aiment.

NAZIHA

Dédicace

Je dédie mon travail à mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leurs amours, leurs tendresses, leurs soutiens et leurs prières tout au long de mes études.

À ma chère sœur jumelle "YASMINE" et ma petite sœur adorée "IKRAM", pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral.

À mon cher frère "NABIL", pour sa présence et son encouragement.

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux et le fruit de votre soutien infailible.

Merci d'être toujours là pour moi.

Mes dédicaces sont également adressées à ma chère binôme "NAZIHA" et toute sa famille.

NESRINE

Résumé

Etude phyto-chimique de *Teucrium polium geyrii* Maire « Chendgoura » de la région du Hoggar.

Les plantes médicinales constituent une source immense de molécules bioactives dotées de nombreuses activités. Parmi ces plantes, on trouve *Teucrium polium geyrii* Maire qui appartient à la famille des lamiaceae.

L'objectif de notre travail est de réaliser une étude phytochimique des extraits qui contiennent des flavonoïdes de la partie aérienne de notre plante, récoltée de la région de Tamanrasset, dans le but de mettre en évidence, *in vitro*, les propriétés antibactériennes de ces extraits par la méthode de diffusion des disques sur milieu gélosé.

Les résultats se sont révélés actifs sur une ou plusieurs bactéries.

Les deux extraits (Hétérosides flavoniques/ flavones-flavonols, acide phénols) ont montré une activité antibactérienne plus élevée sur *Bacillus subtilis*, avec des zones d'inhibition de 26 ± 5.2 mm et 30 mm respectivement.

Cette importante activité s'est manifestée sur *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus* avec une CMI de 0,4 mg/ml.

L'extrait Hétérosides flavoniques a révélé une activité significative sur *Escherichia coli* égale à 11 ± 1.73 mm par rapport au 2^{ème} extrait (flavones-flavonols, acides phénols) qui s'est montrée résistante.

Les analyses physico chimiques ont montré que l'indice de réfraction des deux extraits est faible (1.4748/1.4716), ce qui maintient leurs conservations et leurs utilisations dans le domaine cosmétique.

Mots clés : *Teucrium polium geyrii* Maire, Lamiaceae, Etude phytochimique, activité antibactérienne, extrait (Hétérosides flavoniques/ flavones-flavonols, acide phénols).

Résumé

دراسة نباتية كيميائية لنبتة *Teucrium polium geyrii Maire* «الجعدة» من منطقة الهقار.

تشكل النباتات الطبية مصدرا كبيرا للجزيئات النشطة بيولوجيا التي تدخل في عدة أنشطة، من بين هذه النباتات نجد *Teucrium polium geyrii Maire* التي تنتمي إلى عائلة Les Lamiaceae.

الهدف من بحثنا هو إجراء دراسة كيميائية نباتية للمستخلصات التي تحتوي على مركبات Les flavonoïdes للقسم الهوائي من هذه النبتة، وهذا من أجل إبراز الخصائص المضادة للبكتيريا لهذه المستخلصات مخبريا بطريقة نشر الأقراص في وسط جيلوزي.

بينت النتائج أنها إيجابية ضد واحدة أو أكثر من معظم البكتيريا المستعملة في التجربة.

أظهر المستخلصان (Hétérosides flavoniques/ flavones-flavonols, acide phénols) نشاطاً مضاداً قويا ضد البكتيريا مع مناطق تثبيط تبلغ 5.2 ± 26 و 30 ميليمتر على التوالي، وبتركيز مثبط أدنى ضد *Bacillus subtilis* و *Staphylococcus aureus* يبلغ 0,4 مغ/مل.

كشفت مستخلص Hétérosides flavonique نشاطاً مهماً ضد بكتيريا *Escherichia coli* بمنطقة تثبيط قدرها 1.73 ± 11 ملم، مقارنة بالمستخلص الثاني (flavones-flavonols, acides phénols) التي أثبتت مقاومتها ضده.

أظهرت التحليلات الفيزيائية والكيميائية أن معامل انكسار الضوء للمستخلصين منخفض (1.4716 / 1.4748) ، وهذا ما يضمن حفظها واستخداماتها في مجال مستحضرات التجميل.

الكلمات المفتاحية : نبتة *Teucrium polium geyrii Maire*، عائلة Les Lamiaceae، دراسة كيميائية نباتية، الخصائص المضادة للبكتيريا، المستخلصان (Hétérosides flavoniques/ flavones-flavonols, acide phénols) .

Abstract

PHYTO-CHEMICAL STUDY OF *Teucrium polium geyrii* Maire « Chendgoura » OF THE HOGGAR REGION.

Medical plants are a major source of biologically active molecules that are involved in several activities. Among these plants is the *Teucrium polium geyrii* Maire belonging to the Lamiaceae family.

The aim of our work is to conduct a chemical study of the extracts containing the flavonoïdes compounds of the antenna section of this plant, in order to highlight the antibacterial properties of these extracts in a laboratory manner by spreading the disks in the center of glycoseccharide.

The results were positive against one or more of the majority of bacteria used in the experiment.

The extracts (Hétérosides flavoniques / flavones-flavonols, acide phénols) showed a higher antibacterial activity against *Bacillus subtilis* with 26 ± 5.2 and 30 mm inhibitors, respectively, with a minimum inhibitor concentration against *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus* of 0.4 mg / ml.

Hétérosides flavoniques extracts an important activity against *Escherichia coli* in a 11 ± 1.73 mm inhibitory region, compared to the second extract (flavones-flavonols, acides phénols) which have been shown to be resistant to it.

Physical and chemical analysis showed that the light refractive index of the extract is low ($1.4748 / 1.4716$), which ensures its conservation and its use in cosmetics.

Key words : *Teucrium polium geyrii* Maire, Lamiaceae family, chemical and botanical study, antibacterial properties, The extracts (Hétérosides flavoniques / flavones-flavonols, acide phénols).

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION.....	1
-------------------	---

CHAPITRE 1 : DONNEES GENERALES SUR LA PLANTE

1. Etude Botanique de la plante étudiée.....	3
1.1. Les lamiaceae.....	3
1.2. Description de l'espèce <i>Teucrium polium geyrii Maire.</i>	3
1.3. Systématique.....	4
1.4. Nomenclature.....	4
1.5. Répartition géographique.....	5
1.6. Utilisation de la plante.....	5
2. Les métabolites secondaires.....	6
2.1. Les composés phénoliques.....	7
2.1.1. Biosynthèse des composés phénoliques	9
2.1.2. Les flavonoïdes.....	10
2.1.3. Biosynthèse des flavonoïdes	10
2.1.4. Propriétés biologiques des polyphénols	12
3. Activité antibactérienne.....	13

CHAPITRE 2 : MATERIELS ET METHODES

2.1. Matériels utilisés.....	15
2.1.1. Matériel végétal	15
2.1.2. Matériel microbiologiques	15
2.2. Présentation de la région.....	16

2.3. Paramètres étudiées	17
2.3.1. Taux d'humidité.....	17
2.3.2. Extraction des flavonoïdes.....	18
2.4. Caractéristiques physico-chimiques	21
2.5. Test d'activité antibactérienne.....	22
2.5.1. La méthode de diffusion.....	23
2.5.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice.....	23
2.6. Analyses statistiques.....	24

CHAPITRE 3 : RESULTATS ET DISCUSSION

3.1. Taux d'humidité de la matière végétale	25
3.2. Caractéristiques organoleptiques	25
3.3. Paramètres physico-chimiques.....	27
3.4. Activité antibactérienne	28
3.5. La concentration minimale inhibitrice	33

CONCLUSION ET PERSPECTIVES	36
---	-----------

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	38
---	-----------

ANNEXE	47
---------------------	-----------

LISTE DES FIGURES :

Figure 1.1 : <i>Teucrium polium geyrii Maire</i>	4
Figure 1.2 : Classification de quelques métabolites secondaires.....	7
Figure 1.3 : noyau aromatique (unité de base des composés phénoliques).....	8
Figure 1.4 : Structure de l'acide shikimique (a) et acides cinamique(b).....	9
Figure 1.5 : Squelette de base des flavonoïdes.....	10
Figure 1.6 : Schéma récapitulatif de la biosynthèse des différentes classes de flavonoïdes.....	11
Figure 2.7 : Différentes étapes de la préparation de la poudre de <i>T. polium geyrii Maire</i>	15
Figure 2.8 : Carte de situation géographique de la zone d'étude.....	17
Figure 2.9 : Lot des feuilles séchées de <i>Teucrium polium geyrii Maire</i>	18
Figure 2.10 : Etapes d'extraction des hétérosides flavoniques.....	19
Figure 2.11 : Extraction des flavones-flavonols, des acides phénols.....	20
Figure 2.12 : mesure de l'indice de réfraction dans un réfractomètre.....	21
Figure 2.13 : PH mètre.....	22
Figure 2.14 : Différentes concentrations des extraits.....	24
Figure 3.15 : Le taux d'humidité des feuilles séchées de <i>Teucrium polium geyrii maire</i>	25
Figure 3.16 : extrait 1 (Hétérosides flavoniques).....	26
Figure 3.17 : extrait 2 (flavones, flavonols, des acides phénols).....	26
Figure 3.18 : Effet de deux extraits sur les différentes souches bactériennes testées.....	30
Figure 3.19 : Effet des deux extraits de <i>Teucrium Polium Geyrii Maire</i> sur les différentes souches bactériennes testées.....	31
Figure 3.20 : Résultats de CMI des extraits sur les bactéries.....	35

LISTE DES TABLEAUX :

Tableau 1.1 : Activités biologiques de quelques composés phénoliques.....	13
Tableau 2.1 : les micro-organismes testés.....	16
Tableau 3.1 : Propriétés organoleptiques des extraits.....	26
Tableau 3.2 : paramètres physico-chimiques des extraits.....	27
Tableau 3.3 : Résultats de l'activité antibactérienne.....	28
Tableau 3.4 : Résultats de la concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'extrait 1 (Hétérosides flavoniques)	33
Tableau 3.5 : Résultats de la concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'extrait 2.....	34

LISTE DES ABREVIATIONS :

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

DMSO : Diméthyle sulfoxyde.

DO : Densité optique.

HCl : Acide chlorhydrique

I_R : Indice de réfraction

N.C.L.L.S : National Committee for Clinical Laboratory Standard

Mg/ml : Milligramme par millilitre

MH : Mueller Hinton

LISTE DES ANNEXES :

Annexe 1 : matériels et solvants utilisés.....	47
Annexe 2 : Etudes statistiques.....	48
Annexe 3 : Le taux d'humidité.....	49
Annexe 4 : L'activité antibactérienne d'Extrait 1.....	49
Annexe 5 : La concentration minimale inhibitrice.....	49

Pendant fort longtemps, les plantes médicinales furent le principal recours de l'homme pour la fabrication de remèdes pharmaceutiques. En effet, les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples, mis à profit dans le système de soins traditionnels et dans les différentes industries : en alimentation, en cosmétologie et en dermatopharmacie. Parmi ces composés, on retrouve, dans une grande mesure, les métabolites secondaires (**HEBI & EDDOUKS., 2015**).

La flore algérienne comporte plusieurs espèces encore peu ou pas étudiées, mais dotées de réelles propriétés pharmacologiques (**AMAS, 1997**). Parmi elles, se trouvent des espèces médicinales, dont la plupart appartiennent à la famille des Lamiaceae bien connue possédant diverses propriétés biologiques (**EI OUALIDI et al., 1999 ; COLL et TANDRON, 2005 ; MENICHINI et al., 2009**). Ces dernières sont riches en métabolites secondaires tels que les polyphénols dont les principaux sont les flavonoïdes.

La maîtrise totale et parfaite des différentes propriétés de ces plantes, passe par la détermination de l'ensemble des groupes physicochimiques, capables d'engendrer un ou plusieurs effets pharmacologiques, est aujourd'hui un objectif qui occupe un ordre de première place (**BAHORUN, 1997**).

C'est pourquoi nous nous sommes intéressés à valoriser et exploiter cette richesse. Pour cela, notre objectif consiste à la recherche éventuelle des effets biologiques en évaluant l'analyse phytochimique fondée principalement sur la préparation des extraits (Hétérosides flavoniques et flavones flavonols, acides phénols) de la plante *Teucrium Polium geyrii Maire* de la région de Tamanrasset (Algérie), et à évaluer son activité antibactérienne vis-à-vis des bactéries pathogènes.

En Algérie, cette espèce végétale n'a pas fait l'objet d'études phytochimiques antérieures.

Ce mémoire est constitué de deux parties :

- Une première partie, consacrée à une revue bibliographique constituée notamment d'une description botanique et de la répartition géographique de *Teucrium Polium geyrii Maire*, la composition chimique et les propriétés thérapeutiques des extraits végétaux de cette espèce.
- La deuxième partie, décrit :
 - Le matériel et les méthodes consacrées à la détermination des caractéristiques physicochimiques et biologiques des extraits.
 - Etude de l'activité antibactérienne vis-à-vis de quelques souches bactériennes.
 - Détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI.
 - Les principaux résultats et leurs discussions.

Ce travail se terminera par les conclusions tirées et les perspectives.

1. Etude Botanique de la Plante Etudiée :

1.1. Les Lamiaceae :

La famille des Lamiaceae (labiales) du Latin (Labiata : lèvre) est une famille importante qui fait partie des angiospermes dicotylédones, signifiant que les fleurs ont une forme caractéristique à deux lèvres (COUPLAN, 2000 ; NAGHIBI *et al.*, 2005). Elle comprend environ 6970 espèces réparties en 240 genres (MEYER *et al.*, 2004).

La famille des Lamiaceae est très importante dans la flore algérienne, mais certains genres sont de détermination délicate en raison de la variabilité extrême des espèces (QUEZEL et SANTA, 1963). Elles sont surtout des plantes méditerranéennes (CARRUBBA *et al.*, 2006), qui ne se rencontrent guère dans la région présaharienne et dans l'étage supérieur du Hoggar, à l'exception des trois espèces *Marrubium deserti*, *Salvia aegyptiaca* et *Teucrium polium* qui sont plus largement répandues (OZENDA, 1977). Ce sont généralement des plantes herbacées vivaces odorantes, feuilles en général opposées sans stipules (PISTRICK, 2002).

1.2. Description de l'espèce *Teucrium polium geyrii* Maire :

Teucrium polium est une plante vivace souvent pérenne, velue, recouverte de poils laineux qui lui donnent une couleur grise bleutée. On trouve de très nombreuses sous espèces dont *Teucrium polium geyrii* Maire qui se distingue par quelques caractères :

- Hauteur : ne dépassant pas 20 cm.
- Feuilles : allongées, petites, dentelées sur les bords, un peu enroulés sur eux-mêmes.
- Tiges : droites, peu ramifiées.
- Fleurs : laineuses, jaunes pâles, en grappes denses à l'extrémité des tiges.
- Racines : pivotantes, marrons non ramifiées (OZENDA, 1983).



Figure1.1 : *Teucrium polium geyrii* Maire (HAMMOUDI, 2015).

1.3. Systématique :

- **Embranchement** : Spermatophytes (plantes à graine)
- **Sous embranchement** : Angiospermes (*Magnoliophyta* : plantes à fleur)
- **Classe** : Dicotylédones (*Magnoliopsida*)
- **Sous classe** : Asteridae
- **Ordre** : Lamiales
- **Famille** : Lamiacées
- **Genre** : *Teucrium*
- **Espèce** : *Teucrium polium geyrii* (QUEZEL & SANTA,1962).

1.4. Nomenclature :

- **Nom scientifique** : *Teucrium polium geyrii*
- **Nom Touarègue** : Takmazzut
- **Nom vernaculaire (arabe)** : Chand goura
- **Nom vernaculaire (Français)**: germandrée tomenteuse (HAMMOUDI, 2015)

1.5. Répartition géographique :

Teucrium polium pousse en abondance dans le sud-ouest de l'Asie, Europe et dans l'Afrique du Nord (HASANI *et al.*, 2007).

C'est une Plante méditerranéenne, Commune dans l'Atlas saharien, le Tefedest et les montagnes du Hoggar, moins fréquente ailleurs (plus rare dans le piémont, plus rare au Sahara septentrional, au Tass, des Ajjer, au Tedemait, etc.), Elle pousse surtout dans les lits pierreux des oueds et dans les roches, en altitude entre 1200 et 2600 mètres (SAHKI & SAHKI, 2004 ; OZENDA, 1979).

1.6. Utilisation de la plante :

En médecine traditionnelle africaine, cette espèce est utilisée dans les périodes de stress, car elle permet de se relaxer et de se détendre. Elle favorise le sommeil et permet également de stimuler la mémoire en augmentant la concentration. Elle possède également des propriétés antioxydantes qui permettent de lutter contre le vieillissement de la peau. (LAGNIKA, 2005).

L'extrait éthanolique du *Teucrium Polium* s'est avéré avoir des activités anti-inflammatoires, antipyrétiques et antibactériennes (JAVIDNIA & MIRI, 2003).

Teucrium polium a une action bénéfique sur la digestion, elle été utilisée (partie aérienne) dans le traitement symptomatique de bouleversements digestifs et dans des états neurotonique des adultes et des enfants, (BRUNRTON, 2001).

Plusieurs recherches ont démontré les effets pharmacologiques attachés à l'utilisation de Germandrée tomenteuse, parmi lesquelles on invoque l'action antibactérienne, anti-inflammatoire, antivirale, anti-ulcerogène, anti-nociceptive, antispasmodique, antidiabétique, diurétique, hypolipidémique, antifongique, antagoniste du calcium et cytotoxique (AUTORE *et al.*, 1984 ; ABDOLLAHI *et al.*, 2003 ; ESMAEILI & YAZDANPARAST, 2004 ; SULEIMAN *et al.*, 1988).

2. Les métabolites secondaires :

La plante est le siège d'une activité métabolique aboutissant à la synthèse des métabolites primaires et secondaires.

Un métabolite primaire est un type de métabolite qui est indispensable à l'existence de la plante, se trouve dans toutes les cellules de l'organisme d'une plante pour y assurer sa survie (**HARTMANN, 2007**).

Les métabolites secondaires sont des produits à structure chimique souvent complexe, on recense plusieurs milliers de métabolites (au moins 30000 structures caractérisées), et sont classés selon leur appartenance chimique.

Parmi ces substances, on trouve les composés phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les saponosides, les huiles essentielles et les alcaloïdes, qui ont des intérêts multiples, mis à profit dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique (**ABDERRAZAK & JOËL, 2007**).

L'activité de ces substances dépend principalement de leur nature chimique et de leur concentration (**BODAS et al., 2008**).

Ce groupe de molécules intervient dans l'adaptation de la plante à son environnement ainsi que la régulation des symbioses et d'autres interactions plantes-animaux, la défense contre les prédateurs et les pathogènes. (**JUDD et al., 2007**).

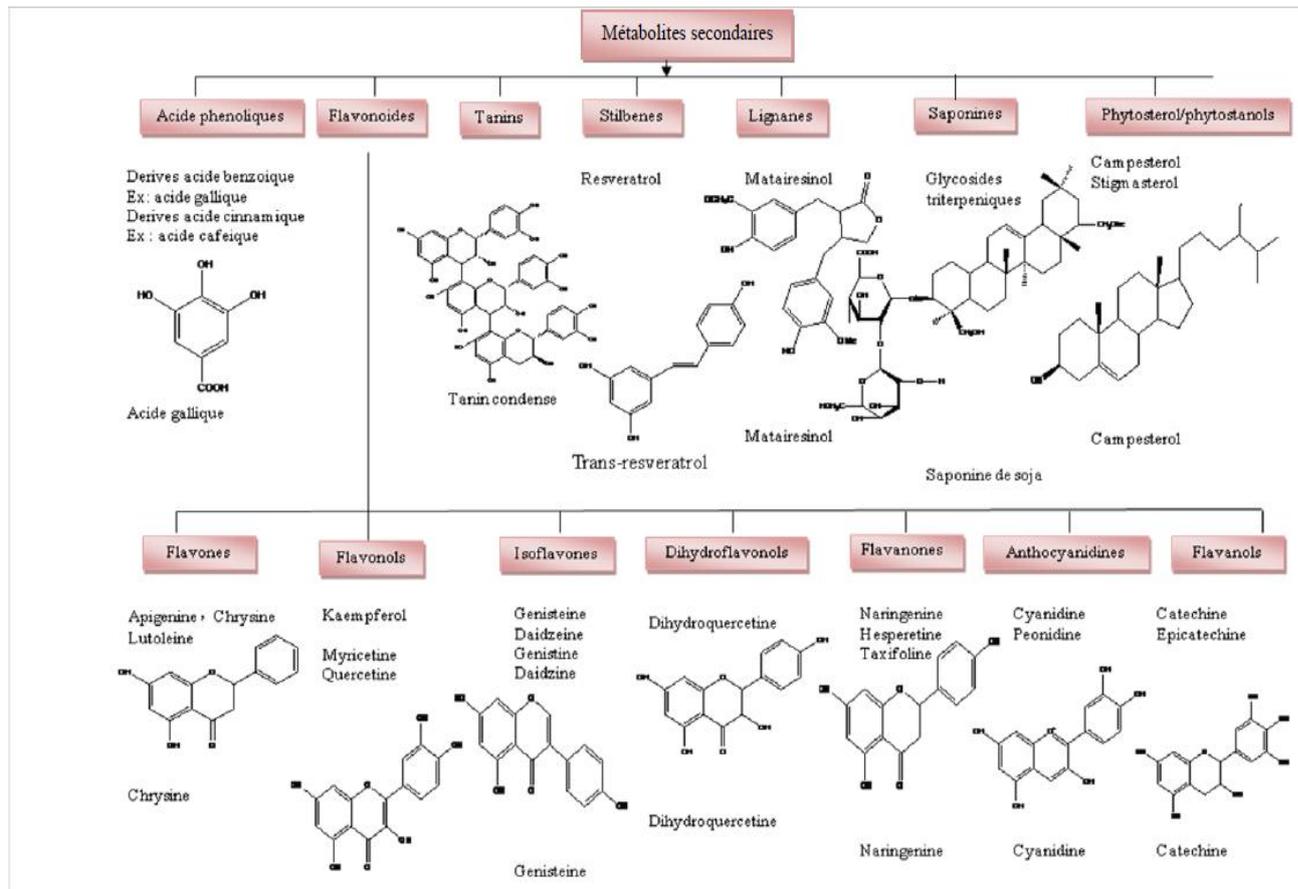


Figure1.2 : Classification de quelques métabolites secondaires (MUANDA, 2010).

2.1. Les composés phénoliques :

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires végétaux, on les rencontre dans les racines, les feuilles, les fruits et l'écorce.

La couleur et l'arôme, ou l'astringence des plantes dépendent de la concentration et des transformations des phénols.

Leur répartition qualitative et quantitative est inégale selon les espèces, les tissus et les stades physiologiques (URQUIAGA et LEIGHTON, 2000).

C'est une vaste classe de substances organiques cycliques très variées, qui dérivent du phénol C_6H_5OH qui est un mono-hydroxybenzène, ils se caractérisent par la présence d'un noyau benzénique, portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles libres ou engagées dans une fonction sous forme d'esters, éthers ou plus généralement d'hétérosides (MANALLAH, 2012).

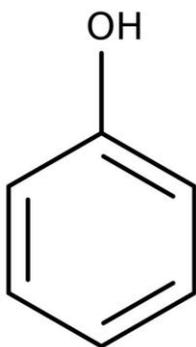


Figure 1.3 : noyau aromatique (unité de base des composés phénoliques) (MACHEIX *et al.*, 2005).

La structure des composés phénoliques naturels varie depuis les molécules simples (acides phénoliques simples) vers les molécules les plus hautement polymérisées (tanins condensés). Avec plus de 8000 structures phénoliques identifiées (URQUIAGA *et* LEIGHTON, 2000) ils correspondent à une très large gamme de structures chimiques et constituent un bon témoin de l'extraordinaire capacité de biosynthèse des plantes, qui permet à l'homme de les utiliser dans des domaines variés (SARNI-MANCHADO *et* CHEYNIER, 2006).

Les composés phénoliques peuvent constituer des signaux de reconnaissance entre les plantes leur permettant de résister aux diverses agressions vis-à-vis des organismes pathogènes. Ils participent de manière très efficace à la tolérance des végétaux à des stress variés, donc ces composés jouent un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel.

En plus de leur activité antioxydante, ces composés sont doués également de propriétés antivirales et antibactériennes.

D'un point de vue thérapeutique, ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve dans les plantes médicinales.

Les polyphénols suscitent depuis une dizaine d'année un intérêt croissant de la part des nutritionnistes, des épidémiologistes, des industriels de l'agro-alimentaire et des consommateurs (MACHEIX *et al.*, 2005).

2.1.1. Biosynthèse des composés phénoliques :

Les composés phénoliques sont principalement synthétisés par la grande voie d'aromagenèse : la voie du Shikimate, et celle de l'acétate à partir des hydrates de carbone. Celles de l'acide shikimique conduisant après trans-amination et désamination aux acides cinnamiques et à leurs dérivés, et celles de l'acétate conduisant aux poly-cétoesters ou polyacétates (malonate), ce qui permet de différencier deux classes de composés phénoliques : les flavonoïdes et les non-flavonoïdes (**K. CHIRA et al., 2008**).

- **La voie de Shikimate :**

C'est souvent la voie de biosynthèse des composés aromatiques, elle joue un rôle essentiel pour contrôler le métabolisme de la voie de phényl-propanoïde. La voie de l'acide shikimique conduit aux acides cinamiques et à leurs dérivés : acides benzoïques, phényl-propanoïques, acétophénones, coumarines, lignanes et lignines (**Figure 1.4**) (**YAO et al., 1995**).

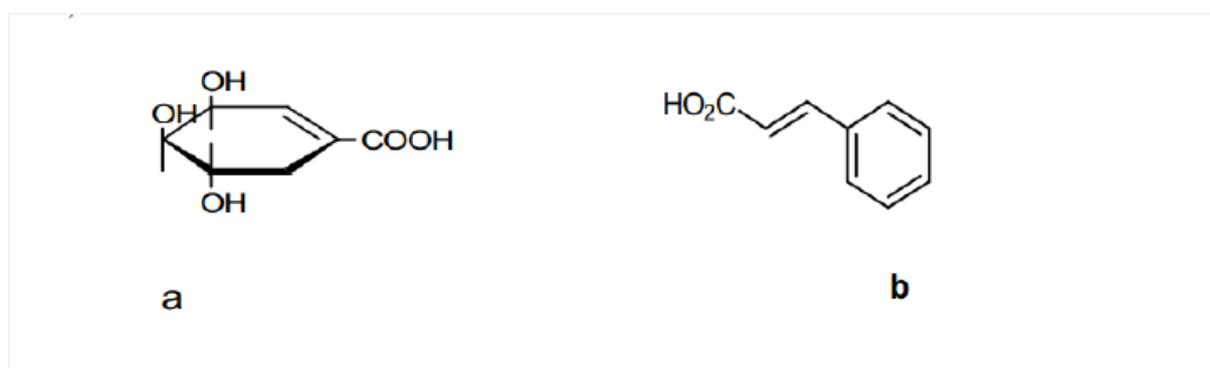


Figure1.4 : Structure de l'acide shikimique (a) et acides cinamiques (b) (**YAO et al., 1995**).

- **La voie de l'acétate / malonate :**

La glycolyse et la β -oxydation aboutissent à la formation de l'acétylCoA donnant le malonate. C'est à travers cette voie que s'effectue la cyclisation des chaînes poly cétoniques, obtenues par condensation répétée d'unités « Acétate » qui se fait par carboxylation de l'acétylCoA. Cette réaction est catalysée par l'enzyme acétyl-CoA carboxylase (**AKROUM, 2010**).

2.1.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés poly phénoliques comprenant 15 atomes de carbone formant une structure C6-C3-C6. (**figure1.5**)

Ce sont les composés les plus abondants parmi tous les composés phénoliques. On les retrouve dans toutes les plantes vasculaires, dans divers organes : racine, tiges, feuilles et fruits (**BRUNETON, 1999**).

Ils sont synthétisés au niveau du chloroplaste et participent à la phase lumineuse de la photosynthèse comme transporteurs d'électrons, certains quittent le chloroplaste et s'accumulent dans les vacuoles (**ELICOH-MIDDLETON, 2000**).

Ils ont des rôles variés dans les plantes en tant que métabolites secondaires, étant impliqués dans les processus de défense contre les UV, la pigmentation, la stimulation des nodules de fixation de l'azote et la résistance aux maladies par exemple (**K. CHIRA et al., 2008**).

2.1.3. Biosynthèse des flavonoïdes :

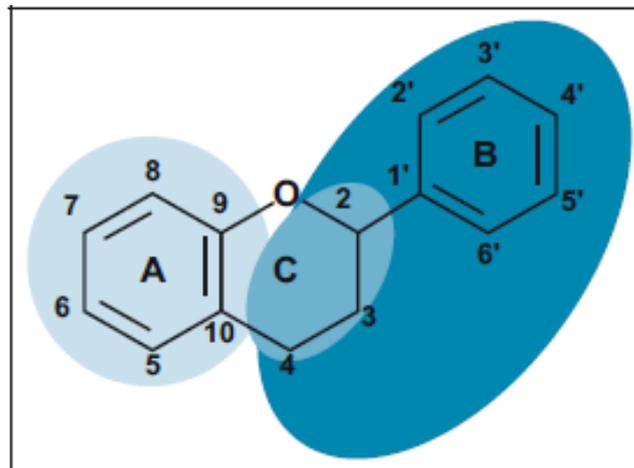


Figure1.5 : Squelette de base des flavonoïdes (**K. CHIRA et al., 2008**).

Tous les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune.

La structure en C6-C3-C6 est le produit des deux voies de synthèse des composés phénoliques (**figure1.5**). le noyau B et le pont carboné constituant une unité phenylpropanoïde synthétisée à partir de la phénylalanine provenant de la voie de l'acide shikimique, alors que le noyau A vient de la condensation de 3 motifs acétate via la voie de l'acide malonique. La fusion de ces deux parties implique la condensation d'un phenylpropanoïde, le 4-coumaryl, avec 3 malonyl CoA donnant chacun 2 atomes de carbone. La réaction est catalysée par la chalcone synthase, donnant ainsi le tétrahydrochalcone, qui va à son tour donner tous les flavonoïdes. (K. CHIRA *et al.*, 2008).

Il existe plusieurs groupes de flavonoïdes, dont les principaux sont : les flavones, les flavonols, les flavan-3-ols, les isoflavones, les anthocyanes et les anthocyanosides (**figure1.6**)

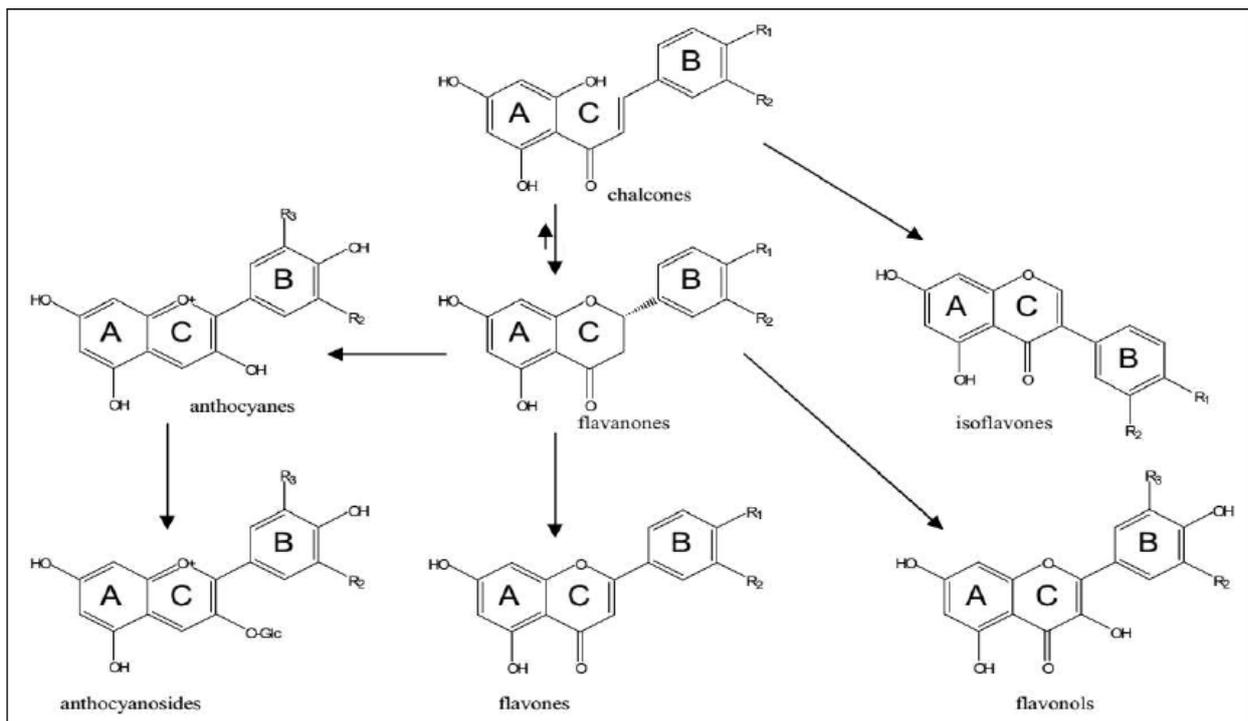


Figure1.6 : Schéma récapitulatif de la biosynthèse des différentes classes de flavonoïdes (WINKEL-SHIRLEY, 2001).

2.1.4. Propriétés biologiques des polyphénols:

Les recherches récentes sur les composés phénoliques en générale et les flavonoïdes en particulier sont très poussées en raison de l'importance de leurs divers propriétés physiologiques comme : les activités antiallergique, anti-arthérogenique, anti-inflammatoire, hépato-protective, antimicrobienne, antivirale, antibactérienne, anticarcinogénique, anti-thrombotique, cardioprotective et vasodilatatoire (**KSOURI et al., 2007**).

Les effets bénéfiques des polyphénols intéressent particulièrement deux domaines : la phytothérapie et l'hygiène alimentaire (**LEONG et SHUI, 2002**).

Des études multiples ont démontré l'impact positif de la consommation de polyphénols sur la santé et la prévention des maladies, la majorité des industriels commercialisent actuellement des aliments enrichis en polyphénols ou des suppléments alimentaires.

Ils jouent un rôle très important dans le traitement du diabète (inhibant l'aldose réductase), de la goutte (inhibant la xanthine oxydase), des inflammations (inhibant la lipoxigenase, la phospholipase et la cyclooxygenase), des hépatites, des tumeurs, de l'hypertension (quercétine), des thromboses (flavonols), des allergies et des affections bactériennes et virales (anti-HIV) (**YAO et al., 2004**).

Tableau1.1 : Activités biologiques de quelques composés phénoliques.

Polyphénols	Activités
Acide phénols (cinnamiques et benzoïques)	Anti-bactériennes Anti-fongiques Anti-oxydantes
Coumarines	Protectrices vasculaires et antioedémateuses
Flavonoides	Anti-tumorales Anti-carcinogènes Anti-inflammatoires Hypotenseurs et diurétiques Anti-oxydantes
Anthocyanes	Protectrices capillaro-veineux
Proanthocyanidines	Effet stabilisant sur le collagène Anti-oxydantes Anti-tumorales Anti-fongiques Anti-inflammatoires
Tanins galliques et catéchiques	Anti-oxydants

(BAHROUN, 1997)

3. Activité antibactérienne :

L'activité antibactérienne des extraits à base des plantes médicinales se trouve à la base des médecines dites alternatives, De ce fait, la découverte de nouvelles molécules possédant une activité anti-infectieuse, sans toutefois, être compétitives avec les antibiotiques déjà existants, serait plus appréciable.

Une des stratégies possibles adoptées pour la découverte d'un nouveau remède anti infectieux : consiste en la recherche à partir des plantes supérieures, des composés ayant une activité chimio thérapeutique supplémentaire, avec une structure largement différente de ceux en cours d'utilisation (KAUFMANN, 1997).

La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques. La prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces agents peut entraîner la sélection de souches multi résistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers la découverte de nouvelles voies qui constituent une source d'inspiration de nouveaux médicaments à base des plantes (**BILLING et SHERMAN, 1998**).

Les polyphénols notamment les flavonoïdes et les tannins sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes. Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrases) ou d'autres interactions pour inactiver les adhésines microbiennes, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire (**COWAN, 1999**).

Plusieurs études, *in vitro* et *in vivo*, ont été focalisées sur l'évaluation des propriétés antimicrobiennes des polyphénols. A l'heure actuelle, cet effet est certain, démontré par de nombreuses recherches expérimentales. Les études du pouvoir inhibiteur des flavonoïdes sur la croissance bactérienne ont démontré que de nombreux composés flavoniques (apigénine, kaempferol et d'autres) sont doués d'un effet important sur différentes souches bactériennes à Gram négatif (*Escherichia coli*) et Gram positif (*Staphylococcus aureus*) (**ULANOWSKA et al., 2007**).

2.1. Matériels utilisés :

2.1.1. Matériel végétal :

L'étude a été réalisée sur des feuilles et des tiges du *Teucrium Polium Geyrii Maire* récoltées au mois d'Avril 2018 dans la wilaya de **TAMANRASSET**.

- **Préparation des échantillons :**

Les échantillons de la partie aérienne (tiges et feuilles) de la plante *T.polium geyrii Maire* sont nettoyés et séchés à l'ombre et à température ambiante.

Après séchage, la plante a été broyée et tamisée pour obtenir une poudre, puis stockée soigneusement dans un endroit sec en vue des analyses ultérieures (**Figure.2.7**).



Figure2.7 : Différentes étapes de la préparation de la poudre de *T. polium geyrii Maire*.

2.1.2. Matériel microbiologiques :

L'activité antibactérienne des extraits étudiés a été effectuée au niveau du **Centre de la Formation Professionnelle et d'Apprentissage CFPA Sidi Abdelkader Blida**.

Les souches testées ont été fournies par le **Laboratoire de Biologie des Systèmes Microbiens (LBSM)** qui se situe à l'Ecole Normale Supérieure de **KOUBA**, Alger.

Tableau2.1 : les micro-organismes testés.

Coloration de Gram	Les souches bactériennes	Référence
Bactérie Gram (-)	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853
	<i>Klebsiella pneumoniae 1</i>	ATCC 700603
	<i>Klebsiella pneumoniae 2</i>	ATCC 27888
Bactérie Gram (+)	<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 66333
	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 43 300

2.2. Présentation de la région :

- **Localisation géographique :**

La récolte a été faite dans la région de Tamanrasset, située dans l'extrême sud de l'ALGERIE comprise entre les longitudes 0°15' et 10°15' Est, et entre les latitudes 18°43' et 29°03' Nord, sa superficie s'étend sur environ 557906,25 km². Elle est située à 2 000 km au Sud de la capitale Alger. La wilaya de Tamanrasset est limitée par :

La Wilaya de Ghardaïa au Nord-ouest .

La wilaya d'Ouargla au Nord-est

La Wilaya d'Illizi à L'Est

La Wilaya d'Adrar à l'Ouest

Le Mali au sud-ouest

Le Niger au Sud-est. (BOUSBOULA,2013)

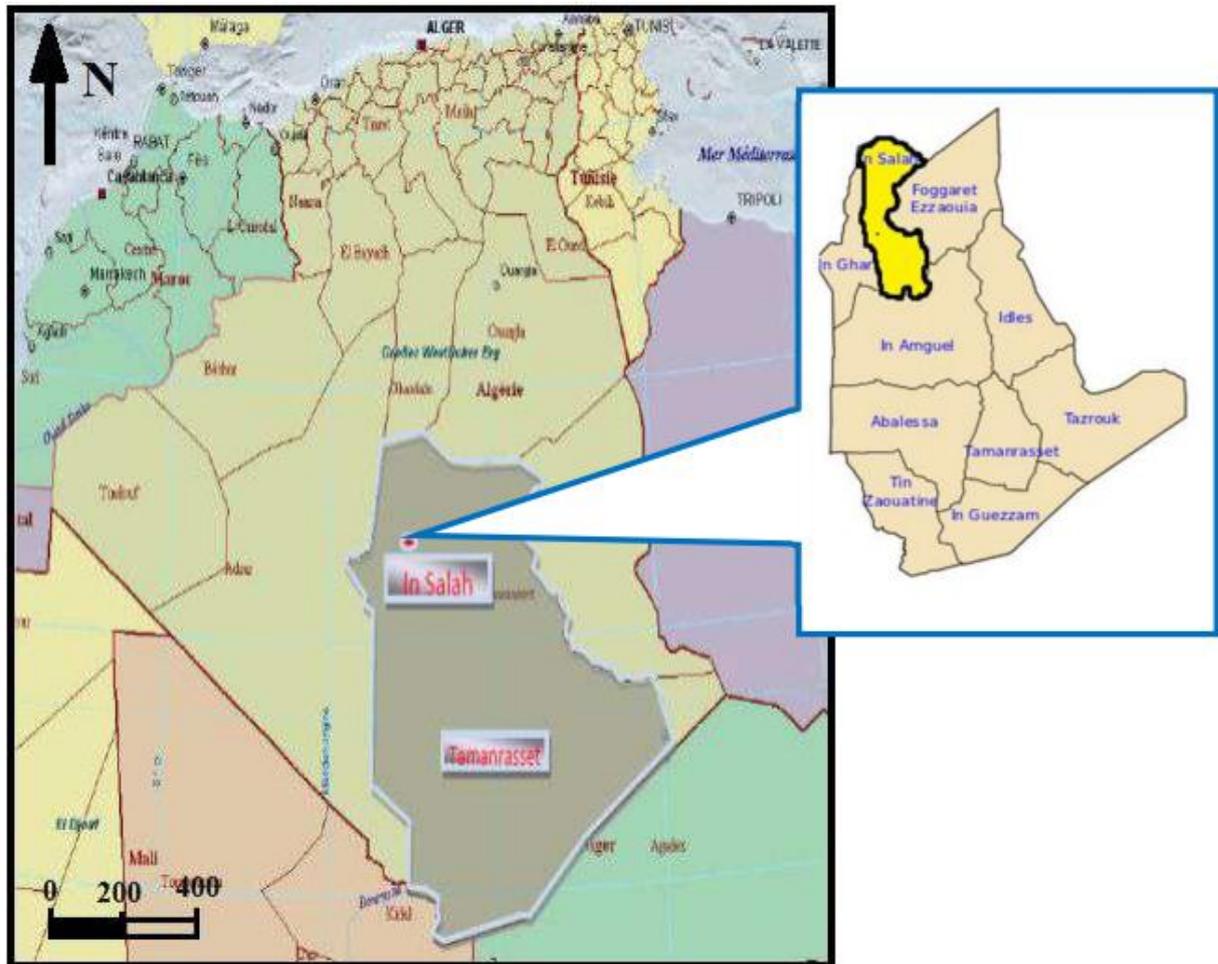


Figure2.8 : Carte de situation géographique de la zone d'étude (BOUSBOULA,2013).

2.3. Paramètres étudiées :

2.3.1. Le taux d'humidité :

➤ Principe :

Le taux d'humidité consiste à une perte de poids par dessiccation. La détermination du taux d'humidité a été effectuée par la méthode à l'étuve selon ISO,2016.

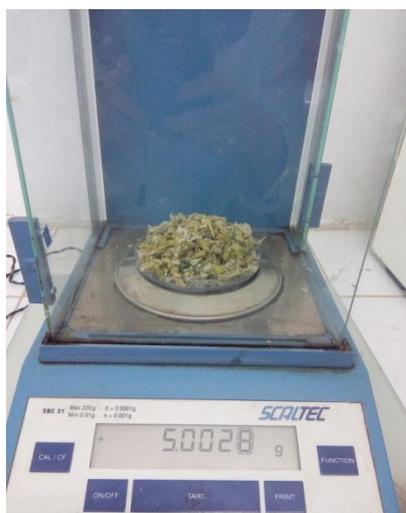
➤ **Mode opératoire :**

Figure 2.9. Lot des feuilles séchées de *Teucrium polium geyrii* Maire.

Pour cela, des capsules contenant une masse de $5 \text{ g} \pm 0,01\text{g}$ de feuilles séchées des différents échantillons ont été mises dans une étuve à $105 \pm 5^\circ\text{C}$ pendant 24 heures. A la sortie de l'étuve, les capsules sont refroidies dans un dessiccateur. La pesée est réalisée chaque 3 heures jusqu'à l'obtention d'un poids constant. La moyenne des pertes en poids est calculée et le taux d'humidité est déterminé par la formule suivante:

$$H = \frac{P_i - P}{P_i} \times 100$$

H : Taux d'humidité (%).

P_i : Masse de l'échantillon avant séchage en étuve (g).

P : Masse de l'échantillon après séchage en étuve (g).

2.3.2. Extraction des flavonoïdes :

- **Extraction des Hétérosides flavoniques :**

La masse choisie est de 1 g de poudre de plante, elle est macérée dans 100 ml d'éthanol à 70° pendant 48h à température ambiante et à l'obscurité, ensuite le macérât a subi une évaporation à sec avec un rota vapeur.

La récupération du résidu sec a été faite avec 100 ml d'eau distillée bouillante, ensuite le mélange est refroidi.

Dans une ampoule à décanter, on introduit le mélange avec 50 ml de n- butanol.

Le résultat observé montre deux phases : l'hypophase aqueuse éliminée, et l'épiphase butanolique qui contient les Hétérosides flavoniques, ce dernier est évaporé à sec sous hotte ventilée et récupéré avec le DMSO (**HARBORNE, 1973**).

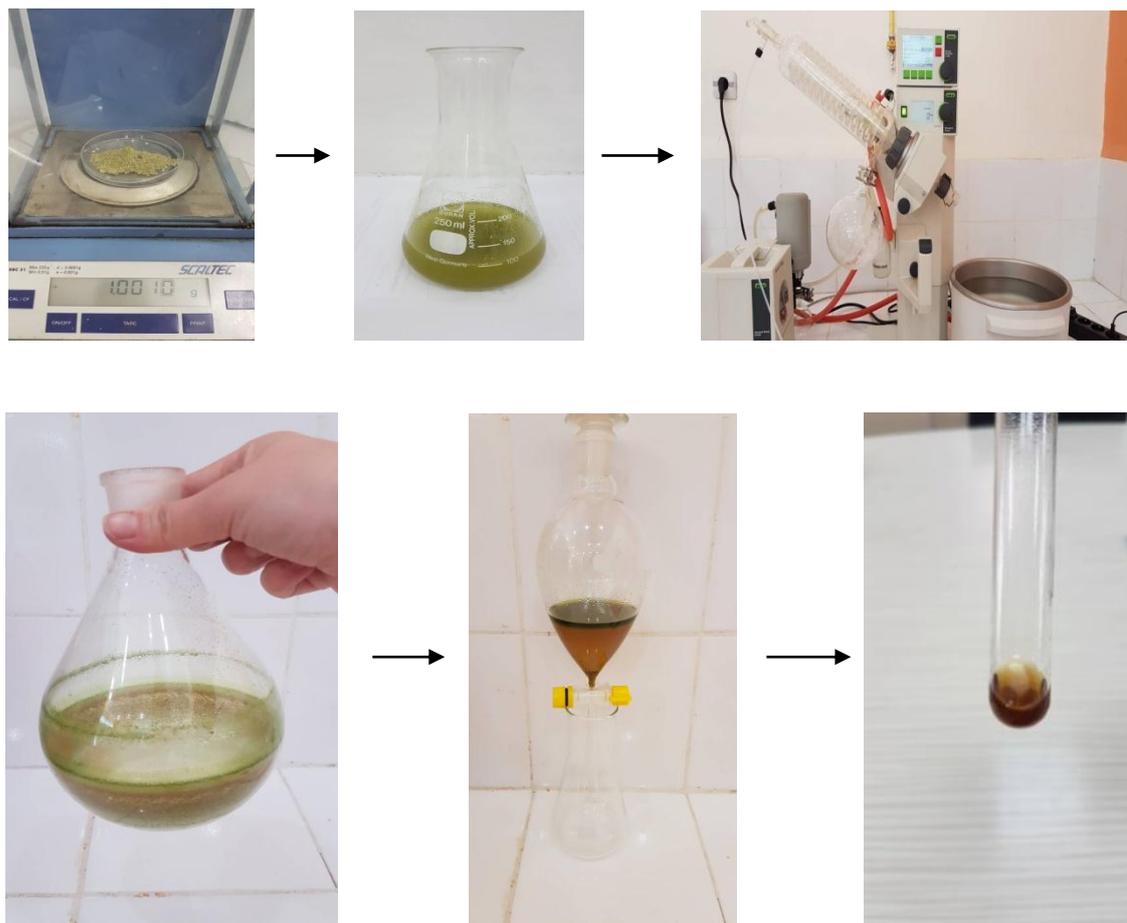


Figure2.10 : Etapes d'extraction des hétérosides flavoniques

- **Extraction des flavones-flavonols, acides phénols :**

La masse choisie est de 1 g de poudre végétale mélangée avec 80 ml d'HCL à 2N. On met ce mélange dans un bain-marie à 40°C pendant 40 mn.

L'Hydrolysate obtenue a été mis dans une ampoule à décanter avec 150 ml d'éther diéthylique pendant 1h et 30 mn.

Le résultat observé montre deux phases : l'hypophase acide et l'épiphase étherée, cette dernière est récupérée avec le DMSO (flavones-flavonols et acides phénols) (LEBRETON *et al.*, 1967).

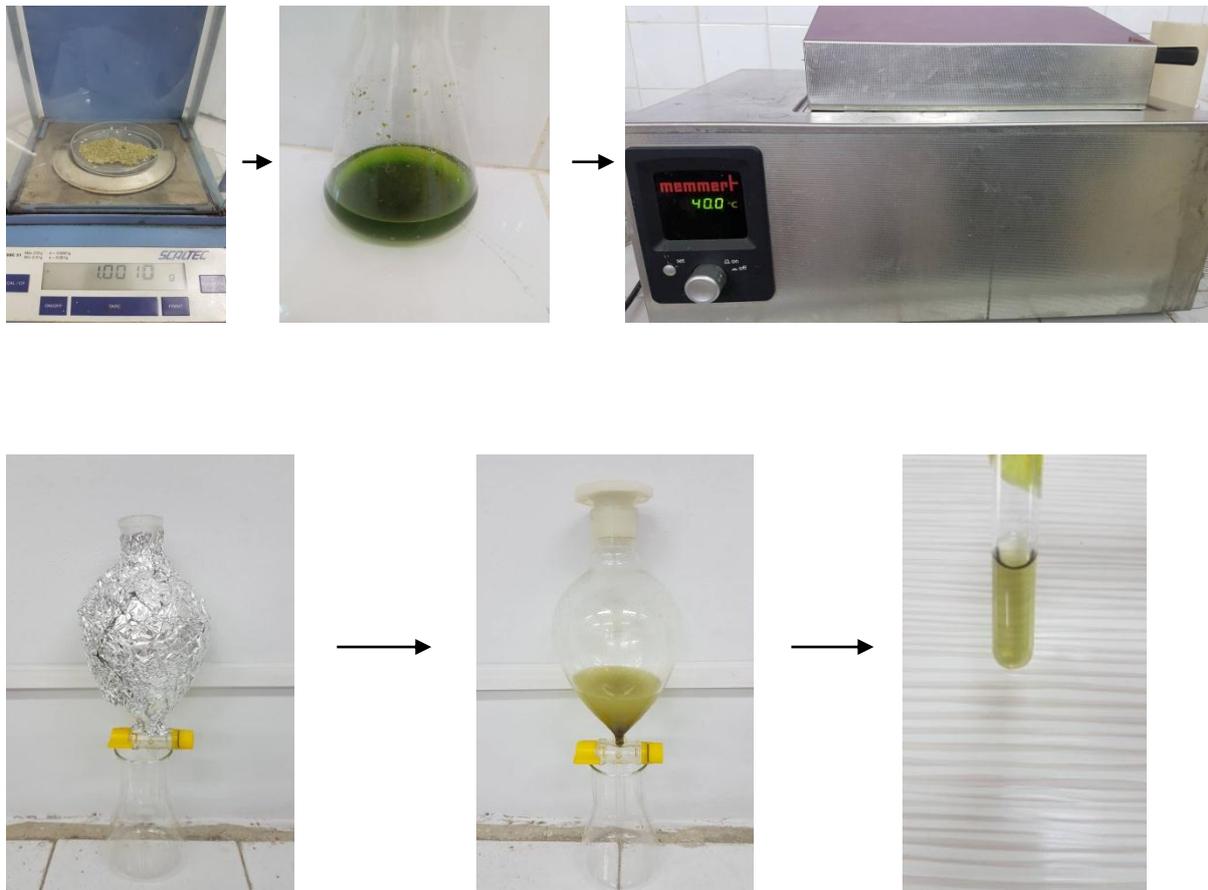


Figure2.11 : Extraction des flavones-flavonols, des acides phénols.

2.4. Caractéristiques physico-chimiques :

Ces analyses ont été réalisées au niveau du **Laboratoire Venus Blida**.

Les propriétés physiques des extraits se résument en leur indice de réfraction, la densité et le pH.

• **Indice de réfraction (I_R) :**

- **Principe :** L'indice de réfraction (I_R) d'un milieu est le rapport de la vitesse de la lumière dans le vide et de la vitesse de la lumière dans ce milieu. Il détermine les propriétés optiques d'une substance.
- **Mode opératoire :** L'indice de réfraction consiste à étalonner le réfractomètre avec de l'eau distillée, ensuite mettre quelques gouttes d'extrait dans l'appareil. Le réfractomètre est réglé jusqu'à ce qu'il se stabilise et donne des lectures au minimum à la troisième décimale près. (AFNOR, 2000).



Figure 2.12 : mesure de l'indice de réfraction dans un réfractomètre.

• **Détermination de la densité :**

La densité des extraits est le rapport entre la masse d'un certain volume d'extrait et la masse d'un volume égal d'eau à la même température.

Le pycnomètre est rempli avec de l'eau distillée, puis sa masse est mesurée à l'aide d'une balance hydrostatique. (AFNOR, 2000).

Une pesée du même volume d'extrait est effectuée. La densité relative est calculée selon la formule suivante :

$$dE = \frac{m1}{m2}$$

dE : Densité de l'extrait.

m1 : Masse en gramme d'un volume d'extrait.

m2 : Masse en gramme du même volume d'eau distillée.

- **Détermination du pH :**

Cette mesure est effectuée par un pH-mètre.



Figure2.13 : pH mètre

2.5. Test d'activité antibactérienne :

Afin de mettre en évidence l'effet antibactérien *in vitro* des différents extraits, nous avons choisi la méthode de diffusion des disques sur milieu de Mueller-Hinton gélosé standardisée par (N.C.L.L.S.) (CELIKTAS et al., 2007).

2.5.1. La méthode de diffusion :

➤ **Principe :** le test de la sensibilité des bactéries est réalisé par la méthode de diffusion en milieu gélosé, encore appelée méthode des disques dont le principe est de l'Aromatogramme (LESUEUR *et al.*, 2007) visant à tester la sensibilité des souches bactériennes par diffusion de l'extrait sur le milieu solide. (NADJIA FERTOUT-MOURI *et al.*,2016).

➤ **Mode opératoire :**

- Réchauffer le contenu des bouteilles de Mueller Hinton au bain marie à une température de 110 °C pendant 1h.
- Couler la gélose dans les boîtes de pétri.
- Laisser refroidir le couvercle entre-ouvert pour éliminer la vapeur d'eau.
- Les souches bactériennes sont ensemencées dans la gélose nutritive à l'aide d'une anse de platine.
- Les disques (de 6mm de diamètre) imprégnés d'extraits sont déposés délicatement sur la surface de la gélose inoculée à l'aide d'une pince stérile.
- Les boîtes de pétri sont incubées pendant 24 heures à 37°C.

La lecture a été faite par la mesure d'une zone d'inhibition au tour des disques et en fonction du diamètre d'inhibition, la souche bactérienne sera qualifiée de sensible, d'intermédiaire ou de résistante. (NADJIA FERTOUT-MOURI *et al.*,2016)

2.5.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice :

La CMI est définie comme la concentration minimale inhibitrice ou bien la plus faible concentration capable d'inhiber dans un milieu (soit milieu liquide, soit milieu solide), toute culture visible de la souche étudiée (FERRON, 1976; LE MINOR ET VERON, 1989).

➤ **Principe :** Pour déterminer la CMI, nous avons suivi la méthode de dilution sur milieu solide, en variant les concentrations des extraits (OSSOU *et al.*, 2004).

La CMI a été déterminée seulement pour les extraits les plus actifs constatés lors de l'étude de l'activité antibactérienne.

- **Mode opératoire :** La gamme de concentration des extraits a été préparée dans des tubes à essai par la méthode de dilution de deux en deux (1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128), à partir d'une solution mère de concentration initiale de 30 mg/ml.

Ainsi, 1ml de chaque dilution est alors incorporé avec le milieu Muller Hinton

Les mélanges sont immédiatement répartis dans deux boîtes de pétri. La gamme de concentrations finales ainsi obtenue correspond à 30, 15, 7,5, 3,75, 1,87, 0,9, 0,4, 0,2 mg/ml.

Après solidification, on a mis une goutte de chaque suspension bactérienne.

L'ensemble est incubé à 37°C pendant 24h.



Figure 2.14 : Différentes concentrations des extraits.

- **Lecture :** On lit les concentrations minimales inhibitrices (CMI): concentration pour laquelle il n'y a pas de culture bactérienne visible (**CARBONELLE et al., 1987; COURVALIN et al., 1988**).

2.6. Analyses statistiques :

Toutes les mesures expérimentales ont été répétées trois fois et sont exprimées en tant que moyenne \pm SD (écart-type de trois mesures) en utilisant le logiciel Excel 2007.

3.1. Taux d'humidité de la matière végétale :

La détermination du taux d'humidité des feuilles séchées à l'ombre ont révélé un taux de $10.66 \pm 0.5 \%$.Ce qui signifie que $89.34 \pm 0.5 \%$ représentent le taux des matières sèches (**Figure 3.15**).

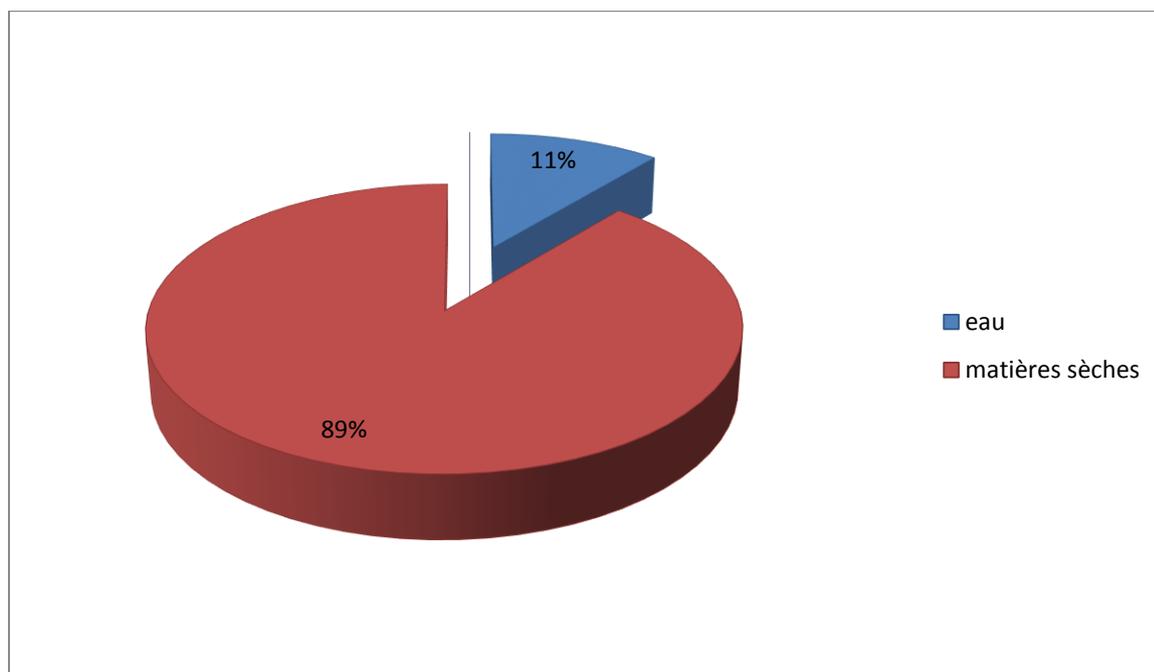


Figure 3.15 : Taux d'humidité des feuilles séchées de *Teucrium polium geyrii* Maire.

Ce taux est inférieur à 12%, cela montre que la matière végétale analysée a été séchée et conservée dans de bonnes conditions, ce qui rend par conséquent, les résultats de nos analyses phytochimiques plus fiables.

3.2. Caractéristiques organoleptiques :

Les différentes caractéristiques organoleptiques des extraits sont regroupées respectivement dans le **tableau 3.1** et les **figures 3.16 & 3.17** .

Tableau3.1: Propriétés organoleptiques des extraits.

Caractéristiques	Extrait 1 (Hétérosides flavoniques)	Extrait 2 (flavones, flavonols, des acides phénols)
Aspect	Liquide	Liquide
Couleur	Marron foncé	Vert

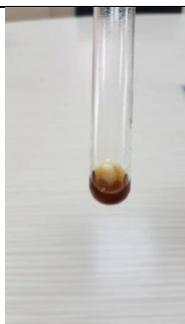


Figure3.16 : extrait 1 (Hétérosides flavoniques)



Figure3.17 : extrait 2 (flavones, flavonols, des acides phénols)

Nous remarquons que les extraits obtenus ont le même aspect, mais la couleur est différente.

Elle est marron foncé pour l'extrait 1 et verte pour l'extrait 2.

Cette différence est due à la composition de l'extrait (Hétérosides flavoniques pour le premier, et flavones, flavonols, acides phénols pour le deuxième).

3.3. Paramètres physico-chimiques :

Les résultats de la détermination des différents paramètres physico-chimiques des deux extraits (**Hétérosides flavoniques/ flavones flavonols, acides phénols**) sont mentionnés dans le **tableau 3.2.**

Tableau 3.2 : paramètres physico-chimiques des extraits.

Paramètre	Extrait 1 (Hétérosides flavoniques)	Extrait 2 (flavones flavonols, acides phénols)
PH	1.92	1.80
Densité	0.251	0.125
Indice de réfraction	1.4748	1.4716

Selon les normes **AFNOR (Association Française de Normalisation)**, Le potentiel d'hydrogène PH, une variable facile à mesurer, est utilisée pour caractériser un produit fini ou encore à des fins de contrôle de qualité.

Le pH des deux extraits de notre plante est de l'ordre de 1,92 et 1,80 respective.

Le faible indice de réfraction d'extrait indique sa faible réfraction de la lumière ce qui pourrait favoriser son utilisation dans les produits cosmétiques et sa conservation.

Plus l'indice de réfraction est proche de la valeur attendue, plus la « pureté » de l'extrait est grande. (**BOUKHATEM et al., 2010 ; KANKO et al., 2004**).

3.4. Activité Antibactérienne :

Les résultats de l'étude de l'activité antimicrobienne in vitro, évaluée par la méthode de diffusion sur gélose (**Tableau3.3**) sont exprimés en adoptant l'estimation de (**PONCE et al., 2003**).

- Souche extrêmement sensible : Diamètre plus de 20 mm.
- Souche très sensible : Diamètre compris entre 15 et 19 mm.
- Souche sensible : Diamètre compris entre 9 et 14 mm.
- Souche non sensible : Diamètre moins de 8 mm.

Tableau 3.3 : Résultats de l'activité antibactérienne

	Micro organismes	Extrait 1 (Hétérosides flavoniques)	Extrait 2 (flavones flavonols, acides phénols)
		Zone d'inhibitions (mm)	Zone d'inhibitions (mm)
Gram -	<i>Escherichia coli</i>	11±1.73	Résistante
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Résistante	10
	<i>Klebsiella pneumoniae 1</i>	12.3 ± 0.5	10
	<i>Klebsiella pneumoniae 2</i>	11.3± 1.1	10
Gram+	<i>Bacillus subtilis</i>	26± 5.2	30
	<i>Staphylococcus aureus</i>	14.3± 1.1	15

Les résultats révèlent des réponses variables en fonction des souches testées.

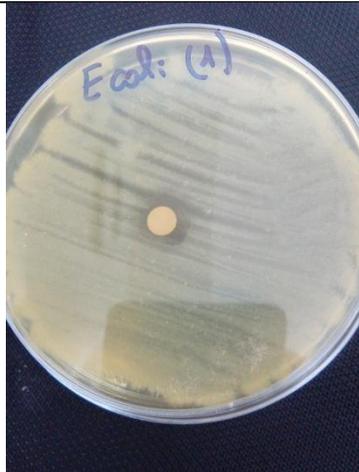


Figure A

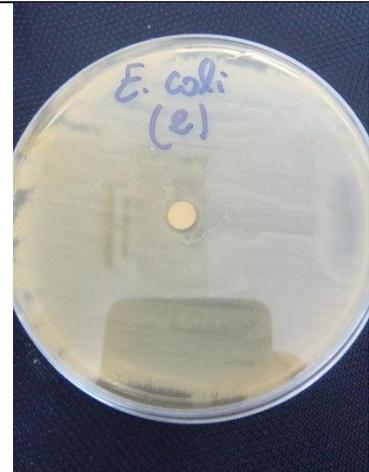


Figure B

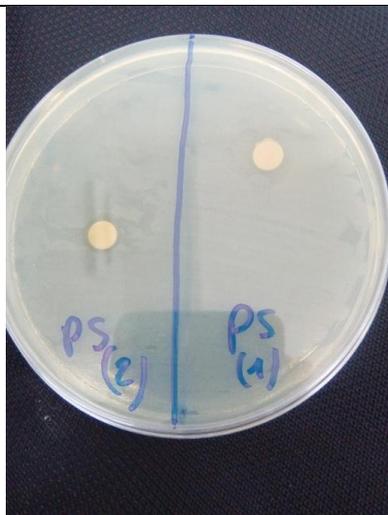


Figure C

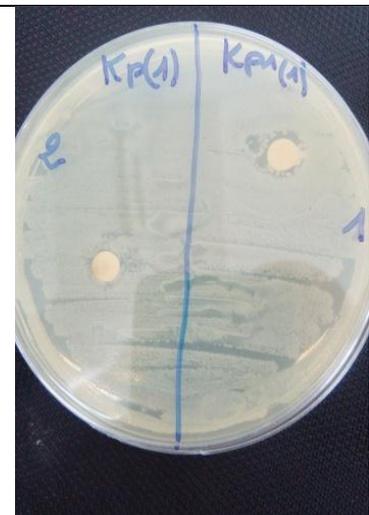


Figure D



Figure E

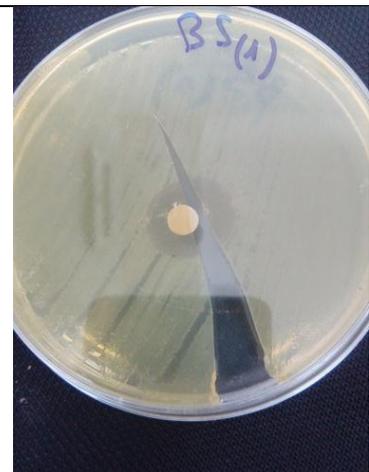


Figure F

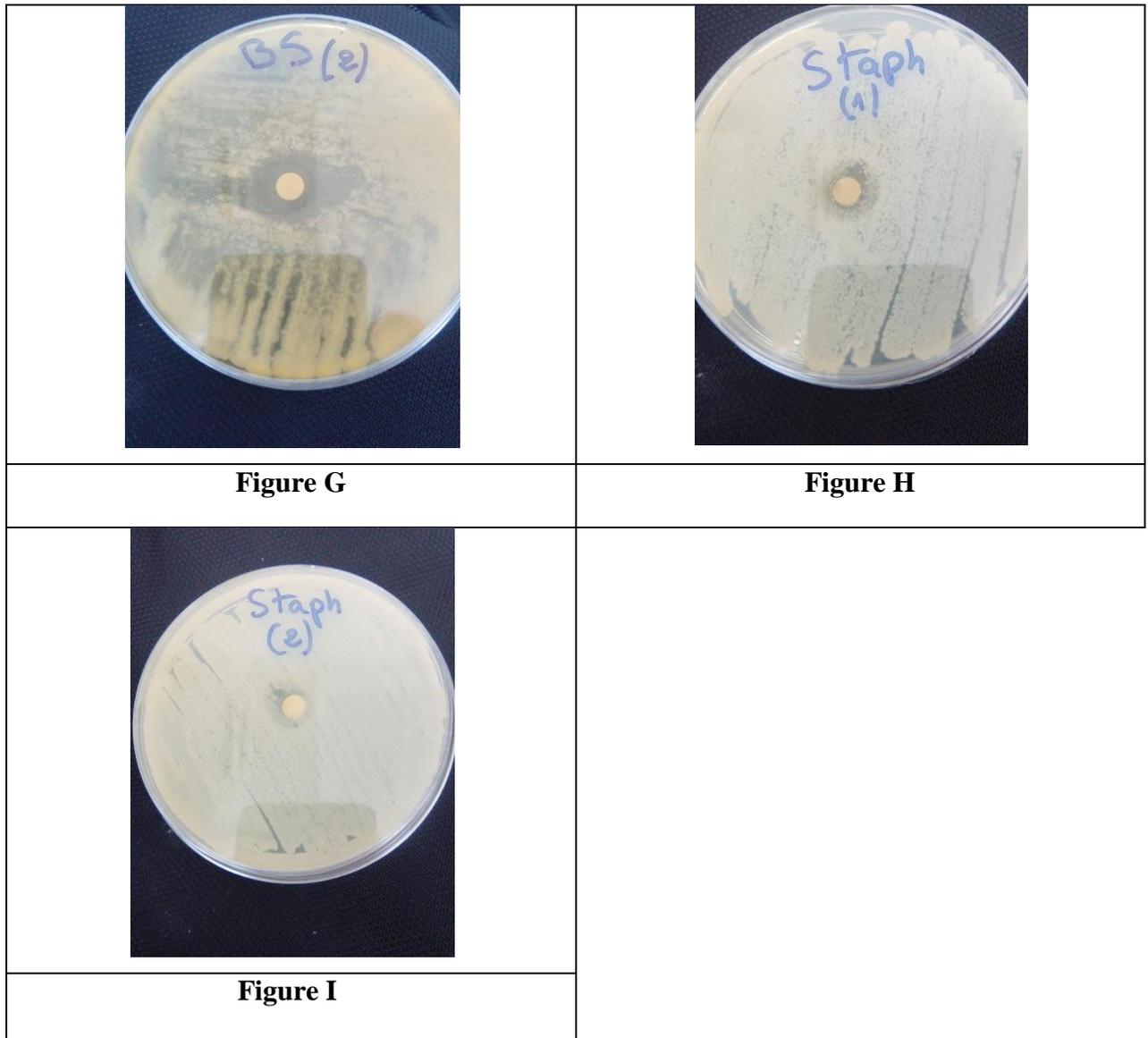


Figure 3.18 : Effet de deux extraits sur les différentes souches bactériennes testées.

Figure A : Extrait 1 sur E.Coli

Figure B : Extrait 2 sur E.Coli

Figure C : Extrait 1 et 2 sur *Pseudomonas aeruginosa*

Figure D : Extrait 1 et 2 sur *Klebsiella pneumoniae 1*

Figure E : Extrait 1 et 2 sur *Klebsiella pneumoniae 1*

Figure F : Extrait 1 sur *Bacillus subtilis*

Figure G : Extrait 2 sur *Bacillus subtilis*

Figure H : Extrait 1 sur *Staphylococcus aureus*

Figure I : Extrait 2 sur *Staphylococcus aureus*

Il apparaît que l'extrait 1 exerce une action inhibitrice élevée sur la souche : *Bacillus subtilis*, avec un diamètre d'inhibition de l'ordre de 26 ± 5.2 mm, donc elle est considérée comme une souche extrêmement sensible, comparativement à celle constatée sur les autres souches testées : *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae 1*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae 2* avec des zones d'inhibition de 11 ± 1.73 mm, 12.3 ± 0.5 mm, 14.3 ± 1.1 mm, 11.3 ± 1.1 mm respectivement pour cet extrait, donc on les considère comme des souches sensibles.

Tandis que la souche *Pseudomonas aeruginosa* n'a montrée aucun résultat.

La souche: *Escherichia coli*, se révèle résistante pour l'extrait 2 (**flavones flavonols, des acides phénols**).

En effet, les résultats les plus intéressants et les plus saillants sont enregistrés sur la souche *Bacillus subtilis*, avec une zone de diamètre de l'ordre de **30mm** (souche extrêmement sensible), suivie par les souche : *Staphylococcus aureus* avec un diamètre de 15mm (Souche très sensible), ensuite, on trouve les souches *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae 1*, *Klebsiella pneumoniae 2* avec des diamètres de : **10mm, 10mm, 10mm** respectivement pour cet extrait (Souches sensibles).

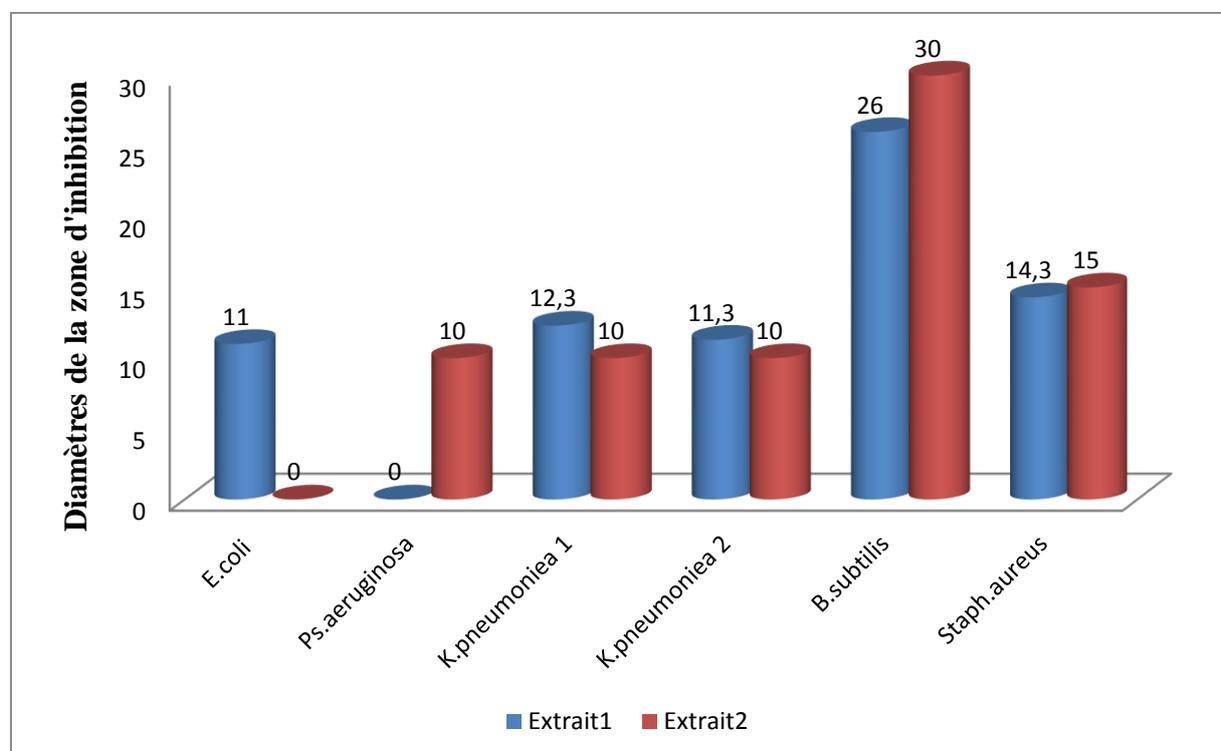


Figure 3.19 : Effet des deux extraits de *Teucrium Polium Geyrii Maire* sur les différentes souches bactériennes testées.

Il apparaît aussi que les deux extraits utilisés sont plus efficaces sur les bactéries Gram positif que les Gram négatif, ils exercent une action inhibitrice élevée sur la souche : *Bacillus subtilis* (Gram +) comparativement à celle constatée sur les autres souches de Gram+.

Les bactéries Gram(-) sont dotées d'une couche de peptidoglycane coincée entre la membrane plasmique et l'assise externe composée de lipo-polysaccharides et de protéines et constituent ainsi une barrière imperméable aux composés actifs.

Les bactéries Gram positif, la couche peptidoglycane se situe à l'extérieur, cela leur permet, donc, d'être plus disponibles à entrer en contact avec les composés actifs (**CHAO SC. et al., 2000; LECLERC H et al., 1995 ; RAVEN PH. et al., 2000**).

Cette efficacité est due à la présence des flavonoïdes qui sont des métabolites secondaires réputés pour leurs effets antibactériens (**HAVSTEEN, 2002 ; SOSA ET TONN, 2006**).

D'après (**OFOANSI et al., 2005**) les flavonoïdes sont impliqués dans les traitements des infections d'origines bactériennes particulièrement celles causées par *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*.

L'effet d'un extrait est probablement dû à la synergie entre de nombreux composants qui, lorsqu'ils sont séparés deviennent inactifs individuellement (**SARKER SD. et al., 2005**).

Une étude similaire faite par (**OUNIS & BOUMAZA., 2018**) sur la plante *Teucrium polium* L. montre l'effet antibactérien de l'extrait méthanolique sur les souches suivantes : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella*.

D'après (**MOUSSAID et al., 2012**), l'activité des principes actifs serait liée aux conditions de séchage et de broyage de la plante. Elle dépend également de plusieurs facteurs, dont le mode d'extraction et la concentration en principes actifs, le type des micro-organismes ciblés (**WAGNER H., 1993 ; THANGARA JHS et al., 2000**).

La variabilité d'efficacité des extraits végétaux peut dépendre, également, de leur composition chimique. Elle peut être liée à la polarité des substances bioactives ; les composés les moins polaires n'ayant, par exemple, pas de groupement hydroxyles OH sont plus actifs vis-à-vis des agents microbiens que ceux portant des groupements hydroxyles (CHABOT S., *et al* 1992).

3.5. La Concentration Minimale Inhibitrice :

La méthode de contact direct par dilution en milieu gélosé a permis de déterminer la concentration minimale inhibitrice CMI

La CMI d'un extrait vis-à-vis d'une souche donnée correspond à la plus petite des concentrations ne montrant aucune croissance visible de germe.

Tableau 3.4 : Résultats de la concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'extrait 1 (Hétérosides flavoniques) .

Concentrations (mg/ml)	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
30	-	-	-	-
15	-	-	-	-
7,5	-	-	-	-
3,75	-	-	-	-
1,87	-	-	-	-
0,9	-	-	-	-
0,4	+	+	-	-
0,2	+	+	+	+

Tableau3.5 : Résultats de la concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'extrait 2 (flavones flavonols, acides phénols)

Concentrations (mg/ml)	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
30	-	-	-	-
15	-	-	-	-
7.5	-	-	-	-
3.75	-	-	-	-
1.87	-	-	-	-
0.9	-	-	-	-
0.4	+	-	+	-
0.2	+	+	+	+

Selon (ALIGIANNIS *et al.* 2001), l'activité antibactérienne est considérée comme :

- forte : lorsque les valeurs de CMI sont comprises entre 0.05 mg/ml et 0.5 mg/ml.
- modérée : quand elles sont entre 0.6mg/ml et 1.5 mg/ml.
- faible : quand elles sont supérieures à 1.5 mg/ml.

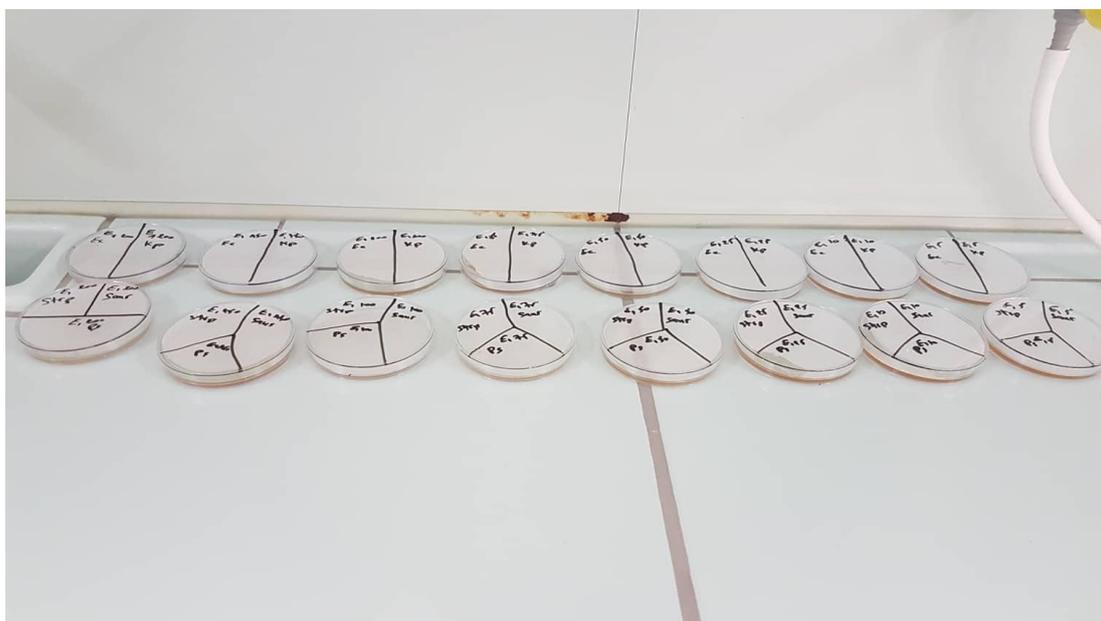


Figure 3.20 : Résultats de CMI des extraits sur les bactéries

Les résultats obtenus du 1^{er} extrait reflètent une sensibilité pour les souches : *Bacillus subtilis*, *staphylococcus aureus*, à partir d'une concentration de 0.4 mg/ml d'extraits, donc l'activité antibactérienne est considérée comme forte.

Et une sensibilité pour *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* à partir d'une concentration 0.9mg/ml, donc l'activité antibactérienne est considérée comme modérée.

Contrairement aux autres dilutions dont aucun effet antibactérien n'est observé.

Tandis que *Pseudomonas aeruginosa*, n'a donné aucun résultat et cela pour toutes les concentrations.

Les résultats du 2^{ème} extrait, montrent que *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus* se sont avérées les plus sensibles, elles ont été inhibées à partir des concentrations minimales de 0.4 mg/ml, donc l'activité est considérée comme forte.

Et pour *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* ont été inhibées à partir d'une concentration 0.9mg/ml donc l'activité antibactérienne est considérée comme modérée. Contrairement aux autres dilutions dont aucun effet antibactérien n'est observé.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Au terme de notre étude qui consiste à extraire les différents produits actifs de *Teucrium polium geyrii* Maire provenant de la région de Tamanrasset pour évaluer, *in vitro*, ses propriétés antibactériennes et pour déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) vis-à-vis des différentes espèces bactériennes, ainsi que les analyses physico-chimiques.

Les paramètres physico-chimiques des différents paramètres à savoir l'indice de réfraction, la densité et le pH des deux extraits sont uniformes aux normes internationales.

Les tests biologiques effectués dans ce travail ont montré un effet antibactérien remarquable des différents extraits obtenus à partir de la partie aérienne de *Teucrium polium* et cela contre les souches bactériennes testées : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*1, *Klebsiella pneumoniae*2, *Bacillus subtilis*.

La concentration minimale inhibitrice des extraits sur *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa* est de 0.4 mg/ml et 0.9 mg/ml respectivement.

Cette efficacité pourrait être due à la présence des flavonoïdes qui sont des métabolites secondaires réputés pour leurs effets antibactériens.

Sachant que notre pays possède une biodiversité immense, chaque plante se caractérise par un réservoir assez important de métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques particulières qui demandent à être exploitées par les recherches. A cet effet, et comme perspectives on propose de:

- ❖ Faire une étude biochimique sur les fruits, fleurs et les racines de *T. polium*.
- ❖ Optimisation des conditions d'extraction des métabolites secondaires par plusieurs techniques d'extraction et l'exploitation des résultats par les méthodes statistiques.
- ❖ La confirmation de la capacité antibactérienne par des tests *in vivo*.
- ❖ Déterminer de nouvelles substances bioactives naturelles pourront répondre aux différents problèmes de santé et être un alternatif aux médicaments synthétiques.
- ❖ D'élargir le spectre des activités biologiques ciblées, en incluant les activités anti-inflammatoires, anti-enzymatiques, insecticides ou autres.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

- ❖ L'investigation phytochimique, pharmaceutique et ethnobotanique des autres plantes médicinales du Sahara algérien.

Annexe

Annexe 1

matériels et solvants utilisés

Equipements :	Verreries et autres matériels :	Solvants et réactifs :
Rota vapeur	Becher	Méthanol
Autoclave	Flacon	éther di Éthylique
Bain-marie	Erlenmeyer	éthanol
Balance	Fioles	Eau distillée
Etuve	Micropipette	HCl
pH mètre	Tubes	DMSO
réfractomètre	Eprouvette	
	Ampoule à décanter	
	Boites de pétri	
	Ance de platine	

Annexe 2

Etudes statistiques

Calcul de la moyenne :

$$\bar{X} = \frac{1}{n} \sum_{1}^{n} xi$$

n : Nombre de répétitions

X_i : Valeurs observés

Calcul de l'écart type :

$$S = \sqrt{\frac{1}{n} - 1 \sum_{i}^{n} (xi - \bar{X})^2}$$

Annexe

Annexe 3

Le taux d'humidité

Répétitions	Répétition 1	Répétition 2	Répétition 3
Le taux d'humidité	11%	11%	10%

Annexe 4

L'activité antibactérienne d'Extrait 1.

Souches bactériennes	Zone d'inhibition			La moyenne
<i>Escherichia coli</i>	13	10	10	11
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10	R	R	R
<i>Klebsiella pneumoniae 1</i>	13	12	12	12,3
<i>Klebsiella pneumoniae 2</i>	12	10	12	11,3
<i>Bacillus subtilis</i>	20	30	28	26
<i>Staphylococcus aureus</i>	13	15	15	14,3

Annexe 5

La Concentration Minimale Inhibitrice

$$C = m/v$$

Références bibliographiques

- 1. ABDERRAZAK M., JOËL R.** La botanique de A à Z. Ed. Dunod. Paris. (2007).p. 177.
- 2. ABDOLLAHI A., KARIMPOUR H. et MONSEF-ESFEHANI H.** Antinociceptive effects of *Teucrium polium* L. total extract and essential oil in mouse writhing test m.(2003).
- 3. AFNOR,** Recueil de normes : les huiles essentielles, Monographies relatives aux huiles essentielles ». Vol. Tome 2, paris. (2000).
- 4. AKROUM S.** Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels. Thèse de Doctorat : Université MENTOURI de CONSTANTINE-ALGERIE.180. (2010).
- 5. ALIGIANNIS N., KALPOTZAKIS E., MITAKU S., CHINOUBI L.B.** Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species J.Agric Food Chem. (2001), 40 :4168-4170.
- 6. AMAS.** Food and Agricultural Research Council, Réduit, Mauritius, (1997).
- 7. AOAC .**official methods of analysis, 15th edn. Association of official analytical chemists, Washington, DC, (1990)
- 8. APAK R., GÜÇLÜ K., DEMIRATA B., ÖZYÜREK M., ESIN ÇELİK S., BEKTAŞOĞLU B., BERKER K.I., ÖZYURT D.** - Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules*, 12, (2007). 1496-1547.
- 9. ASSOCIATION FRANÇAISE DE NORMALISATION (AFNOR),** Recueil de normes françaises des corps gras, graines oléagineuse, produits dérivés, 3ème édition, (1984).
- 10. AUTORE G; CAPASSO F; DE FUSCO R; FASULO M P; LEMBO M; MASCOLO N; MENGHINI A:** Antipyretic and antibacterial actions of *Teucrium polium*. (1984)
- 11. BAHORUN T.-** Substances naturelles actives: La flore mauricienne, une source D’approvisionnement potentiel. *Food. Agric. Res. Council, Réduit, Mauritius.*(1997).83-94.

Références bibliographiques

- 12. BILLING J. AND SHERMAN P. W.** Antimicrobial Functions of Spices: Why Some Like it *Hot*. *Q. Rev. Biol.* (1998); 73: 3-49.
- 13. BODAS R., LOPEZ S., FERNANDEZ M., GARCIA-GONZALEZ R., RODRIGUEZ A., WALLACE R.** In vitro screening of the potential of numerous plant species as antimethanogenic feed additives for ruminants. *Animal Feed Science and Technology.*(2008); 145: 245-258.
- 14. BOUKHATEM M.N., HAMAIDI M. S., SAIDI F., HAKIM Y.-** Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat (*Pelargonium graveolens* L.) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie), *Revue Nature et Technologie* (2010), n° 03: 37 -45.
- 15. BOULAHBAL F.-** Microbiologie S1 Clinique. Office des Publications Universitaires (OPU), Alger. (1993)
- 16. BOULANGER P. AND POLONVSKI J.** Traité de biochimie. Tome III. Ed. Masson, Paris, (1969), p. 760-770.
- 17. BOUMAZA.D & OUNIS.R.** - Evaluation du contenu phénolique et des activités biologiques de *Teucrium Polium.*, UNIVERSITE L'ARBI BEN MHIDI-OUM EL BOUAGHI.(2018)
- 18. BOUSBOULA.** Rapport de transfert d'eau potable In-Salah – Tamanrasset, ou les ratés d'un projet ambitieux. (2013)
- 19. BOUTALEB H. :** Evaluation des effets cicatrisants de *Teucrium Polium* (khayata) sur des plaies d'excision chez le rat p54 .université Constantine 1. (2014)
- 20. BRUNETON J.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3^{ème}Édition. Medicales internationales Editions Technique & Documentation, Cachan, [S.l.], Paris,(1999), p. 647-673.

Références bibliographiques

21. **BRUNETON J.**, - Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales .2^{ème} éd, Arcibia. (2001)
22. **COUPLAN F.**- Dictionnaire étymologie de botanique .Nestlé (Ed). Luisane. Paris.(2000)
23. **COLL J. AND TANDRON Y.** Isolation and structure elucidation of three neoclerodane diterpenes from *Teucrium fruticans* L. (*Labiatae*). *Phytochemistry*. (2005); 66: 2298-2303.
24. **CARBONNELLE B., DENIS F., MARMONIER A., PINON G., VARGUES R.**, Bactériologies médicales: techniques usuelles. Edition S.I.M.E.P. (2^{ème} tirage), Paris, (1987).105-108
25. **CARRUBBA A., LA TORRE R., ZAFFUT G.** Exploitation of native Labiatae in sicily. The *Labiatae*: Advances in Production, Biotechnology and Utilization 22-25 February 2006 - Sanremo, Italy. (2006)
26. **COWAN M.** Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin. Microbiol. Rev.* (1999); 12: 564-582.
27. **CELIKTAS O., HAMES KOCABAS E., BEDIR E., VARDAR SUKAN F., OZEK T., BASER K.** Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. *Food Chem.* (2007); 100: 553-559.
28. **CHABOT S, BECARD G, PICHE Y** Life cycle of *Glomus intraradix* in root organ culture. (1992) *Mycologia* 84: 315-21
29. **CHAO SC, YOUNG DG, OBERG GJ** Screening for Inhibitory Activity of Essential Oils on Selected Bacteria, Fungi and Viruses. *J Essent Oil Res* (2000) 12: 639-49
30. **CHIRA et al.**, Les polyphénols du raisin. (2008)
31. **COURVALIN P., FLANDROIS J.P., GOLDSTEIN F., PHILIPPON A., QUENTIN C., SIROT J.**, L'antibiogramme automatisé. M.P.C./Vigot, Paris, Bruxelles, (1988)276 p

Références bibliographiques

- 32. DUPONT F. AND GUIGNARD J.L** Abrégés de pharmacie. Botanique: les familles de plantes. 15 eme édition.(2012).
- 33. EL OUALIDI J., VERNEAU O., PUECH S., DUBUISSON J.** Utility of rDNA ITS sequences in the systematics of *Teucrium* sect *Polium*. (*Lamiaceae*). *Plant Syst.*(1999); 1215: 49-70.
- 34. Esmaeili M A; Yazdanparast.R:** Hypoglycaemic effect of *Teucrium polium*: studies In: Boutaleb H 2014 : Evaluation des effets cicatrisants de *Teucrium Polium* (khayata) sur des plaies d'excision chez le rat (2004). p 54 .université Constantine 1
- 35. FERRON A.,**Bactériologie médical à l'usage des étudiants en médecine. 8ème édition. Ed. Groun et Roques, France.(1976)
- 36. GROTEWOLD E.** The Science of Flavonoids. Springer Science_Business Media, Inc Library of Congress Control Number: 2005934296, (2006).
- 37. HAMMOUDI R. :** Activités biologiques de quelques métabolites secondaires extraits de quelques plantes médicinales du Sahara méridional algérien ; .Université Kasdi Merbah-Ouargla. (2015)
- 38. HARTMANN, T.** "From waste products to ecochemicals: fifty years research of plant secondary metabolism." *Phytochemistry* **68**(22): 2831-2846. (2007).
- 39. HASANI, P., YASA, N., VOSOUGH-GHANBARI, S., MOHAMMADIRA, A., DEHGHAN, G., ABDOLLAHI, M.** In vivo antioxidant potential of *Teucrium polium*, as compared to α tocopherol. *Acta Pharm.* (2007).. 57:123–129.
- 40. HAVSTEEN, B.H.** The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol. Therapeut* (2002).p96, 67– 202.
- 41. M. HEBI & M. EDDOUKS.** Évaluation de l'activité antioxydante de *Stevia rebaudiana* (2015).
- 42. ISERIN P.,** - Encyclopédie des plantes médicinales .Larousse –Bordas, éd : 335p. (2001)

Références bibliographiques

43. ISO, Méthodes de mesure de l'humidité — Fiche 16 / Mars (2016)
44. JAVIDINIA K., MIRI R., BAHRINAJAFI R. & KHADEMZADEH JAHROMI N.,
A preliminary study on the biological activity of *Daphne mucronata* royle. DARU 11 (1): 2-4.
(2003).
45. JUDD W.S., CAMPBELL C.S., KELLOGG E.A. et STEVENS P.; Botanique
Systématique: une perspective phylogénétique; Ed 1: DEBOECK; p: 84-336. (2002).
46. KANKO C., EL-HADJ SAWALIHO B., KONE S., KOUKOUA G., THOMAS
N'GUESSAN Y.- Étude des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de *Lippia
multiflora*, *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon giganteus* ,C. R. Chimie
(2004), 7 :1039–1042.
47. KÄSTNER A. Übersicht zur systematischen Gliederung der Gattung *Teucrium* L.
Biocosme Mesgeen. (1989); 6: 63-78.
48. KAUFMANN S. Host response to intracellular pathogens. Ed. Springer; R.G. Landes,
New York; Austin, (1997), p. 345.
49. KSOURI, R., W. MEGDICHE, A. DEBEZ, H. FALLEH, C. GRIGNON and C.
ABDELLY,. Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the
halophyte *Cakile maritima*. Plant Physiol. Biochem., 45: 244-249. (2007).
50. LAGNIKA L . : Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles
isolées de plantes béninoises. (2005)
51. LEBRETON.P., JAY. M., VOIRIN. B. Sur l'analyse qualitative et quantitative des
flavonoïdes. Chim. Anal. Fr. (1967), 49(7): 375-383.
52. LECLERC H, GAILLARD JL, SIMONET M Microbiologie générale. La bactérie et le
monde bactérien. Ed. Doin, Paris(1995), 535 p

Références bibliographiques

- 53. LESUEUR D., DE ROCCA SERRA D., BIGHELLI D., HOI T. M., BAN N. K., THAI T. H., CASANOVA J.;** Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Michelia faveolata* Meryli ex Dandy from Vietnam, *Flavour and Fragrance Journal*; (2007). 22: 317-321
- 54. MACHEIX J., FLEURIET A. AND JAY-ALLEMAND C.** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed. Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne, (2005), p. 4-5.
- 55. MACHEIX J., FLEURIET A., JAY-ALLEMAND C.** Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR presses polytechniques. (2005), 192 pages.
- 56. MANALLAH, A.** Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea* L. Pour obtenir le Diplôme de magister, Option : Biochimie Appliquée. Université Ferhat Abbas sétif (2012)., 87p.
- 57. MENICHINI F., CONFORTI F., RIGANO D., FORMISANO C., PIOZZI F. and SENATORE F.** Phytochemical composition, anti-inflammatory and antitumour activities of four *Teucrium* essential oils from Greece. *Food Chemistry*.(2009); 115(2): 679-686.
- 58. MEYER S., REEB C., BOSDEVEIX R.-** Botanique Biologie et Physiologie Végétales. Editions Maloine, Paris (2004)
- 59. MOUSSAID M, ELAMRANI AA, BERHAL C, et al** Comparative evaluation of phytochemical and antimicrobial activity between two plants from the Lamiaceae family: *Marrubium vulgare* (L.) and *Origanum majorana* (L.). *Int J Nat Prod Res* 1(1): 11-13 (2012)
- 60. MUANDA F.N.** Identification de polyphénol, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Thèse de doctorat. (2010). 55 p.
- 61. M. HEBI · M. EDDOUKS.** Évaluation de l'activité antioxydante de *Stevia rebaudiana*.(2015).

Références bibliographiques

- 62. NAGHIBI F., MOSADDEGH M., MOHAMMADI MOTAMED S & GHORBANI A..**- Labiatae family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology, Iran, J. Pharm. Res (2005). 2, 63-79.
- 63. N. FERTOUT-MOURI · A. LATRECHE · Z. MEHDADI · F. TOUMI-BENALI · M.B. KHALED** Composition chimique et activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Teucrium polium* L. du mont de Tessala (Algérie occidentale). (2016)
- 64. N. GHEDADBA et al,** . Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de *Marrubium deserti* de Noé. (2015)
- 65. OZENDA P.**- Flore du Sahara (1977). 2em ED. CNRS. Paris.
- 66. PISTRICK K.**- Notes on neglected and underutilized crops Current taxonomical overview of cultivated plants in the family's Umbelliferae and Labiatae, Genetic Resources and Crop EVolution, 49: 211-225. Paris, (2006), p. 2-10
- 67. PONCE, A., et al.,** *Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard.* LWT-Food Science and Technology. (2003), 367, 679-684.
- 68. QUEZEL P., SANTA S..**- Nouvelle Flore d'Algérie et des régions Désertiques Méridionales. Tome I et II. CNRS. (1963).
- 69. RAVEN PH, EVERT RF, EICHHORN SE** Biologie végétale. Ed. De Boeck Université s.a., (2000) 944 p.
- 70. SAHKI A., SAHKI R.**- Le Hoggar promenade botanique. Espèces herbacées. Edition Ésope.(2004), p 311.
- 71. SARKER S., LATIF Z. AND GRAY A.** Natural Product Isolation. In: **SARKER S D, LATIF Z AND GRAY A I.** Natural products isolation. Humana Press, (Totowa), (2005). P. 1-23.

Références bibliographiques

- 72. SARKER SD, LATIF Z, GRAY AI** Natural products isolation. Humana Press, Totowa (2005), pp. 1-23
- 73. SARNI-MANCHADO P. AND CHEYNIER V.** Les polyphénols en agroalimentaire. Ed. Tec & Doc, Paris,(2006), p. 2-10.
- 74. SOKMEN A., GULLUCE M., ASKIN-AKPULAT H., DAFERERA D., TEPE B., POLISSIOU M., SOKMEN M.AND SAHIN F.** The *in vitro* antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*. *Food Control*. (2004); 15: 627-634.
- 75. SOSA M. E., TONN C. E..** Plant secondary metabolites from Argentinean semiarid lands: bioactivity against insects. *Phytochem. Rev.* (2006), 7(1):324
- 76. SULEIMAN M S; ABDUL-GHANI A S; AL-KHALIL S; AMIN R:** Effect of *Teucrium polium* boiled leaf extract intestinal motility and blood pressure In: Boutaleb H 2014 : Evaluation des effets cicatrisants de *Teucrium Polium* (khayata) sur des plaies d'excision chez le rat (1988) p54 .université Constantine 1
- 77.THANGARA JHS, ADJEI O, ALLEN BW, et al** In-vitro activity of ciprofloxacin, sparfloxacin, ofloxacin, amikacin and rifampicin against Ghanian isolates of *Mycobacterium ulcerans*. *J Antimicrob Agents Chemoter* (2000) 45(2): 231-33.
- 78. ULANOWSKA K.** Differential antibacterial activity of genistein arising from global inhibition of DNA, RNA and protein synthesis in some bacterial strains. *Arch. Microbial*.(2006). 184 (5): 271-8.
- 79. ULANOWSKA K., MAJCHRZYK A., MOSKOT M., JAK-BKIEWICZ-BANECKA J. AND W_ÂGRZYN G.** Assessment of antibacterial effects of flavonoids by estimation of generation times in liquid bacterial cultures. *Biologia*. (2007); 62: 132-135.
- 80. URQUIAGA I. AND LEIGHTON F.** Plant Polyphenol Antioxidants and Oxidative *Stress. Biol. Res.* (2000); 33: 55-64.

Références bibliographiques

81. WAGNER H .Pharmazeutische Biologic Drogen und ihre Inhaltsstoffe. Ed. Gustav Fischer, New York (1993), pp.163-65.

82. WINKEL-SHIRLEY. It takes a garden. How work on diverse plant species has contributed to an understanding of flavonoid metabolism, *Plant Physiol* 127: 1399-1404. (2001).

83. YAO K., DE LUCA V. AND BRISSON N. Creation of a Metabolic Sink for Tryptophan Alters the Phenylpropanoid Pathway and the Susceptibility of Potato to *Phytophthora infestans*. *Plant, Cell*. (1995); 7: 1787-1799.