



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



Université ABOU BEKR BELKAÏD DE TLEMCCEN

Faculté des Sciences

Département de Chimie

Laboratoire des substances naturelles et bioactives

MEMOIRE

Présenté pour obtenir le diplôme de :

MASTER EN CHIMIE

Option : **Molécules Bioactives : Synthèses et Applications**

Présenté Par : **M<sup>lle</sup> ACHOUR AOUL Sihem**

---

*Criblage phytochimique, activité antioxydante et  
antibactérienne de la Cynoglossum Cheirifolium  
(ouednine eljadienne).*

---

<b>Présidents</b>	Saïd Ghalem/Boufeldja Tabti	Professeur	Université de Tlemcen
<b>Examineurs :</b>	Hocine Allali	Professeur	Université de Tlemcen
	Mourad Bendahou	Professeur	Université de Tlemcen
	Mohammed El Amine Dib	MCA	Université de Tlemcen
	Nouria Merad	MCA	Université de Tlemcen
	Nassim Djabou	MCA	Université de Tlemcen
<b>Invité</b>	Alain Muselli	HDR	Université de Corse (France)
<b>Directeur de mémoire</b>	Meriem Merad-Benyarou	MCA	Université de Tlemcen

Le 27 Mai 2014

## *Dédicace*

*En guise de reconnaissance, je dédie ce travail :*

*À mes chers parents,*

*À mes frères, sœurs :*

*Tewfik, Assia, Djawed, Salim, Manel*

*A Nihel ,Rayan , Nourhanna*



***Avant toute chose, je remercie le Dieu, Le tout puissant, pour  
m'avoir donnée La force et la patience.***

- ✓ J'exprime ma profonde gratitude à mon encadrant **Mme BENYAROU M.** Maître de Conférences. (université Abou Bekr Belkaid, faculté des sciences, département de chimie. Laboratoire des Substances Naturelles et Bioactives "LASNABIO"), qui ma fait l'honneur d'avoir veillé et dirigé ce travail malgré ses multiples occupations.
- ✓ Je tiens particulièrement à remercier énormément **Mr. DIB M.** Maître de Conférences (Laboratoire des Substances Naturelles et Bioactives (LASNABIO), Université de Tlemcen), pour ses conseils, ses commentaires et sa bienveillance. Qu'il soit assuré de ma profonde gratitude pour m'avoir guidé et aidé, pas seulement à la réalisation de ce mémoire mais tout au long le cursus de Master. Son dynamisme pour la recherche des produits naturels a été pour moi une source de motivation.
- ✓ J'exprime mes vifs remerciements à **Mr. DJABOU N.** je le remercie pour sa disponibilité, et l'importance qu'il a accordée à ma recherche. Cela m'a évidemment marquée. Pour les nombreux services qu'il nous a rendus durant la réalisation de ce travail, et même durant les deux années de master. Il était l'homme d'URGENCE.
- ✓ Je tiens à remercier **Mr. GHALEM et Mr. TABTI** qui nous à fait l'honneur d'accepter de présider de Jury.
- ✓ Ma profonde reconnaissance va également à **Mr. BENDAHOU M.** et son équipe pour la réalisation de l'activité antibactérienne
- ✓ Ma gratitude à **Mr. ALLALI H.** mon professeur, mon exemplaire. Qu'il trouve ici le témoignage de ma reconnaissance, sans oublier tous ceux dont l'aide et les conseils m'ont été si utiles.
- ✓ Ma gratitude va également à **Mme MERAD N.** pour avoir accepté de participer à ce jury.

- ✓ J'adresse mes sincères remerciements à **Mr. Alein Muselli** maitre de conférences à l'université de Corte en Corse (France), pour son aimable participation au jury.
  
- ✓ Je tiens à remercier aussi le **Dr F. Hassani** (laboratoire de botanique, au département de Biologie, Faculté des SNV/STU, université de Tlemcen) pour l'identification de la matière végétale.
  
- ✓ Et avec des sentiments chaleureux, je vais remercier ma collègue, ma chère copine **NADYA**, qu'elle était avec moi toujours, dans les bons moments et les mauvais, merci pour l'aide qu'on a appelé cette année **SWAY WITH ME...**  
Je ne vais pas oublier de remercier mon amie **RANIA**, pour les coups de main qu'elle m'a donné.
  
- ✓ Un grand merci et très spécial, pour une fille plus qu'une copine, c'est ma sœur **WISSEM**, elle m'a soutenue dans les moments difficiles, ensemble depuis le primaire et voilà je te dis maintenant : **ON EST ARRIVEE...**

Les abréviations  
Liste des figures  
Liste des tableaux

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

## *Partie 01*

### Chapitre 01 : Etude botanique

1- Introduction .....	4
2- description du genre <i>Cynoglossum</i> .....	4
3- Définition de la plante <i>Cynoglossum Cheirifolium</i> .....	5
4- Classification .....	5
4.1- Nom retenu .....	5
4.2- Synonymes .....	5
4.3- Les noms usuels .....	5
5- Caractéristiques du sol et climatique .....	5
6- Répartition géographique .....	6
8- récolte .....	6
9- Identification botanique .....	7
10- Utilisation populaire .....	7
11- Travaux de littératures .....	7
11- les travaux sur les acides gras (source nouveau de l'acide $\alpha$ _linolique).....	7
11- Etude sur l'activité antioxydant .....	7
Références .....	8

### Chapitre 02 : Les huiles essentielles

1- Introduction .....	9
2- Définition d'une huile essentielle .....	9
3- Caractérisation d'une huile essentielle .....	10
3.1- Propriétés physiques: .....	10
3.2- Composition chimique d'une huile essentielle .....	10
4- Toxicité des huiles essentielles : .....	11
5- Les différentes méthodes d'extraction des huiles essentielles .....	11
5.1- Distillation – Evaporation .....	11
5.2- Les extractions les plus utilisées .....	12
5.2.1- Extraction par Hydrodistillation .....	12
5.2.2- Extraction par La distillation à la vapeur .....	13
5.2.3- technique d'Extraction au CO <sub>2</sub> supercritique .....	13
5.2.4- Extraction assistée par micro-onde .....	14
5.2.5- Extraction par Soxhlet .....	15
Références .....	16

### Chapitre 03 : les métabolites secondaires

1- Introduction .....	17
2- Métabolites primaires.....	17
3- Métabolites secondaires.....	17
3.1- Définition et fonction .....	17

3.2- Classification des métabolites secondaires .....	17
3.2.1. Les composés phénoliques .....	17
3. 2.2- Les isoprénoïdes : (Stéroïdes et Terpénoïdes) .....	18
3.2.3- Les composés azotés (dérivés des acides aminés) : Alcaloïdes.....	18
4- Flavonoïdes.....	19
4.1- Structures et classifications des flavonoïdes .....	19
4.2- Classification .....	20
4.3- Distribution et localisation .....	21
4.4- Propriétés des flavonoïdes.....	21
4.5- Les flavonoïdes comme antioxydants.....	21
4.6- Propriétés biologiques et pharmacologiques des flavonoïdes .....	22
5- Alcaloïdes .....	22
5.1- 1 Les alcaloïdes pyrrolizidines .....	23
5.2- Chimie des APs .....	24
5.3- Les critères structuraux minimaux de toxicité .....	24
5.4- L'activité biologique .....	25
Références .....	26

## *Partie 02*

### **les activités biologiques**

I- Activité antioxydant .....	28
1. Généralités .....	28
Définition .....	28
3- Le stress oxydatif .....	28
4- Les radicaux libres .....	28
5. Différents types des radicaux libres .....	28
6. Dommages oxydatives des radicaux libres .....	29
7. Moyens de défense contre les radicaux libres .....	29
8- Les antioxydants utilisés dans l'industrie cosmétique et l'industrie pharmaceutique .....	30
9- les méthodes d'activité antioxydant .....	30
.2. Activité antibactérienne .....	32
Références .....	34

### **Matérielles et méthodes**

Séchage .....	36
1-Extraction de l'huile essentielle .....	36
2-Détermination de la composition chimique de l'huile essentielle par CPG .....	36

2.1.1- Analyse par CPG/FID	
2.2-Evaluation de l'activité antioxydante de l'huile essentielle et l'extrait éthanolique ....	38
3- Extraction au solvant .....	41
3.1- Réaction de caractérisations .....	41
Références .....	44
<b>Résultats et Discussion.....</b>	<b>45</b>
<b>Conclusion générale .....</b>	<b>57</b>

## **ABREVIATIONS**

**C.** : Cynoglossum

**Rdt** : rendement

**%** : pourcentage

**DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle

**H.E** : Huile essentielle

**CG** : chromatographie en phase gazeuse

**CG/SM** : chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

**IC50** : concentration nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH

**CMI** : concentration minimale inhibitrice

**A.P** : alcaloïdes pyrrolizidines

**BHT** : hydroxytoluène butylé

## Listes des figures

**Figure 1 :** *C.Cheirifolium*

**Figure 2 :** Distribution dans le monde

**Figure 3 :** récolte à Remchi

**Figure 4 :** récolte à Nedroma

**Figure 5 :**  $\alpha$ \_acide linolenique

**Figure 6 :** Ancienne unité de distillation

**Figure 7 :** Appareillage utilisé pour l'hydrodistillation de l'huile

**Figure 8 :** distillation à la vapeur

**Figure 9 :** principe de la technique

**Figure 10 :** Extraction par micro-ondes

**Figure 11 :** Extraction par soxhlet

**Figure 12 :** structure d'une unité isoprénique.

**Figure 13 :** Structure de base des flavonoïdes

**Figure 14:** Piégeage des radicaux libres (R•) par les flavonoïdes

**Figure 15 :** \_structure de base d'un AP

**Figure 16:** Structure de base des quatre types à base de nécine qui sont présents dans la grande majorité des alcaloïdes de pyrrolizidine. Les AP de type rétronécine, héliotridine et otonécine sont toxiques, les AP de type platynécine sont considérés non toxiques.

**Figure 17 :** le stress oxydant

**Figure 18 :** Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH

**Figure 19:** extraction clevenger

**Figure 20 :** plaque CCM pour les testes des huiles essentielle.

**Figure 21 :** pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations Utilisées pour le BHT

**Figure 22 :** pourcentage d'inhibition de radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations de H.E.

**Figure 23 :** système  $\beta$ -carotène/ acide linoléique de H.E

**Figure 24 :** l'apparition de la couleur verte. (Réduction de fer)

**Figure 25 :** Pouvoir réducteur de H.E de la *C. Cheirifolium*

**Figure 26 :** plaque CCM pour le teste de l'extrait éthanolique et l'extrait aqueux

**Figure 27 :** changement de couleur de l'extrait éthanolique avec la solution DPPH

**Figure 28 :** pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations d'extrait éthanolique.

**Figure 29 :** la couleur verte des différentes concentrations d'extrait éthanolique

**Figure 30 :** réduction de fer de l'extrait et BHT

**Figure 31 :** le teste d'alcaloïdes avec le réactif Wagner

**Figure 32 :** les ondes d'inhibition des extraits aqueux et éthanolique

## Liste des tableaux

**Tableau 1** : composition chimique d'une H.E

**Tableau 2**: les différentes classes des composés phénoliques

**Tableau 3**: Principales classes de flavonoïdes

**Tableau 4** : la distribution nutritionnelle de certains flavonoïdes

**Tableau 5**: les familles des composés sélectionnés

**Tableau 6** : les pourcentages des composées identifiées

**Tableau 7** : les structures des composées identifiées

**Tableau 8** : Résultats de *cynoglossum cheirifolium* test de DPPH

**Tableau 9** : Résultats de *cynoglossum cheirifolium* Test de blanchissement du  $\beta$  – carotène

**Tableau 10** : l'absorption à différentes concentrations pour la réduction de fer

**Tableau 11** : l'inhibition de radical DPPH à différentes concentrations de extrait éthanolique

**Tableau 12** : l'absorption de différentes concentrations de l'extrait éthanolique

**Tableau 13** : les différentes familles détectées aux extraits

**Tableau 14** : les ondes d'inhibition de différentes souches

# Introduction générale

---

Les plantes sont depuis toujours une source essentielle de médicaments. Aujourd'hui encore une majorité de la population mondiale, plus particulièrement dans les pays en voie de développement, se soigne uniquement avec des remèdes traditionnels à base de plantes.

L'industrie pharmaceutique moderne elle-même s'appuie encore largement sur la diversité des métabolites secondaires végétaux pour trouver de nouvelles molécules aux propriétés biologiques inédites. Cette source semble inépuisable puisque seule une petite partie des 400'000 espèces végétales connues ont été investiguées sur les plans phytochimique et pharmacologique, et que chaque espèce peut contenir jusqu'à plusieurs milliers de constituants différents [1].

Certains plantes ne sont pas exclusivement utilisées pour les soins médicaux humains mais également appliquées en médecine vétérinaire comme plantes toxiques utilisées comme pesticide, poison de flèche ou de pêche ou encore comme narcotiques [2].

La phytothérapie, c'est l'emploi des médicaments végétaux pour soigner les différents maux dont on peut être victime. On utilise ainsi fleurs, feuilles, racines, plantes entières cueillies dans la nature environnante, mises en œuvre sous forme de tisanes, de gélules [3].

L'utilisation des plantes pour se soigner date de la préhistoire et tous les peuples sur tous les continents ont cette vieille tradition. Malgré les efforts des chimistes, de synthétiser de nouvelles molécules, plus de 25 % des médicaments prescrits dans les pays développés dérivent directement ou indirectement des plantes [4].

Nombreuses sont les espèces aromatiques et médicinales, nous avons choisi d'étudier une plante dans la région ouest de l'Algérie, plus précisément Tlemcen : *Cynoglossum Cheirifolium*. Cette plante utilisée depuis longtemps, considérée comme interchangeable thérapeutique. Largement répandue dans le monde et plus précisément dans le bassin méditerranéen. Elle est reconnue comme l'une des plantes médicinales spontanées les plus efficaces [5].

Dans cette optique, l'étude de la phytochimie fait l'objet d'intenses investigations pour aider à déterminer les constituants chimiques présents dans les plantes médicinales. Pour mener à bien ces investigations ; La plante entière a été cueilli dans son habitat naturel afin de déterminer et analyser leurs éventuels effets pharmacologiques. Un des outils indispensables est la connaissance du screening phytochimique ou criblage phytochimique qui permet de déceler la présence des groupes de familles chimiques dans une « drogue » donnée. Le

# Introduction générale

---

screening phytochimique joue un rôle essentiel dans la caractérisation des groupes de familles chimiques dans une plante donnée, par contre, il ne permet pas d'identifier ou de déterminer la structure chimique des composés présents [2].

La *C.Cheirifolium* appartient à la famille de la borraginacée, peut contenir de nombreuses substances chimiques capables de manifester diverses activités pharmacologiques remarquables. Parmi ces substances nous nous sommes intéressés aux flavonoïdes et aux alcaloïdes qui sont des composés organiques azotés et naturels, le plus souvent d'origine végétale [2].

Le genre *cynoglossum* (borraginacée) est une source très riche en alcaloïdes. A l'heure actuelle, les chercheurs ont isolé à partir des différents organes du genre *cynoglossum* plusieurs alcaloïdes de type pyrrolizidine [6-7].

Pour mener à bien cette étude sur la *Cynoglossum Cheirifolium*, un certain nombre d'objectifs ont été fixés :

- Réaliser un criblage phytochimique complet à partir de la partie aérienne de la plante pour déceler la présence d'alcaloïdes et d'autres groupes de familles chimique.
- Extraction de l'huile essentielle et récupérer de l'hydrolat
- Déterminer le pourcentage de l'activité antioxydant et antibactérienne
- Analyser et identifier l'huile essentielle par CPG-SM.

# Introduction générale

---

## References:

- [1] Hostettmann K., Potterat O., Wolfender JL.: (1998). The potential of Higher Plants as a Source of New Drugs. *Chimia* 52 : 10-17.
- [2] Badiga. M, .(2012) Etude ethnobotanique ,phytochimique et activités biologiques de *NEUCLEA LATIFOLIA* Smith une plante médicinale africaine récoltée au mali. THESE DE DOCTORAT A UNIVERSITE BLAISE PASCAL DE CLERMONT.FERRAND
- [3] Dr. Daniel (2010). SCIMECA ;Dr Max TETAU. Le guide familial de phytothérapie.
- [4] Damintoti karou, Mamoudzou h. Dicko, Jacques Simpore, Saydou Yameogo, Souleyman Sanon, Alfred s. Traore, .(2005) activites antioxydantes et antibacteriennes des polyphenols extraits de plantes medicinales de la pharmacopee traditionnelle du burkina faso
- [5] Chemli r. (1997) plantes medicinales et aromatiques de la flore de tunisie. in : heywood v.h. (ed.),skoula m. (ed.). identification of wild food and non-food plants of the mediterranean region. chania :ciheam,. p. 119-125 (cahiers options mediterraneennes; n. 23)
- [6] Nicole M. van dam,T ludger witte, claudine theuring and Thomas hartmann. (1995).distribution, biosynthesis and turnover of pyrrolizidine alkaloids in *c ynoglossum officinale*.*pytochemistry* 39(2),pp.287-292,
- [7] A. El-shazly,T. sarg, A. Ateya, E. Abdel aziz, L. wittet and M. wink(1996)..pyrrolizidine alkaloids of *cynoglossum officinale* and *cynoglossum amabile* (family boraginaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, Vol. 24, No. 5, pp. 415-421.



# Chapitre I : Etude ethnobotanique

---

L'enquête ethnobotanique est un travail de terrain qui consiste à aller à la rencontre des praticiens traditionnels pour s'enquérir de leur méthode de traitement des maladies. Cette enquête est indispensable dans la mesure où elle nous permet de nous orienter afin de cibler certains tests biologiques. L'outil de travail est élaboré une série de questionnaires [1].

## **1-Définition de genre *Cynoglossum* :**

Le genre *Cynoglossum* comprend une cinquantaine d'espèces réparties dans le monde entier. Appartient de la famille Boraginaceae. Les alcaloïdes de groupes pyrrolizidine sont des constituants communs des Boraginaceae [2]

## **2-Description de la plante :**

*Cynoglossum Cheirifolium*, cette plante s'élève jusqu'à 3-4 décimètre ; sa tige est branchue, un peu anguleuse et chargée d'un duvet blanc extrêmement court, ses feuilles sont allongées, étroites, spatulées, blanchâtres ; argentées et presque soyeuses, les corolles sont blanches et tachées de rouge, leurs pédoncules et les bords de leurs calices sont cotonneux, les corolles sont deux fois plus long que le calice. On trouve cette plante dans les lieux stériles. La période de floraison est du mois de mai à juillet [3].



Figure 1: *C. Cheirifolium*

## **3- Classification : [4]**

<b>Règne :</b>	<u>Plantae</u>
<b>Division :</b>	<u>Magnoliophyta</u>
<b>Classe :</b>	<u>Magnoliopsida</u>
<b>Ordre :</b>	<u>Lamiales</u>
<b>Famille :</b>	<u>Boraginaceae</u>
<b>Genre :</b>	<u>Pardoglossum</u>

# Chapitre I : Etude ethnobotanique

---

## **3.1- Nom binominal :**

Pardoglossum cheirifolium

Basionyme : *Cynoglossum cheirifolium* L. [1753, Sp. Pl., éd. 1 : 135]

## **3.2- Synonymes :**

- ❖ *Cynoglossum Argenteum* Lam. [1779, Fl. Fr., 2 : 277]
- ❖ *Cynoglossum Cheirifolium* L. [1753, Sp. Pl., éd. 1 : 135]
- ❖ Basionyme : *Cynoglossum cheirifolium* L. [1753, Sp. Pl., éd. 1 : 135]
- ❖ *Anchusa lanata* L. [1759, Syst. Nat., éd. 10, 2 : 914]
- ❖ *Solenanthus lanatus* Murb. [1898, Acta Univ. Lund., 34 (2), 7 : 16]
- ❖ *Alkanna tinctoria* Tausch [1824, Flora (Regensb.), 7 : 234] .[5]

## **3.3- Les noms usuels :**

Le cynoglossum a plusieurs appellations vulgaires selon les différentes régions.

- Algérie : Ouadnine eljadienne , afrad , el massassa
- Espagne : Viniebla de hoja de alhelí
- France : Cynoglosse à feuilles giroflée
- Italie : Lingua-di-cane giallastra [5]

## **4- Caractéristiques du sol et climatique :**

Le *C. cheirifolium* pousse sur le pourtour méditerranéen, sur des sols d'un pH basique et sec, de texture argile, très riche en nutriments et pauvre de matière organique. Cette plante préfère une exposition ensoleillée à semi-ombragée [5].

## **5 Répartition géographique :**

La plante est répandue dans le bassin méditerranéen



**Figure 2 : Distribution dans le bassin méditerranéen**

# Chapitre I : Etude ethnobotanique

## **8- la récolte :**

*Le cynoglossum cheirifolium* a été récolté le mois de mars, à partir de deux stations différentes de la région Tlemcen : Remchi et Nedroma.



Figure 3 : Remchi



figure 4 : Nedroma

## **9- Identification botanique :**

L'espèce a été identifiée par Monsieur le Dr F. Hassani enseignant au département de Biologie, laboratoire botanique, Faculté des SNV/STU, université de Tlemcen

## **10- Utilisation populaire :**

D'après la population de la région, l'utilisation médicinale traditionnelle de la *cynoglossum cheirifolium* est pour [6]:

- ❖ L'acné
- ❖ Diarrhée
- ❖ blessures
- ❖ l'ulcère

Cette plante est utilisée par voie orale et externe[7].

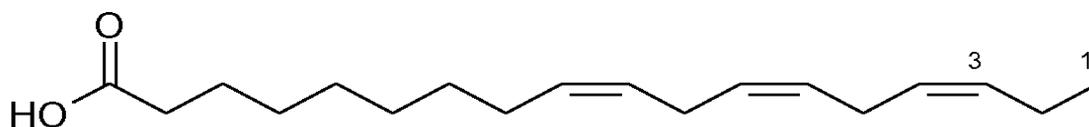
## **11-TRAVAUX :**

### **1-les travaux sur les acides gras (source nouveau de l'acide $\alpha$ linolique ) :**

Des travaux effectués sur la partie aérienne de *Cynoglossum Cheirifolium* ont montré la présence des acides gras. Ces derniers ont été obtenus par extraction et identifiés par la chromatographie en phase gazeuse(CPG) [6].

Le rendement d'huile d'acides gras : 9.19 %

Le composé majoritaire :  $\alpha$ \_acide linolénique (ALA) 18 :3w3  $\Rightarrow$  39.35%



**Figure 5 :**  $\alpha$ \_acide linolénique

# Chapitre I : Etude ethnobotanique

---

## **2-étude sur l'activité antioxydant : [8]**

L'activité antioxydante a été testé sur les feuilles de la *C. cheirifolium* par deux méthode : DPPH, et  $\beta$ \_carotène avec un **IC50 : 80.32±1.57  $\mu\text{g.ml}^{-1}$**

Le rendement des polyphénols totaux et les flavonoïdes obtenus pour un dosage de ces dernier sur les feuilles de *C. cheirifolium* est de :

**Contenu total phénoliques : 48.38±1.24**

**Contenu flavonoïdes : 17.47±0.90**

# Chapitre I : Etude ethnobotanique

---

## Références :

[1] Badiga. M, (2012) Etude ethnobotanique ,phytochimique et activites biologiques de *NEUCLEA LATIFOLIA* Smith une plante medicinale africaine recoltee au mali. Thèse de Doctorat , Universite Blaise Pascal de Clermont.Ferrand France

[2] Schmelzer, G.H. , Gurib-Fakim, A. (2008) .Ressources végétales de l'Afrique tropicale 11(1).Plantesmédicinales1 fondation Prota/Backhuys Publishers/CTA Wageningen, Pays-Bas,p. 847-866

[3] MM. De lamarck et de candolle (1815), flore française ou descriptions succinctes de toutes les plantes qui croissent naturellement en France, 3,p636.

[4] (L.) E. Barbier & Mathez,(1973), Candollea 28: 306 .

[5] DELAHAYE Thierry, LEQUAY Arthur, PRUNIER Patrice (2002). Les découvertes botaniques de nos sociétaires , Bulletin de la Société Mycologique et Botanique de la Région Chambérienne, 1, N°7. p. 28- 32.

[6] Belda, A., Zaragozaí, B. Belda, I. Martínez, J.E. and Seva, E. (2013).TRADITIONAL KNOWLEDGE OF MEDICINAL PLANTS IN THE SERRA DE MARIOLA NATURAL PARK,SOUTH-EASTERN SPAIN., Afr J Tradit Complement Altern Med. 10(2):299-309

[7] Dr,A.martin–lauzer.Revuedethérapeutique médico\_chirurgicale. (1889). VOL1870. Page 129.

[8] W., Rached., H. Benamar. ;M. Bennaceur and A. Marouf.(2010). Screening of the antioxidant potential of some Algerian indigenous plants.journal of biological sciences 10(4) : 316-324.

# Chapitre II : les huiles essentielles

---

## **1 – introduction :**

Depuis longtemps, les hommes avaient cherché le moyen de séparer les éléments huileux des produits aromatiques. Ils réussirent en soumettant la matière à l'action de la chaleur. Les substances aromatiques étaient transformées en vapeur ; il suffisait de les recueillir et de les refroidir pour les obtenir sous forme liquide. Ce procédé qui se faisait à feu nu, prit le nom de distillation. Il était certainement connu des Chinois et des Indiens depuis 20 siècles avant J.C. Les Egyptiens et les Arabes ont prévalu des caractéristiques médicinales et aromatiques des plantes : la conservation des momies, l'aromatisation des bains, la désinfection des plaies avec les onguents, les parfums et la fabrication des boissons aromatiques [1].

## **2-Définition :**

C'est un liquide concentré, très complexe et hydrophobe. Il est obtenu par extraction mécanique, distillation à la vapeur d'eau ou distillation à sec de plantes aromatiques fleur, feuille, bois, racine, écorce, fruit,...). Une huile essentielle est donc l'essence distillée de la plante aromatique. Issue du feuillage de la plante, l'huile essentielle possède une composition chimique variable selon les chimiotypes, les sols, les climats, les périodes, les heures de récoltes et les conditions du stockage.

Elles ont des propriétés et des modes d'utilisation particuliers et donnent naissance à un branche nouvelle de la phytothérapie : l'aromathérapie. [1]

L'huile essentielle est composée d'une centaine de **molécules terpéniques et aromatiques** particulièrement actives sur le métabolisme humain.

- Parce que les huiles essentielles sont à la mode, le marché offre de nombreux choix aux consommateurs mais il faut prendre garde à la qualité car seules les huiles essentielles chémotypées (c'est-à-dire botaniquement et biochimiquement définies) sont adéquates à la pratique de l'aromathérapie.

« essence » **molécules odoriférantes contenues dans la plante.**

« huile essentielles » **extrait naturel obtenu par entraînement à la vapeur d'eau d'un végétale.**

« huile » **caractère visqueux et hydrophobe**

« Essentielle » **caractère principal typique de la fragrance.**

# Chapitre II : les huiles essentielles

## 3-Characterisation d'une huile essentielle : [2]

### 3-1 -Propriétés physiques :

- Densité en général inférieure à 1

Exceptions : cannelle : 1.025 – 1.070

Girofle : 1.044-1.057

- Indice de réfraction assez élevé

Coriandre : 1.4620-1.4700

Vétyver bourbon : 1.5220-1.5300

- Pouvoir rotatoire :

Il permet d'indiquer si elle possède une activité optique :

❖ Dextrogyre est noté D ou (+)

❖ Lévoogyre est noté L ou (-).

### 3-2-Composition chimique d'une huile essentielle :

<u>Hydrocarbures</u> :
<b>Hémiterpéniques C5   Monoterpéniques C10   Sesquiterpéniques C15</b>
<b>Diterpéniques C20</b>
<u>Cétones</u> :
<b>Carvone   <math>\alpha</math> et <math>\beta</math> vétivones</b>
<u>alcools</u> :
<b>menthol   linalol</b>
<u>acides</u> :
<b>acide cinnamique   acide cyclocopacamphénique</b>
<u>ether-oxydes</u> :
<b>eucalyptol</b>
<u>aldéhydes</u> :
<b>citral   aldéhyde cinnamique</b>
<u>esters</u> :
<b>acétate de linalyle   acétate de géranyle</b>

Tableau 1 : composition chimique d'une H.E [2]

## Chapitre II : les huiles essentielles

---



Période de la journée : La qualité de l'essence d'une plante varie en fonction de la période de la journée où elle est récoltée. C'est dès l'aube, lorsque la rosée s'évapore, que la concentration des huiles essentielles est la plus élevée dans les plantes, car les gouttelettes de rosée empêchent encore l'évaporation des huiles. A défaut, on peut récolter en fin d'après-midi ou en début de soirée, au moment où les plantes exhalent le moins leur parfum.[3-4].

### **4- Toxicité des huiles essentielles :**

Les H.Es ne sont pas des produits qui peuvent être utilisées sans risque. Certaines H.Es sont dangereuses lorsqu'elles sont appliquées sur la peau, en raison de leur pouvoir irritant (les huiles riches en thymol, ou en carvacrol), allergène (huiles riches en cinnamaldéhyde) ou photo-toxique (huiles de citrus contenant des furacoumarines), d'autres H.Es ont un effet neurotoxique (les cétones comme l' $\alpha$ -thujone sont toxiques pour les tissus nerveux). La toxicité des H.Es est assez mal connue. Il manque de données sur leurs éventuelles propriétés mutagènes et cancérigènes. La plupart du temps, sous le terme de toxicité sont décrites des données expérimentales accumulées en vue d'évaluer le risque que représente leur emploi[5]

### **5- Différentes méthodes d'extraction des huiles essentielles les plus utilisées :**

Des nos jours, l'extraction des huiles essentielles et des arômes, pour les industries de la cosmétique, de la parfumerie et de l'agroalimentaire et pharmaceutique est réalisée via deux grandes techniques .La distillation azéotropique et l'extraction par solvant. Ces méthodes traditionnelles, éprouvées mais peu coûteuses, sont aujourd'hui remises en cause. Elles sont extrêmement consommatrices en énergie et en solvant. Ces derniers, généralement issus du pétrole, sont de plus en plus décrits pour leur impact sur la santé et l'environnement.

La plupart des huiles essentielles sont obtenues par distillation et entraînement à la vapeur d'eau. Le but est d'emporter avec la vapeur d'eau les constituants volatils des produits bruts. La vapeur détruit la structure des cellules végétales, libère les molécules contenues et entraîne les plus volatiles en les séparant du substrat cellulosique. La vapeur, chargée de l'essence de la matière première distillée, se condense dans le serpentín de l'alambic avant d'être récupérée dans un essencier (vase de décantation pour les huiles essentielles). Les parties insolubles dans l'eau de condensation sont décantées pour donner l'huile essentielle. La partie contenant les composés hydrosolubles est appelée eau de distillation (ou hydrolat ou eau florale)[6].

# Chapitre II : les huiles essentielles

## 5.1- Distillation – Evaporation

La différence entre distillation et évaporation, est l'intérêt porté aux produits séparés. Dans la distillation, c'est la phase vapeur qui a de la valeur car elle contient le ou les constituants à séparer, alors que dans l'évaporation, c'est le résidu solide ou liquide obtenu par vaporisation du solvant, qui est le produit intéressant. [7]



**Figure 6 :** Ancienne unité de distillation [2]

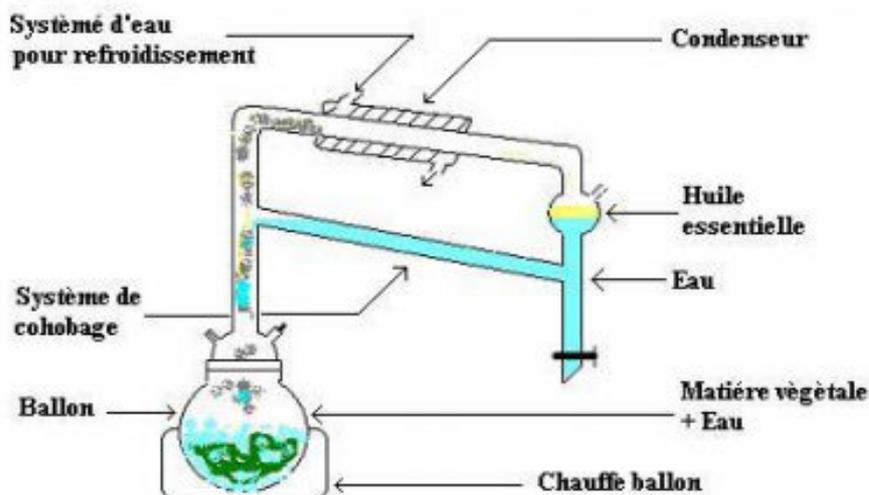
## 5.2- les extractions les plus utilisées :

### 5.2.1- Extraction par Hydrodistillation :

Distillation à l'eau ou «hydrodistillation» : le matériel végétal est en contact direct avec l'eau. Lorsque le végétal est broyé on parle de turbo distillation. [8].

L'hydrodistillation consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement broyé) dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité. Les inconvénients de cette méthode sont :

- ❖ la calcination du matériel végétal, ce qui entraîne une modification de la composition et des caractéristiques chimiques de l'huile essentielle [9]
- ❖ La non maîtrise de la température du récipient contenant le mélange (eau + organes végétaux)
- ❖ et la modification de l'odeur, de la couleur et de la composition de l'huile essentielle au cours de la distillation [10]

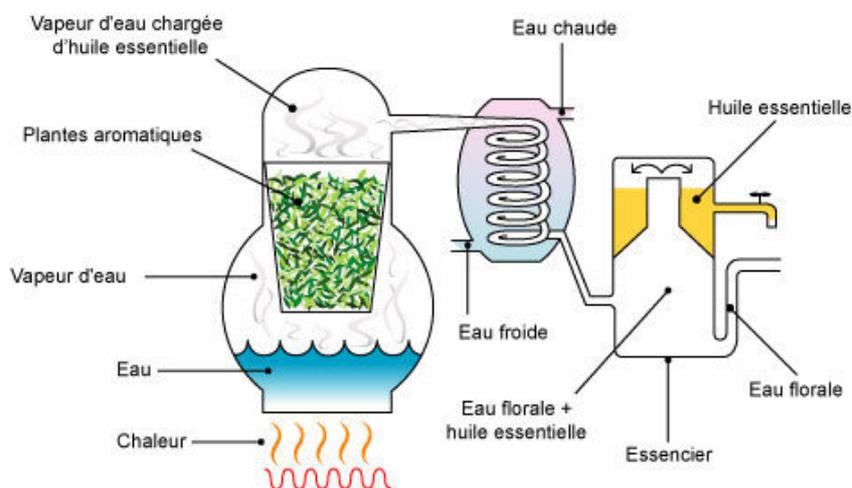


**Figure 7** : Appareillage utilisé pour l'hydrodistillation de l'huile [11]

## 5.2.2- Extraction par La distillation à la vapeur :

Distillation à la vapeur saturée : «vapo-hydrodistillation» : c'est le procédé le mieux adapté à l'extraction des essences, surtout si elles sont destinées à des fins thérapeutiques [12].

Le matériel végétal, dans ce cas, n'est pas en contact avec l'eau, il se trouve supporté par une grille ou une plaque perforée placée à une distance adéquate du fond de l'alambic, rempli d'eau. Sous l'action de la chaleur, l'eau se transforme en vapeur et passe à travers les plantes en entraînant les molécules aromatiques vers un système de refroidissement. La vapeur d'eau chargée ainsi d'essence retourne à l'état liquide par condensation. Le produit de la distillation se sépare donc en deux phases distinctes : l'huile et l'eau condensée que l'on appelle eau florale ou hydrolat [13].



**Figure 8** : distillation à la vapeur [14]

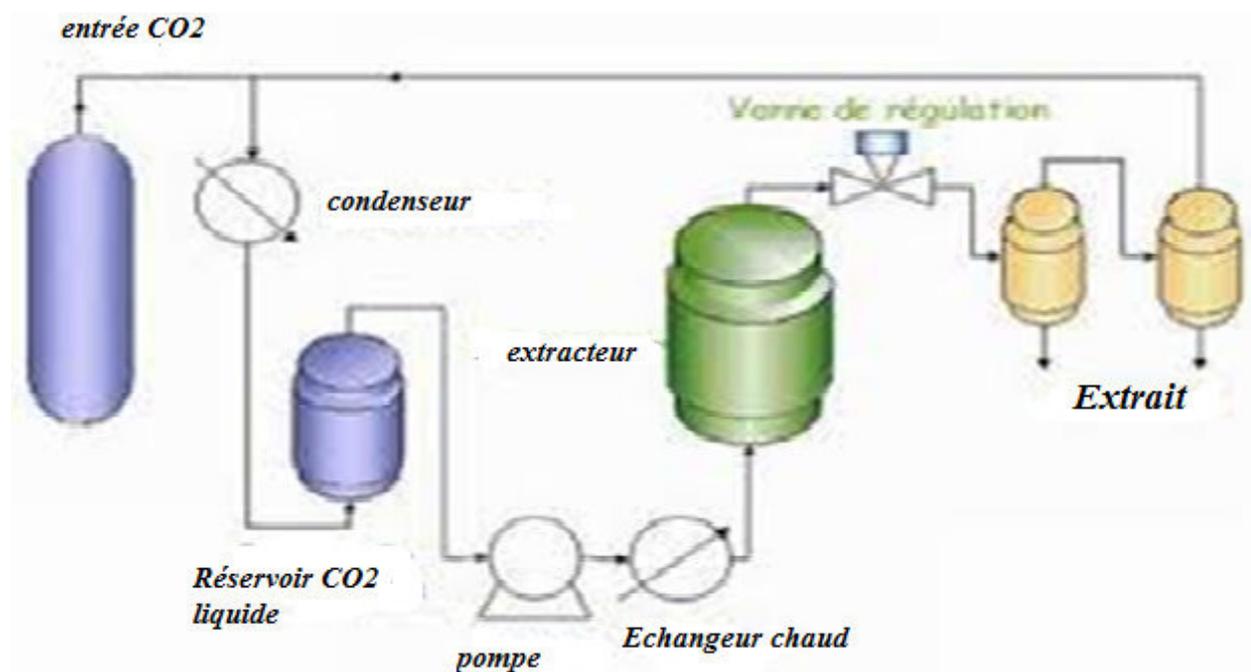
## Chapitre II : les huiles essentielles

### 5.2.3- Technique d'Extraction au CO<sub>2</sub> supercritique :

L'extraction au CO<sub>2</sub> supercritique est une technique intéressante qui apporte de nouvelles notes olfactives (méthode d'extraction plus complète et moins dégradante que par la vapeur d'eau). Cependant son installation industrielle reste onéreuse, et l'appareillage est encore envahissant [15]

L'originalité de cette technique repose sur le solvant utilisé : il s'agit du CO<sub>2</sub> en phase supercritique. À l'état supercritique, le CO<sub>2</sub> n'est ni liquide, ni gazeux, et cela lui confère un excellent pouvoir d'extraction, modulable à volonté en jouant sur la température de mise en œuvre. Les fluides supercritiques comme le CO<sub>2</sub> sont de bons solvants à l'état supercritique, et de mauvais solvants à l'état gazeux. Les avantages de ce procédé sont les suivants :

- ❖ Le CO<sub>2</sub> est totalement inerte chimiquement, il est naturel, non toxique et peu coûteux.
- ❖ On utilise des basses températures pour sa mise en œuvre.
- ❖ En fin de cycle, la séparation entre le solvant d'extraction et le soluté pour obtenir l'extrait est facile (simple détente qui ramène le CO<sub>2</sub> à l'état gazeux), avec une récupération quasi-totale et peu coûteuse.
- ❖ Les frais de fonctionnement, à l'échelle pilote ou de laboratoire, sont réduits (le CO<sub>2</sub> est continuellement recyclé).



**Figure 9** : principe de l'extraction au CO<sub>2</sub> [15]

## Chapitre II : les huiles essentielles

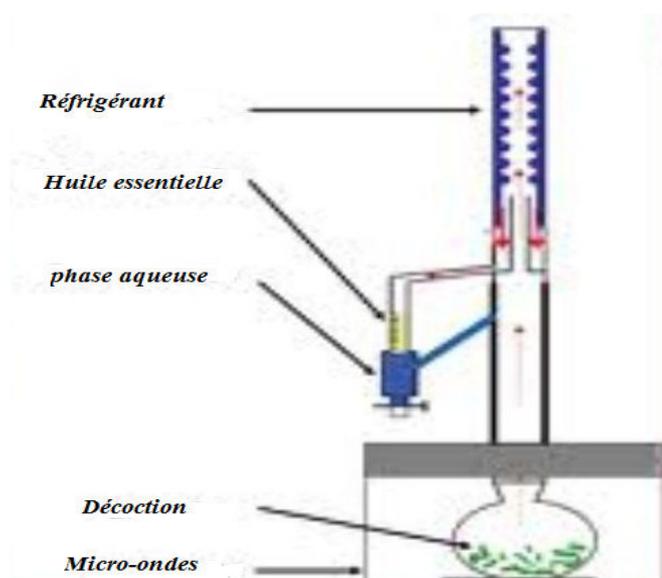
### 5.2.4- Extraction assistée par micro-onde :

Les rayonnements micro-ondes sont des ondes électromagnétiques qui se propagent dans le vide à la vitesse de la lumière. Elles sont caractérisées par une fréquence comprise entre 300 MHz et 30 GHz, c'est-à-dire par une longueur d'onde comprise entre 1 m et 1 cm. Sur le spectre électromagnétique, elles sont situées entre les radiofréquences et les infrarouges [17].

Parmi les technologies d'extraction les plus prometteuses, l'extraction par micro-ondes, est l'une des méthodes les plus récentes pour l'extraction de molécules d'intérêt avec un impact environnemental positif: moins d'énergie, de solvants et des eaux usées. En effet, depuis 1960, cette technologie est bien implantée dans des domaines variés comme: la synthèse organique [16,17], l'analyse des moisissures [18], l'environnement [19,20], l'agroalimentaire [21,22], le séchage [23], la médecine [24] et l'extraction [16,25]. Les premiers travaux utilisant les micro-ondes pour extraire des composés organiques ont été publiés en 1986. Depuis cette date, les micro-ondes sont de plus en plus utilisées dans le domaine de l'extraction des produits végétaux dont les trois principaux procédés sont:

- ❖ l'extraction par solvant assistée par micro-ondes «MAE» [26].
- ❖ l'hydrodistillation par micro-ondes sous vide pulsé «VMHD» [27].
- ❖ l'hydrodiffusion assistée par micro-ondes «MHG» [28].

Ainsi, grâce à un chauffage volumique et sélectif, la technologie de l'extraction par micro-onde paraît être une alternative intéressante puisqu'elle autorise l'utilisation réduite de solvant, des temps de traitement plus courts, des rendements plus élevés et une meilleure sélectivité

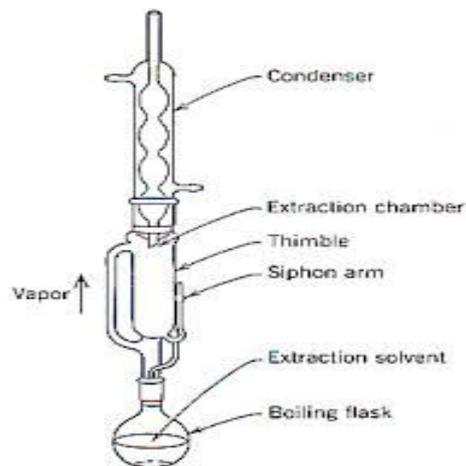


**Figure 10 : Extraction par micro-ondes**

## Chapitre II : les huiles essentielles

### 5.2.5- Extraction par Soxhlet :

L'extraction par l'appareil de Soxhlet consiste à faire passer à travers la matière à traiter contenue dans une cartouche de cellulose, un flux descendant de solvant toujours neuf puisque distillé à chaque cycle. Cette technique est loin d'être exclusive aux molécules aromatiques d'origine végétale[29]. Elle est fréquemment utilisée pour l'extraction de lipides[30], ou de divers autres catégories de molécules. De plus, cette technique d'extraction a été récemment combinée aux micro-ondes[31] et aux ultra-sons[32].



**Figure 11 :** Extraction par soxhlet

## Chapitre II : les huiles essentielles

---

### References :

[1] MÖLLER K.,(2008) :La distillation à l'alambic, un art à la portée de tous. Editorial UNICO. 152 P.

[2] Jacqueline smadja.; (2009). les huiles essentielles.; colloque GP3A- Tananarive .

[3] SALLE J-L.,(2004): Les huiles essentielles, synthèse d'aromathérapie. Editions Frison-Roche, 2ème édition. 220 p.

[4] MÖLLER K.,(2008 ) : La distillation à l'alambic, un art à la portée de tous. Editorial UNICO. 152 P

[5] GUBA R. (2001). Toxicity myths-essential oils and their carcinogenic potential. International Journal of Aromatherapy, 11, 76-83

[6] nabil bousabia., (2013)Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires. thèse de doctorat

[7 ] PEYRON L.,(1992) : Techniques classiques actuelles de fabrication des matières premières naturelles aromatiques. Chapitre 10, pp 217 – 238. Cité In : Les arômes alimentaires. Coordinateurs RICHARD H. et MULTON J.-L. Ed. Tec & Doc-Lavoisier et Apria. 438 p.

[8] LUCCHESI M.E. (2005).Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de Doctorat en Sciences, discipline: Chimie. Université de la Réunion, Faculté des Sciences et Technologies.

[9]Abou zaid., (2000) Ancynt Antarh warning Anasbet Nhishz and Ankysa Cairo 256 pages.

[10] Chalchat J.K., Carry L. P., Menut C., Lamaty G., Malhuret R. and Chopineau J. (1997) – Correlation between chemical composition and antimicrobial activity. VI. Activity of some African essential oils. J. Essent. Oil Res., 9: 67-75.

[11] Hernandez Ochoa L-R. (2005) – Substitution de solvants et matières actives de synthèse par une combine « solvant/actif » d'origine végétale. Thèse de doctorat, Institut national polytechnique de Toulouse.

[12] Bego Ph. (2001) - Connaître l'essentiel sur les huiles essentielles. Collection aromathérapie pratique et familiale, Ed. MDB Paris, pp.2-3.

[13] Benjilali B. (2004) – Extraction des plantes aromatiques et médicinales cas particulier de l'entraînement à la vapeur d'eau et ses équipements. Manuel pratique. Huiles essentielles : de la plante à la commercialisation. 17-59.

[14] KINGSTON M.M. et HASWELL S.J., (1997): Microwave – Enhanced Chemistry, Fundamentals, Sample Preparation, and applications. Edition American Chemistry Society, Washignton, DC, 772 p.

[15] Edit Székely. "Supercritical Fluid Extraction" (2007). Budapest University of Technology and Economics. Retrieved .

## Chapitre II : les huiles essentielles

---

[16] A. Loupy, (2006). *Microwaves in Organic Synthesis*, 2<sup>ème</sup> édition, Tome I et II. Wiley-VCH, Weinheim.

[17] K.T. J. Loones, B.U. W. Maes, G. Rombouts, S. Hostyn, G. Diels(2005)., Microwave-assisted organic synthesis: scale-up of palladium-catalyzed aminations using single-mode and multi-mode microwave equipment. *Tetrahedron*, 61, 1033810348.

[18] D.L. Luthria,( 2004).*Oil extraction and Analysis Critical Issues and Comparative Studies*, chapter 8.AOCS Press, United States,

[19] J. Clark, D.( 2002).*Macquarrie, Handbook of Green Chemistry and Technology*, chapter 17. Blackwell Science Ltd, London,

[20] X. Zhang,D.Hayward,(2006)Applications of microwave dielectric heating in environment-related heterogeneous gas-phase catalytic systems. *Inorganica Chimica Acta*,359,3421–3433,

[21] M.H. Lau, J. Tang,( 2002).Pasteurization of pickled asparagus using 915 MHz microwaves. *Journal of Food Engineering*, 51, 283–290.

[22] E. Chiavaro, M.T. Rodriguez-Estrada, E. Vittadini, N. Pellegrini, (2010).Microwave heating of different vegetable oils: Relation between chemical and thermal parameters. *LWT -Food Science and Technology*, 43, 1104-1112.

[23] B. Abbasi Souraki, D. Mowla, (2008.)Experimental and theoretical investigation of drying behavior of garlic in an inert medium fluidized bed assisted by microwave. *Journal of Food Engineering*, 88, 438–449.

[24] J. C. Lantis, K. L. Carr, R. Grabowy, R. J. Connolly, S. D. Schwaitzberg, (1998).Microwave applications in clinical medicine. *Surgical Endoscopy*, 12, 170–176.

[25] M. Franke, C.L. Winek, H.M. Kingston, (1996).Extraction of selected drugs from serum using microwave irradiation. *Forensic Science International*, 81, 51-59.

[26] K. Ganzler, A. Salgo, K.J. Valko, (1986).Microwave extraction: a novel sample preparation method for chromatography.*Journal of Chromatography*, 371, 229-306.

[27] P. Mengal, B. Mompon, (1996).Procédé et installation d'“extraction sans solvant de produits

## Chapitre II : les huiles essentielles

---

naturels par micro-ondes. Brevet Européen, EP 698 076 B1.

[28]F. Chemat, M. Vian, F. Visoni,(2008). Microwave hydrodiffusion for isolation of natural products. Brevet Européen,EP 1955749 A1.

[29]. E. Vagi, B. Simandi, A. Suhajda, E. Hethelyi, Food research international, (2005) Essential oil composition and antimicrobial activity of *Origanum marjorana* L. Extracts obtained with ethyl alcohol and supercritical carbon dioxide., 38, 51-57.

[30]. R. Zarnowski, Y. Suzuki, (2004). Expedient Soxhlet extraction of resorcinolic lipids from wheat grains Journal of Food Composition and analysis, 0 17, 649-663.

[31]. J.L. Luque-Garcia, M.D. Luque de Castro, Talanta, (2004). applications Focused microwave-assisted Soxhlet extraction :64, 571-577.

[32]J.L. Luque-Garcia, M.D. Luque de Castro(2004).Ultrasound-assisted Soxhlet extraction:an expeditive approach for solid sample treatment. Application to the extraction of total fat from oleaginous seeds. J.L. Luque-Garcia, M.D. Luque de Castro, Journal of Chromatography A, 1034, 237-242

# Chapitre III : Les métabolites secondaires

---

## 1- Introduction :

Les métabolites sont les molécules issues du métabolisme des végétaux (ou d'animaux). On distingue deux classes de métabolites : métabolites primaires et métabolites secondaires [1]

## 2- Métabolites primaires

Un métabolite primaire est un type de métabolite qui est directement impliqué dans la croissance, le développement et la reproduction normale d'un organisme ou d'une cellule. Ce composé a généralement une fonction physiologique dans cet organisme, c'est-à-dire une fonction intrinsèque. Un métabolite primaire est typiquement présent dans de nombreux organismes taxonomiquement éloignés. Il est également désigné par métabolite central, qui prend même le sens plus restrictif de métabolite présent dans tous les organismes ou cellules en croissance autonome.

## 3- Métabolites secondaires

### 3.1- Définition et fonction :

Les métabolites secondaires sont un groupe de molécules qui interviennent 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, comme agents allélopathiques ou pour attirer les agents chargés de la pollinisation ou de la dissémination des fruits [2]. En général, les termes, métabolites secondaires, xénobiotiques, facteurs antinutritionnels, sont utilisés pour déterminer ce groupe, il existe plus de 200.000 composés connus qui ont des effets antinutritionnels et toxiques chez les mammifères. Comme ces composés ont des effets toxiques, leur incorporation dans l'alimentation humaine peut être utile pour la prévention contre plusieurs maladies (cancer, maladies circulatoires, les infections viral...), car la différence entre toxicité et effet bénéfique est généralement soit dose ou structure- dépendant [3]

De façon générale, les métabolites secondaires sont caractéristiques des plantes supérieures. Ces métabolites secondaires sont repartis en trois grandes familles chimiques.

- ❖ les terpénoïdes et stéroïdes
- ❖ les composés azotés ou alcaloïdes
- ❖ les polyphénols

# Chapitre III : Les métabolites secondaires

## 3.2- Classification des métabolites secondaires :

### 3.2.1. Les composés phénoliques :

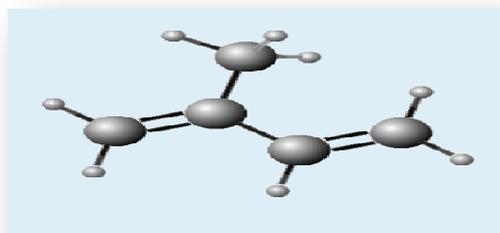
Les composés phénoliques sont une vaste classe de substances organiques cycliques très variées, d'origine secondaire qui dérivent du phénol  $C_6H_5OH$  qui est un monohydroxybenzène.

**Tableau 2:** les différentes classes des composés phénoliques [4]

Squelette carbonée	Classes de composés phénoliques
C6	Phénols simples et benzoquinones
C6-C1	Acides phénoliques
C6-C2	Acétophénones et les acides phenylacétiques
C6-C3	Acides hydroxy-cinnamiques, coumarines, phénylpropènes, chromons
C6-C4	Naphthoquinones
C6-C1-C6	Xanthones
C6-C2-C6	Stilbènes et anthraquinones
C6-C3-C6	Flavonoïdes et isoflavonoïdes
(C6-C1) <sub>2</sub>	Tannins hydrolysables
(C6-C3) <sub>2</sub>	Lignanes et néolignanes
(C6-C3-C6) <sub>2</sub>	Biflavonoïdes
(C6-C3) <sub>n</sub>	Lignines
(C6) <sub>n</sub>	Catéchols
(C6-C3-C6) <sub>n</sub>	Tannins condensés

### 3. 2.2- Les isoprénoïdes : (Stéroïdes et Terpénoïdes) :

Les terpénoïdes sont des métabolites secondaires synthétisés par les plantes, organismes marins, les champignons et même les animaux, ils résultent de l'enchaînement de plusieurs unités isoprénique [5]



**Figure 12** : structure d'une unité isoprénique.

# Chapitre III : Les métabolites secondaires

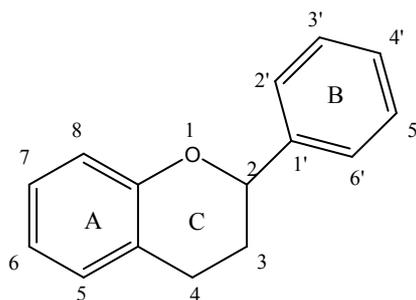
## 3.2.3- Les composés azotés (dérivés des acides aminés) : Alcaloïdes

On peut définir de manière simple « un alcaloïde est une substance organique azotée (appartenant au vivant) d'origine végétale, à caractère alcalin et présentant une structure complexe) [9]. Leur atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique ; les alcaloïdes possèdent une activité pharmacologie significative [6]

## 4- Flavonoïdes

### 4.1- Structures et classifications des flavonoïdes

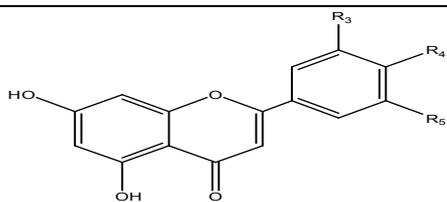
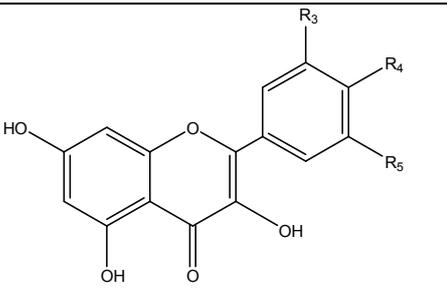
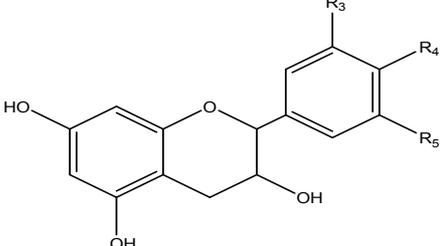
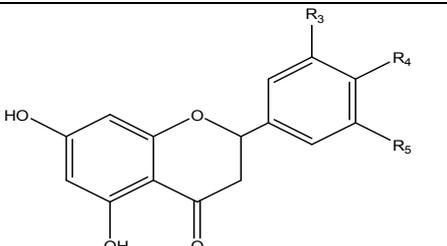
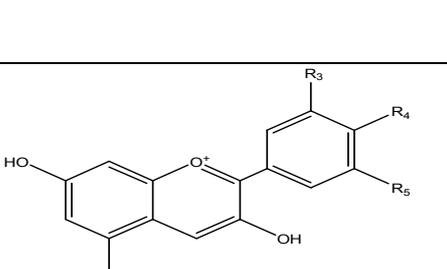
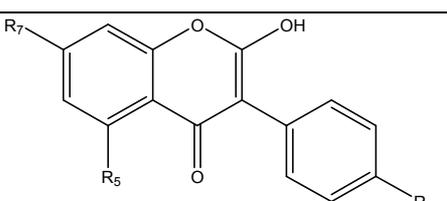
Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux. Ces molécules ont un poids moléculaire faible, se présentant en 15 atomes de carbones arrangés comme suit : C6-C3-C6, elles sont composés de deux noyaux aromatiques A et B, liés par un pont de 3 carbones souvent sous forme d'un hétérocycle. Structuralement, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules, dont les plus importantes sont les flavones, les flavonols, les flavanones, les dihydroflavonols, les isoflavones, les isoflavanones, les chalcones, les auronnes, les anthocyanes et les tanins. Les substitutions touchant les noyaux A ou B qui peuvent survenir dans chaque classe des flavonoïdes sont : une oxydation, alkylation, glycosylation, acylation, et sulfonation [7,8]. Ces diverses substances se rencontrent à la fois sous forme libre ou sous forme de glycosides. On les trouve, d'une manière très générale, dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits [9], et aussi dans le miel [10].



**Figure 13** : Structure de base des flavonoïdes

# Chapitre III : Les métabolites secondaires

## 4.2- Classification : Tableau 3: Principales classes de flavonoïdes [11].

Classes	Structure chimique	R3	R4'	R5	Exemples
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH3	H	Diosmétine
Flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myrecétine
Flavanols		OH	OH	H	Catéchine
Flavanones		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Anthocyanidines		H	OH	H	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine
isoflavones		R5	R7	R4'	
		OH	OH	OH	Genisteine
		H	O-Glu	OH	Daidzeine

## Chapitre III : Les métabolites secondaires

### 4.3- Distribution et localisation :

Les flavonoïdes sont largement abondants dans les légumes, feuilles (salade, choux, épinards, etc.), ainsi que dans les téguments externes des fruits. Récemment, de nombreux travaux ont montré que certains fruits et légumes sont très riches en flavonols, flavones et flavanones. [12, 13, 14].

Le **Tableau 4** : la distribution nutritionnelle de certains flavonoïdes.

Flavonoïdes	Aliments
Flavonones	naringénine Fruits de genre citrus
Flavones	chrysin Peau des fruits apigénine Persil, thym, romarin, céleri lutéonile Persil, céleri
Flavonols	kæmpférol Radis, brocoli, thé noir quercétine Oignon, pomme, olive, vin rouge, tomate myricitine Canneberge, vin rouge
Flavan-3-ols	épicatéchine Thé vert, thé noir catéchine Thé vert, thé noir épigallocatechine Vin rouge
<b>Anthocyanidols</b>	
cyanidol	Cassis, myrtilles
malvidol	Raisins, fraises, cassis
apigenidol	Framboises, fraises

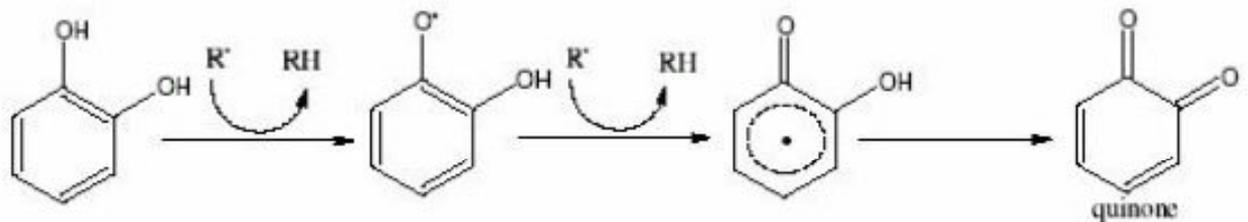
### 4.4- Propriétés des flavonoïdes

Les flavonoïdes présentent un intérêt thérapeutique qui date de la découverte de la vitamine C par Szent Gyorgyi (*Prix Nobel*, 1937), chercheur de l'Université de Szeged (Hongrie), qui a constaté que les symptômes hémorragiques du scorbut, liés à la fragilité ou l'hyperperméabilité des vaisseaux, étaient guéris par des extraits de paprika ou de jus de citron, riches en vitamine C et flavonoïdes. Cette action a été appelée propriété vitaminique P (P étant la première lettre du mot perméabilité) [15]

# Chapitre III : Les métabolites secondaires

## 4.5- Les flavonoïdes comme antioxydants

Les flavonoïdes (Fl-OH) sont thermodynamiquement capables de réduire les radicaux libres oxydants comme le superoxyde, le peroxyde, l'alkoxyde et l'hydroxyle par transfert d'hydrogène (Figure 2) [16]



**Figure 14:** Piégeage des radicaux libres (R•) par les flavonoïdes [16]

D'autres études ont montré que les flavonoïdes sont aussi des bons inhibiteurs d'enzymes responsables de la production des radicaux libres comme la xanthine oxydase, la cyclooxygénase et la lipooxygénase [17-18]

## 4.6- Propriétés biologiques et pharmacologiques des flavonoïdes :

### 4.6.1- Propriétés anti-hépatotoxiques

La quercétine a été décrite comme étant un flavonoïde qui possède une activité protectrice vis-à-vis de l'hépatotoxicité du paracétamol chez le rat et la souris.

### 4.6.2- Propriétés antiallergiques

Les flavonoïdes peuvent inhiber les enzymes qui favorisent la libération d'histamine à partir des mastocytes et des basophiles.

### 4.6.3- Activité anti-inflammatoire :

In vitro, plusieurs flavonoïdes sont capables de modifier le métabolisme de l'acide arachidonique plaquettaire : la myricétine et la quercétine bloquent l'action des cyclooxygénase et lipooxygénase à des concentrations relativement élevées.[19-20]

### 4.6.4- Activité anti-ulcérogène

La naringine et la quercétine exercent une activité anti-ulcérogène mise en évidence chez le rat dont l'ulcère gastrique a été induit par l'éthanol (à 50 %). La quercétine inhibe également la croissance d'*Helicobacter pylorii* (très résistant aux antibiotiques).

### 4.6.5- Autres propriétés expérimentales (in vitro)

Propriétés diurétiques, anti-spasmodiques, anti-bactériennes et anti-virales.

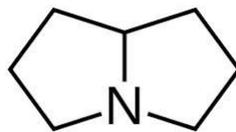
## 5- Alcaloïdes :

On divise les alcaloïdes en trois genres : les alcaloïdes vrais, les proto-alcaloïdes et les pseudo-alcaloïdes.

## Chapitre III : Les métabolites secondaires

- a- Les alcaloïdes vrais qui représentent le plus grand nombre d'alcaloïdes, sont toxiques et disposent d'un large spectre d'activités biologiques importantes. Ils dérivent d'acides aminés et comportent un atome d'azote dans un système hétérocyclique. Ces substances sont douées d'une grande activité biologique, même à faible dose. Ils sont présents dans les plantes.
- b- Les pseudo-alcaloïdes présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivés des acides aminés. Les alcaloïdes astéroïdaux et les purines sont les représentants principaux de cette classe d'alcaloïdes.
- c- Les proto-alcaloïdes sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique ; ils ont un caractère basique et sont élaborés in vivo à partir d'acides aminés. Ils sont souvent appelés (amines biologiques) et sont solubles dans l'eau. [21].

### 5.1- Les alcaloïdes pyrrolizidines :



**Figure 15** : structure de base d'un AP

Les alcaloïdes de pyrrolizidine (AP) sont des toxines naturellement présentes dans une grande variété d'espèces végétales. Les AP sont probablement les toxines naturelles les plus largement répandues et affectent la faune sauvage, les animaux d'élevage et les humains. Les intoxications endémiques chez les animaux d'élevage peuvent entraîner des pertes économiques graves pour les exploitants et les communautés rurales et il existe une possibilité de risque pour les humains à partir de l'ingestion d'aliments d'origine animale ou végétale contaminés par les AP.

La FAO (2010) a indiqué que les principales familles végétales qui contiennent des AP sont les Asteraceae (Compositae), les Boraginaceae et les Fabaceae (Leguminosae). Chez les Asteraceae, les genres Senecio et Eupatorium sont de loin les plus connus pour leur teneur en AP, par contre, chez les Boraginaceae, la plupart des genres, par exemple les espèces Heliotropium ou Echium, sont connus pour leur teneur en AP.

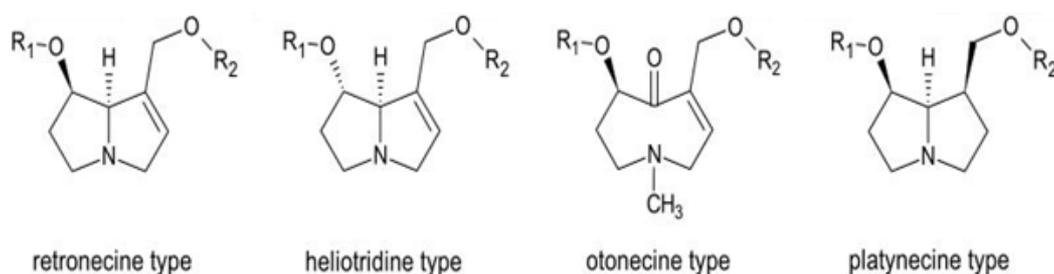
Plus de 6 000 espèces végétales contiennent probablement des AP, même si l'intoxication directe chez l'homme et chez les animaux ne semble être liée qu'à quelques espèces seulement. L'intoxication engendrée par ces toxines est associée à des lésions aiguës et chroniques du foie. [22].

# Chapitre III : Les métabolites secondaires

## 5.2- Chimie des APs:

Les AP sont des composés hétérocycliques et la plupart d'entre eux sont dérivés de quatre bases de nécine: la rétronécine, l'héliotridine, l'otonécine et la platynécine.

Les AP du type platynécine sont considérés non-toxiques [23]. La plupart des AP naturellement présents dans les végétaux sont des nécines estérifiées ou des alcaloïdes N-oxydes (à l'exception des alcaloïdes du type otonécine), alors que les AP non estérifiés sont moins fréquemment présents dans les végétaux.



**Figure 16:** Structure de base des quatre types à base de nécine qui sont présents dans la grande majorité des alcaloïdes de pyrrolizidine. Les AP de type rétronécine, héliotridine et otonécine sont toxiques, les AP de type platynécine sont considérés non toxiques.

## 5.3- Les critères structuraux minimaux de toxicité : [24]

1. un anneau  $\Delta^3$ -pyrroline (3,4-didéhydropyrrolidine);
2. un ou, de préférence, deux groupes hydroxyle, chacun attaché à l'anneau de pyrroline via un atome de carbone;
3. au moins un des hydroxyles est estérifié;
4. la fraction acide a une chaîne ramifiée

## 5.4- L'activité biologique :

L'activité biologique de beaucoup d'alcaloïdes dépend souvent de la fonction amine étant transformée en système quaternaire par ionisation aux pHs physiologiques [25] Alors quatre groupes de composés azotés sont définis :

- 1- Amines secondaires ou tertiaires qui sont hydrophyles ou plus généralement lipophiles, ce sont les alcaloïdes classiques.
- 2- Amines quaternaires sont très polaires et chargés à n'importe quel pH, et sont isolés sous forme de sels.
- 3- Composés aminés neutres, incluent les amides-type alcaloïdes comme la colchicine, capsaïcine et la majorité des lactames comme la ricinine.

## Chapitre III : Les métabolites secondaires

---

- 4- N-oxides, sont généralement très soluble dans l'eau, retrouvés dans plusieurs classes d'alcaloïdes tel le groupe des pyrrolizidines.
- 5- Par ailleurs, les alcaloïdes sont responsables d'intoxications du bétail, et un des plus curieux, à cet égard, est la cyclopamine (d'un vétrate, *Veratrum californicum*), apparentée aux stéroïdes, qui provoque chez les agneaux en gestation une malformation caractérisée par un œil de cyclope.
- 6- Enfin, l'étude de leur mécanisme d'action a conduit à les employer comme réactifs biologiques en neurochimie. La batrachotoxine bloque la perméabilité membranaire en fermant les « canaux sodium » des neurones ; l'anatoxine d'une algue bleue est cent fois plus active que l'acétylcholine, médiateur majeur du système nerveux central, ou, en génétique, la colchicine arrête la mitose et provoque un doublement des chromosomes.

## Chapitre III : Les métabolites secondaires

---

### REFERENCES

- [1] Richter, G.(1993) *Metabolisme des végétaux\_ physiologie et biochimie*, presses polytechniques et universitaires romandes, lausanne,. (Traduction française de stoffwechselfysiologie der pflanzen, 1988, georg thème verlag, stuttgart)
- [2] JUDD W.S., CAMPBELL C.S., KELLOGG E.A. et STEVENS P.; (2002); *Botanique Systématique: une perspective phylogénétique*; Ed 1: DEBOECK; p: 84-336.
- [3] MAKKAR H.P.S., SIDDHURAJU P. et BECKER K.; (2007); *Plant Secondary Metabolites, Methods in Molecular Biology 393*; Ed: HUMANA PRESS; p: 67-111.
- [4] DAAYF F. et LATTANZID V.; (2008); *Recent Advances in Poly phenol Research 1*; Ed: WILEY-BLACKWELL; p:1-24
- [5] BHAT S.V., NAGASAMPIGI B.A. et SIVAKUMAR M.; (2005); *Chemistry of Natural Products*; Ed 1: NAROSA, SPRINGER; p: 115-252.
- [6] Roberts, M.F. et vink, M.(1998) . *alkaloids. Biochemistry, ecology, and medicinal applications*, plenum press, new york .
- [7] S. Mouffok (2011). *Etude des métabolites secondaires de Centaurea pubescens ssp. omphalotricha(Asteraceae)* Mémoire de Magister Université de Batna. p 125-134.
- [8] Z. Mohammedi (2011). *Etude du pouvoir Antimicrobien et Antioxydant des Huile Essentielles et flavanoides de quelques plantes de la région de Tlemcen. Mémoire de Magister Université de Tlemcen.* p 18-24-25-49-50.
- [9] Middleton.JR. E, Chithan.K.(1986). *The impact of plant flavonoids on mammalian biology implications for immunity, inflammation and cancer.* In: Harborne J.B., editor. *The Flavonoids: advances in research since* London, UK: Chapman and Hall; 1993.
- [10] Grange.J.M,(1990) Davey R.W. *Antibacterial properties of propolis (bee glue).* J. R. Soc. Med. ; 83:159–60.
- [11] N. Bougandoura (2011). *Pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits d'espèces végétales Saturejacalaminthasspnepta (nabta) et Ajugaiva L. (chendgoura) de l'ouest d'Algérie.* Mémoire de Magister Université de Tlemcen. p25-34-37.
- [12] Justen.U, Knuthsen.P, Leth.T.(1998) *Quantitative analysis of flavonols, flavones and flavanones in fruits, vegetables and beverages by high-performance liquid chromatography with photo-diode array and mass spectrometric detection.* *Journal of Chromatography A*

## Chapitre III : Les métabolites secondaires

---

- [13] Bronner.W.E, Beecher.G.R. (1995). Extraction and measurement of prominent flavonoids in orange and grapefruit juice concentrates . *Journal of Chromatography A*, 705:247-256.
- [14] Crozier.A, Jensen.E, Lean.M.E.J, Mcdonald.M.S.(1997). Quantitative analysis of flavonoids by reversed-phase high-performance liquid chromatography *J.Chromatography A.*, 761: 315-321.
- [15] Scalbert Augustin (2004).Fruits et légumes, polyphénols et santé. Laboratoire des maladies métaboliques et micronutriments, INRA, Centre de Recherche de Clermont-Ferrand.
- [16] Van Acker S.A.B.E., D.J. van den Berg, M.N.J.L; Tromp, D.H. Griffioen, W.P. van Bennekom., W.J.F. van der Vijgh et A. Bast (1996). Structural aspect of antioxidant activity of flavonoids. *Free Rad. Biol. Med.*, 20: 331-342.
- [17]Cos P., L. Ying, M. Calomme, J.P. Hu, K. Cimanga, B. Van-Poel, L. Pieters, A.J. Vlietinck Vanden et D. Berghe (1998). Structure-activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers. *J. Nat. Prod*, 61: 71-76.
- [18] Landolfi R., R.L. Mower et M. Steiner (1984) Modification of platelet function and arachidonic acid metabolism by bioflavonoids. Structure-activity relations. *Biochem Pharmacol.* 33:1525-1530.
- [19]Salvador Máñez, Victoriano Hernández, Rosa-María Giner,José-Luis Ríos, María del Carmen Recio (2007), Inhibition of pro-inflammatory enzymes by inuviscolide, asesquiterpene lactone from *Inula viscosa*, *Fitoterapia* 78 . 329–331
- [20] Victoriano Hernández, M.Carmen Recio, Salvador Máñez, Rosa M. Giner, José-Luis Ríos, (2007). Effects of naturally occurring dihydroflavonols from *Inula viscosa* on inflammation and enzymes involved in the arachidonic acid metabolism, *Life Sciences* 81. 480–488
- [21] Brunton J. ; (2009)..*pharmacognosie ,phytochimie, plantes médicinales*, paris, 4<sup>ème</sup>, edition lavoisier.
- [22]FAO, Food and Agriculture Organization. (2010). Pyrrolizidine alkaloids in foods and animal feeds. *FAO Consumer Protection Fact Sheets No.2*: 1-6.
- [23] Hartmann T., L. Witte. S.W. Pelletier (1995). Chemistry, biology and chemoeology of the pyrrolizidine alkaloids. In: *Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives*, (ed). Vol 9. pp 155-233.

## Chapitre III : Les métabolites secondaires

---

[24] le groupe de travail électronique dirigé par les Pays-Bas. (2011).DOCUMENT DE TRAVAIL SUR LES ALCALOÏDES DE PYRROLIZIDINE. CX/CF 11/5/14.

[25] Dr paul M Dewik., (2002). Medicinal Natural Products ,A Biosynthetic Approach. Second Edition. Medicinal Natural Products. Paul M Dewick Copyright , 2002 John Wiley & Sons, Ltd

*Partie 02*



# Les activités biologiques

---

## Les activités antioxydant et antibactérienne :

### I- Activité antioxydant :

#### 1. Généralités :

Nos cellules et tissus peuvent être soumis à une grande variété d'agression physiques (traumatisme, irradiation, hyper ou hypothermique), chimiques (acidose, toxines) et métaboliques (exposition à des xénobiotiques, privation d'un facteur hormonal ou facteur de croissance). La plupart de ces agressions débouchent sur une expression commune appelée stress oxydant, dû à l'exagération d'un phénomène physiologique, normalement très contrôlé, la production de radicaux dérivés de l'oxygène [1]

#### 2. Définition :

L'antioxydant, comme son nom l'indique est une substance chimique synthétique ou naturelle qui empêche ou inhibe les réactions d'oxydation de type radicalaire des corps gras. Les composés antioxydants font l'objet de nombreux travaux car, en plus de leur utilisation comme des conservateurs dans les denrées alimentaires en remplaçant les antioxydants de synthèse, ils interviennent dans le traitement de nombreuses maladies.[2]

#### 3- Le stress oxydatif

Le stress oxydatif est défini comme étant le déséquilibre entre la génération des espèces réactives de l'oxygène et la capacité du corps à neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs [3]

#### 4- Les radicaux libres

Un radical libre est définies comme toute molécule possédant un ou plusieurs électrons non appariés [4].

cette molécule est très instable et réagit rapidement avec d'autres composants, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir la stabilité, une réaction en chaîne débute lorsqu'un radical libre attaque la molécule stable la plus proche en lui arrachant son électron, et la molécule attaquée devient elle-même un radical libre [5].

#### 5. Différents types des radicaux libres :

Un radical libre est une espèce caractérisée par une instabilité et /où un pouvoir oxydant fort, il se différencie par la présence d'un électron non apparié sur la couche électronique la plus externe. Parmi toutes les espèces réactives oxygénées (ERO), on distingue un ensemble restreint de ces composés qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appelons les radicaux primaires à savoir : l'anion superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ), le radical

# Les activités biologiques

hydroxyle ( $\text{OH}^\bullet$ ), le monoxyde d'azote ( $\text{NO}^\bullet$ ), le radical peroxy ( $\text{ROO}^\bullet$ ) et le radical alkoxy ( $\text{RO}^\bullet$ ). Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires telles que l'oxygène singulet  $^1\text{O}_2$ , le peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) et le nitroperoxyde ( $\text{ONOOH}$ ), se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule [6]

## 6. Dommages oxydatives des radicaux libres :

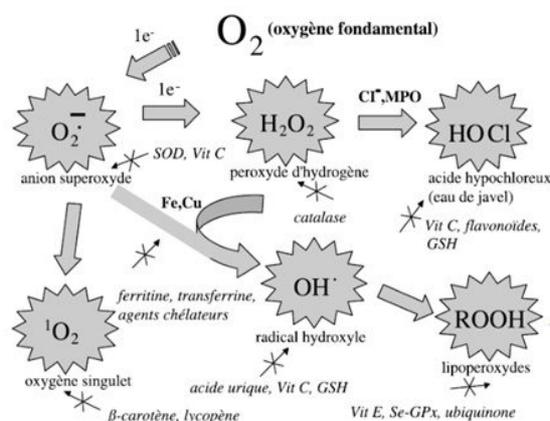
Les phénomènes radicalaires de base sont utiles au bon fonctionnement de l'organisme. L'altération des composants cellulaires et des structures tissulaires intervient lorsque l'intensité de ces phénomènes augmente anormalement et dépasse la quantité d'antioxydants disponibles. La conséquence de ce déséquilibre va entraîner une agression appelée « stress oxydatif » [7]. Tous les tissus et tous leurs composants peuvent être touchés : lipides, protéines, glucides et ADN [8-9]. Toutes ces altérations augmentent le risque de plus de 30 processus de différentes maladies [10]. Parmi ces maladies, nous citons, les maladie d'Alzheimer [11], de Parkinson [12] de Creutzfeldt Jacob et de méningo-céphalites [13]

es maladies cardiovasculaires et déficience cardiaque [14], les œdèmes et vieillissement prématuré de la peau [15] et le cancer.[13]

## 7. Moyens de défense contre les radicaux libres :

D'après Halliwell [16], un antioxydant est toute molécule endogène ou exogène présente en faible concentration qui est capable de prévenir, de retarder et de réduire l'ampleur de la destruction oxydante des biomolécules.

Les systèmes de lutte contre les ERO sont classés dans 3 catégories : la prévention à temps plein (la prévention passive), la détoxification active suite à une attaque oxydante et la détoxification passive [17].



**Figure 17 :** Régulation de la production de radicaux réactifs de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydants [18]

# Les activités biologiques

## **8- Les antioxydants utilisés dans l'industrie .cosmétique et l'industrie pharmaceutique :**

Les antioxydants utilisés dans ces industries doivent répondre à des critères de choix sévères, parmi eux :

- ✓ Ils doivent protéger de l'oxydation due à l'air ;
- ✓ Les dégradations photo-induites ;
- ✓ Ne pas altérer l'aspect, l'odeur ou la couleur des produits ;
- ✓ Ne pas être toxique ou allergisant. [19]

### **9- les méthodes d'activité antioxydant :**

#### **9.1- Réduction du fer (FRAP) :**

La méthode FRAP, un dosage colorimétrique du transfert d'électrons, évalue la Réduction du fer (le passage de la forme ferrique à ferreux) en présence d'un antioxydant [20]. Une molécule change de couleur une fois qu'elle est réduite, ce qui permet la quantification par spectrophotométrie. Les avantages de cette méthode sont qu'elle est simple, rapide, peu coûteuse et robuste. En revanche, les désavantages sont qu'elle n'est pas capable de détecter les protéines ou les composés contenant le group SH, incluant les thiols, qui peuvent transférer l'hydrogène. Pour cette raison, le test FRAP sous-estime souvent l'activité antioxydante du sérum sanguin [21].

$$CP(\%MS) = C \times V / P \times 100$$

Où :

C : concentration en composé phénolique de l'extrait en mg/ml

V : Volume d'eau distillée utilisée en ml

P : Prise d'essai en mg

CP : Composés phénoliques

#### **9.2- Test de blanchiment de $\beta$ -carotène couplé à l'auto-oxydation de l'acide linoléique :**

Le  $\beta$ -carotène est physiologiquement un composé important reconnu par sa forte activité biologique. Dans l'industrie agro-alimentaire, il est utilisé dans les boissons comme un agent de coloration et sa décoloration indique la réduction de qualité de ces produits [22]. Cependant, dans le test du blanchiment du  $\beta$ -carotène, la présence des 11 paires de doubles liaisons rend le  $\beta$ -carotène extrêmement sensible aux radicaux libres dérivés d'hydroperoxydes qui sont formés à partir de l'oxydation d'acide linoléique dans un système émulsion aqueuse en résultant le blanchiment du  $\beta$ -carotène [23]. La présence des antioxydants comme les poly phénols réduisent l'ampleur de la destruction du  $\beta$ -carotène

# Les activités biologiques

en neutralisant les hydro peroxydes et d'autres espèces radicalaires formées à l'intérieur de ce système.

$$\% \text{ inhibition} = [(A_{A(120)} - C_{C(120)}) / (C_{C(0)} - C_{C(120)})] \times 100$$

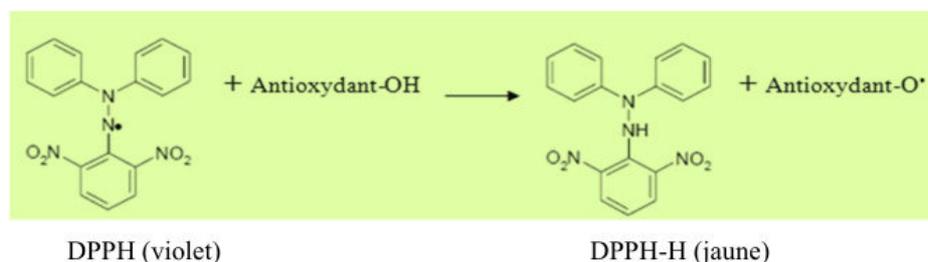
Où :

$A_{A(120)}$ : représente l'absorbance en présence de l'extrait (antioxydants) à 120 min.

$C_{C(120)}$ : représente l'absorbance du contrôle à 120 min ;  $C_{C(0)}$ : représente l'absorbance du contrôle à 0 min.

## 9.3- La méthode par le radical DPPH :

La méthode est basée sur la dégradation du radical DPPH. Un antioxydant aura la capacité de donner un électron singulet au radical synthétique DPPH de coloration violette pour le stabiliser en DPPH de coloration jaune-verte.



**Figure 18 :** Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH [24]

La mesure de la décroissance de coloration violette au cours du temps permet de déterminer la EC50, temps au bout duquel 50% de coloration est perdue. Généralement interprétée sur la base de la quantité d'un antioxydant nécessaire pour faire diminuer de 50% la quantité initiale de DPPH (EC50), (des comparaisons de EC50 sont réalisées), le résultat est dépendant de la concentration en DPPH initiale. En ajoutant une référence connue, on pourrait standardiser la méthode, en ramenant par exemple les résultats à un équivalent Trolox. Cette méthode est beaucoup utilisée pour étudier des extraits végétaux et alimentaires pour mesurer la capacité antioxydante totale.

$$I\% = \frac{A_{\text{blanc}} - A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{blanc}}}$$

Ou :

$A_{\text{blanc}}$  : Absorbance du blanc (contenant tous les réactifs excepté le composé d'essai).

$A_{\text{échantillon}}$  : Absorbance du composé d'essai.

# Les activités biologiques

---

## **2. Activité antibactérienne :**

### **2.1- Introduction :**

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires classés parmi les procaryotes, car ils ne possèdent pas de membrane nucléaire. Ce caractère les distingue des autres organismes unicellulaires classés parmi les eucaryotes (champignons, algues, protozoaires). Elles sont divisées en bactéries proprement dites (Bacteria) et bactéries primitives (Archaea). Toutes les bactéries rencontrées en pathologie appartiennent aux Bacteria. Les bactéries ont généralement un diamètre inférieur à  $1\mu\text{m}$ . On peut les voir au microscope optique, à l'état frais ou après coloration. Leur forme peut être sphérique (cocci), en bâtonnet (bacilles), incurvée (vibrions) ou spiralée (spirochètes). Les détails de leur structure ne sont visibles qu'en microscopie électronique. [25].

### **2.2- Morphologie et Structure fine des bactéries:**

Durant de longues années, la bactérie a été considérée comme "un sac d'enzymes" car le pouvoir de résolution du microscope optique était insuffisant pour révéler les détails de structure.

L'observation des bactéries, alors, permet seulement de reconnaître la forme des cellules (sphérique ou coccoïde, cylindrique ou bâtonnet, spiralée ou hélicoïdale), leurs dimensions (qui varient selon les espèces de  $0.1\mu\text{m}$  à  $600\mu\text{m}$ ; les Entérobactéries 2 à  $3\mu\text{m}$  de long, certaines Spirochaeta entre 30 et  $500\mu\text{m}$ ) et les arrangements ou les groupements qu'elles constituent entre elles (en grappe, en chaînette, en paire ou diplocoque, en palissade ou paquet d'épingles chez les Corynébactéries...). Ce sont les caractéristiques qui définissent la morphologie bactérienne, et qui étaient les critères essentiels de reconnaissance et d'identification, et qui ont un rôle très important dans le diagnostic [26, 27].

Les caractères morphologiques sont une stratégie d'adaptation et de survie; dans l'environnement aquatique ou tellurique il existe des bactéries qui sont amorphes, ovoïdes, cubiques, étoilées, filamenteuses; elles peuvent être groupées en amas, en paires, et aussi en rosettes en réseau, en cubes, en corps fructifiant, ... [26].

### **2.3- Méthode des disques :**

- Les différentes souches sont inoculées sur gélose nutritive pour les bactéries et gélose Sabouraud pour la levure. Après incubation de 18 à 24 heures à  $37^{\circ}\text{C}$ , un inoculum est préparé pour chaque souche dans l'eau physiologique, jusqu'à une densité microbienne de  $10^6$  et  $10^4$  UFC/ml pour les bactéries et la levure respectivement, puis ensemencement sur Mueller-Hinton.

# Les activités biologiques

---

- Les boîtes de pétri contenant le milieu gélosé (Muller Hinton) sont inoculées par inondation, après 30 mn, les boîtes de pétri sont mises à sécher 15 mn à 37°C
- Les disques (6 mm de diamètre) imprégnés d'extrait (10 µl) sont déposés aseptiquement sur la gélose inoculée. Les boîtes sont ensuite incubées 24 heures à 37 °C.
- Les zones d'inhibition des souches sont observées autour des disques (6 mm) puis mesurées.
- Des disques standards d'antibiotiques sont utilisés comme contrôles positives, la gentamicine (10µg) pour les bactéries et l'amphotéricine B (20µg) pour la levure. [28]

# Les activités biologiques

---

## References:

- [1] Walker, J.E.M., Saraste, M.J., Runswick and N.J.Gay. (1982). Distantly related sequences in the alpha-and beta-subunits of ATP synthase, myosin, kinases and other ATP-requiring enzymes and a common nucleotide binding fold. *Embo J*, 1 (8) : 945-51
- [2] ZOUBEIDI. CH.,(2004). Etude des antioxydants dans le *Rosmarinus officinalis.Labiataea*
- [3] Boyd B., Ford C., Koepke M.C., GaryK., Horn E., McAnalley S., and McAnalley B. (2003). Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose sur des personnes en bonne santé. *Glycoscience& Nutrition*. 4 (6):7.(cited in Mohammedi Z, 2005).
- [4] Jacques B, and André R. (2004). *Biochimie métabolique* Ed ellipses .Paris. pp: 217-219-220-223-225.
- [5] Martinez-Cayuela M. (1995). Oxygen free radicals and human disease. *Biochem*.77: 147-161.
- [6] Favier, A. (2003). Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique* , 108-115.
- [7] Rahman, I. (2002). Oxidative stress and gene transcription in asthma and chronic obstructive pulmonary disease: antioxidant therapeutic target. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy*, 1(3) : 291-315.
- [8] Aurousseau, B. (2002). Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage :conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits. *INRA Prod. Anim*, 15 (1): 67-82.
- [9] Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem. Biol Interact*, 160: 1–40.

# Les activités biologiques

---

[10] Aruoma, O. I. (1998). Free radicals, oxidative stress and antioxidants in human health and disease. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 75: 199–212.

[11] Smith, A.R., Shenvi, S.V., Widlansky, M., Suh, J.H., Hagen, T.M. (2004). Lipoic acid as a potential therapy for chronic diseases associated with oxidative stress. *Curr. Med. Chem.*, 11: 1135– 1146.

[12] Bolton, J. L., Trush, M. A., Penning, T. M., Dryhurst, G., & Monks, T. J. (2000). Role of quinones in toxicology. *Chem. Res. Toxicol.*, 13: 135.

[13] Ali, S.S., Kasoju, N., Luthra, A., Singh, A., Sharanabasava, H., Sahu, A., Bora, U. (2008). Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. *Food Res Int.*, 41: 1–15.

[14] Jha, P., Flather, M., Lonn, E., Farkouh, M., Yusuf, S. (1995). The antioxidant vitamins and cardiovascular disease. A critical review of epidemiologic and clinical trial data. *Ann. Intern Med.*, 123: 860.

[15] Georgetti, S.R., Casagrande, R., Di Mambro, V.M., Azzolini Ana, E.C.S., Fonseca Maria, J.V. (2003). Evaluation of the antioxidant activity of different flavonoids by the Chemiluminescence Method. *AAPS Pharm Sci.*, 5 (2) : 1-5.

[16] Halliwell, B. (1994). Free radicals, antioxidant and human disease: curiosity, cause or consequence? *The Lancet*, 344 (8924): 721-724.

[17] Virot, S. (2004). Les petites protéines de stress et leur rôle dans la mort cellulaire. Etude de leur fonction chaperon à travers l'exemple de la mutation R120G de l' $\alpha\beta$ -cristalline. Thèse de doctorat, Université Claude Bernard-Lyon.

[18] MILBURY P. E. et RICHER A. C. (2008). Understanding the antioxidant controversy ; Ed PRAFGER ; p : 81-100.

[19] ZOUBIDI. CH., (2004), études des antioxydants dans le *rosmarinus officinalis.labiataea.*, thèse de magister soutenu à l'université Ouargla.

# Les activités biologiques

---

[20] Pellegrini N, Serafini M, Colombi B, et coll. ; (2003). Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. J Nutr. ; 133(9):2812-2819.

[21] Phipps S, Sharaf M, Butterweck V., (2007). Assessing antioxidant activity in botanicals and other dietary supplements. Pharmacopeial Forum.; 33:810-814.

[22] Bougatef, A., Hajji, M., Lassoued, I., Triki-Ellouz, Y., Nasri, M. (2009). Antioxidant and free radical-scavenging activities of smooth hound (*Mustelus mustelus*) muscle protein hydrolysates obtained by gastrointestinal proteases. Food. Chem, 114: 1198-1205.

[23] Unten, L., Koketsu, M., Kim, M. (1997). Antidiscoloring activity of green tea polyphenols on  $\beta$ -carotene. J. Agr Food. Chem, 45: 2009-2019.

[24] ATTOU A. (2004), Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante *Ruta chalepensis* (Fidjel) de la région d'Ain Témouchent. mémoire de magister soutenu à l'université Tlemcen.

[25] Nauciel. C., and Vildé J.L. (2005). Bactériologie médicale, 2èmeEd. Masson . Paris. pp: 5-10

[26] Leclerc H, Gaillard J-L, Simonet M (1995) Microbiologie générale, la bactérie et le monde bactérien. Doin Editeurs, Paris.

[27] Madigan MT, Martinko JM, Parker J (1997) Brock Biology of Microorganisms. Prentice

[28] National Committee for Clinical Laboratory Standards; (1990); Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; NCCLS; Villanova.

# Partie Expérimental

## Matériels et méthodes :

### Séchage :

Le matériel végétal est séché à l'ombre, à l'abri de l'humidité et à une température ambiante.

### 1-Extraction de l'huile essentielle :

L'appareil utilisé pour l'hydrodistillation type Clevenger, il est constitué d'un chauffe ballon, un ballon en verre pyrex où l'on place environ 500 g de plante séchée et 2L d'eau, une colonne de condensation de la vapeur (réfrigérant) et un collecteur en verre pyrex également qui reçoit les extraits de la distillation, pendant une durée de 8-10h.

L'huile essentielle obtenue est conservée dans un flacon en verre fumé et fermé hermétiquement et maintenue à une température de 4 °C.



**Figure 19: extraction clevenger**

### Calculer le rendement :

$$\text{Rdt} = \frac{M_{\text{H.E}}}{M_{\text{vg}}} \times 100$$

Où : Rdt : rendement en HE (en%)

$M_{\text{H.E}}$  : masse de l'huile essentielle

$M_{\text{vg}}$  : masse végétale sec

# Partie Expérimental

---

## 2-Détermination de la composition chimique de l'huile essentielle par CPG

### 2.1- Méthodes d'identification chimique des huiles essentielles

#### 2.1.1- Analyse par CPG/FID :

Les analyses ont été réalisées à l'aide d'un chromatographe Perkin Elmer Autosystem GC, équipé de deux détecteurs à ionisation de flamme (FID) permettant la détection des composants, d'un injecteur diviseur et de deux colonnes (60 m x 0,22 mm d.i. ; épaisseur du film : 0,25  $\mu\text{m}$ ) respectivement polaire (Rtx-Wax, polyéthylène glycol) et apolaire (Rtx-1, polydiméthyl-siloxane). Le gaz vecteur est l'hélium (1mL/min) avec une pression en tête de colonne de 25 psi. La température de l'injecteur est de 250°C et celle du détecteur de 280°C. La programmation de la température consiste en une élévation de 60 à 230°C, à 2°C/mm, puis en un palier de 45 mm à 230°C. L'injection se fait par mode split avec un rapport de division de 1/50. La quantité d'huile essentielle injectée est de 0,2  $\mu\text{L}$ . Pour chacun des composants, les indices de rétention polaires et apolaires sont calculés à partir des temps de rétention d'une gamme d'étalon d'alcane.

#### 2.1.2- Couplage CPG/Spectrométrie de masse :

Les analyses ont été réalisées à l'aide d'un chromatographe Perkin Elmer Autosystem XL, doté d'un injecteur automatique et de deux colonnes (60 m x 0,22 mm d.i. ; épaisseur du film : 0,25  $\mu\text{m}$ ) polaire (Rtx-Wax) et apolaire (Rtx-1), couplé à un détecteur de masse Perkin Elmer TurboMass. Le gaz vecteur est l'hélium (1mL/min) avec une pression en tête de colonne de 25psi. La température de l'injecteur est de 250°C. La programmation de la température se fait en une élévation de 60 à 230°C, à 2°C/mm, puis en un palier de 35 mm à 230°C. L'injection se fait par mode split avec un rapport de division de 1/80.

# Partie Expérimental

## Composés de l'H.E identifiés par CPG/SM:

	Composés
Monoterpènes hydrocarbonés	Limonène
Sesquiterpènes hydrocarbonés	$\beta$ -gorgonene $\alpha$ -cadinène
Sesquiterpènes oxygénés	4-epi-cubebol
Diterpènes hydrocarbonés	0
Diterpènes oxygénés	Z- phytol E- phytol
Non terpéniques	Nonanol Decanal Dodecanal Octadecane Acide hexadénoïque 2-méthyl-nonane 1-octadecanal 1-nonadecanol

**Tableau 5:** les familles des composés sélectionnés

## 2.2-Evaluation de l'activité antioxydante de l'huile essentielle et l'extrait éthanolique :

### 1- Dépistage de l'activité antioxydante de H.E sur CCM à l'aide du DPPH :

le test chimique que nous avons utilisé pour déceler la présence de composés antioxydants dans les extraits de plante repose sur le principe de la réduction des radicaux libres fournis par le 1, 1-diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH). Pour réaliser ce test, nous allons déposer 10  $\mu$ l d'une solution de 5 mg/ml (M/V) de chaque extrait sur la plaque de gel de silice 60 F<sub>254</sub> (Merck) possédant un support en aluminium.

Le développement des plaques se fait dans les systèmes de solvants suivants:

Butanol-Acétate d'éthyle-Eau (65 : 15 : 20) pour les extraits polaires, tandis que les extraits apolaires ont été développés dans le système de solvants ligroïne-acétate d'éthyle (1 :1).

Après migration, les chromatogrammes ont été séchés à l'aide du séchoir électrique puis révélés à l'aide d'une solution de DPPH à la concentration de 0.02 mg / ml (M / V) dans le méthanol. En présence de substances antioxydantes, le DPPH est réduit et vire de la couleur

# Partie Expérimental

pourpre au jaune. Sur les plaques CCM, les zones d'activités antiradicalaires apparaissent en jaune clair sur fond violet après un temps optimal de 30 mn [1].

## **2- Evaluation de l'activité antioxydante par DPPH (1,1- Diphenyl-2-picrylhydrazyl);**

L'activité antioxydante in vitro a été évaluée par la mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH (1,1- Diphenyl-2-picrylhydrazyl) selon la méthode décrite par Burits et Bucar [2]. Où 50 µl de chacune des solutions éthanoliques de l'huile essentielle est testée à différentes concentrations (10, 15, 26.5 mg/ml) sont mélangées avec 1.95 ml d'une solution de DPPH. Après une période d'incubation de 30 minutes à la température du laboratoire, l'absorbance est lue à 517 nm. L'inhibition du radical libre DPPH par la vitamine C a été également analysée à la même concentration pour comparaison. On détermine la cinétique de la réaction et les paramètres de calcul de l'activité antioxydante pour la vitamine E et pour l'huile essentielle (Pourcentage d'inhibition, l'index IC50).

Détermination du pourcentage d'inhibition Selon Sharififar et al. [3]: L'inhibition du radical libre de DPPH en pourcentage (I%) est calculée de la manière suivante :

$$I\% = \frac{A_{blanc} - A_{échantillon}}{A_{blanc}}$$

Avec :

$A_{blanc}$  : Absorbance du blanc (contenant tous les réactifs excepté le composé d'essai).

$A_{échantillon}$  : Absorbance du composé d'essai.

La cinétique des réactions de l'huile essentielle et de la vitamine E avec le DPPH<sup>•</sup> a été inscrite à chaque concentration examinée. Les concentrations en huile essentielle et en vitamine E, en fonction des pourcentages du DPPH inhibés, ont été tracées à la fin de la réaction afin d'obtenir l'index IC50. Ce paramètre est défini comme la concentration d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du DPPH<sup>•</sup> initiale de 50 % [3]

## **3-Evaluation de l'activité antioxydante par le blanchissement β-carotène :**

Il est utilisé pour évaluer l'activité antioxydante des extraits des plantes [4]

L'activité antioxydante (%) des extraits est évaluée en termes de blanchiment de β-carotène en employant la formule suivante :

# Partie Expérimental

---

$$\% \text{ inhibition} = [(A_{A(120)} - C_{C(120)}) / (C_{C(0)} - C_{C(120)})] \times 100$$

Où :

$A_{A(120)}$ : représente l'absorbance en présence de l'extrait (antioxydants) à 120 min.

$C_{C(120)}$ : représente l'absorbance du contrôle à 120 min ;  $C_{C(0)}$ : représente l'absorbance du contrôle à 0 min.

La valeur  $EC_{50}$  (ou  $IC_{50}$ ) est définie comme la concentration des antioxydants correspondant à 50 % d'inhibition. Elle est calculée en traçant la courbe des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations de l'extrait.

Une quantité de 2 mg de  $\beta$ -carotène est dissous dans 10 ml de chloroforme. On prélève 1ml de cette solution dans une fiole contenant préalablement 200 mg Tween 20 et 20  $\mu$ l d'acide linoléique. Cette solution est évaporée au rotavapor jusqu'à disparition de l'odeur du chloroforme. Puis, un volume de 100 ml de l'eau oxygénée diluée est ajouté dans la fiole et le mélange résultant est agité vigoureusement. Dans des tubes à vis, l'émulsion  $\beta$ -carotène/acide linoléique de 4 ml est additionnée à 200  $\mu$ l des solutions méthanoliques de l'extrait ou de l'antioxydant de synthèse BHA de différentes concentrations. Après une agitation proprement dite, l'absorbance est mesurée immédiatement à 470 nm ce qui correspond à  $t = 0$  min contre le blanc contenant l'émulsion sans  $\beta$ -carotène. Les tubes bien fermés sont placés dans un bain marie à 50°C pendant 120 min. Ensuite, l'absorbance de chaque extrait est mesurée à 470 nm à  $t = 120$  min. Pour le control positif, l'échantillon est remplacé par le BHA. Le control négatif est constitué par 200  $\mu$ l de méthanol au lieu de l'extrait où de l'antioxydant de synthèse.

### **3- Evaluation de l'activité antioxydante par le test de la réduction du fer FRAP :**

Le pouvoir réducteur du fer ( $Fe^{3+}$ ) dans les extraits est déterminé selon la méthode décrite par Oyaizu [5].

Un millilitre de l'extrait à différentes concentrations (de 0,007 à 2,5mg/ml) est mélangé avec 2,5ml d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 2,5ml d'une solution de ferricyanure de potassium  $K_3Fe(CN)_6$  à 1%. L'ensemble est incubé au bain-marie à 50°C pendant 20 min ensuite, 2,5ml d'acide trichloroacétique à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction et les tubes sont centrifugés à 3000 rpm pendant 10min. Un aliquote (2,5ml) surnageant est combinée avec 2,5ml d'eau distillée et 0,5ml d'une solution aqueuse de  $FeCl_3$  à 0,1%. La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700nm contre un blanc

# Partie Expérimental

---

semblablement préparé, en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée qui permet de calibrer l'appareil (UV-VIS spectrophotomètre). Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés.

## **3- Extraction au solvant :**

L'extraction est conduite dans un extracteur de type soxhlet. la partie de la plante étudiée a été séchée et broyée par un micro broyeur, 50g de chaque organe (partie aérienne, racines) est placé dans une cartouche en papier filtre, elle doit être fermée pour empêcher l'organe de la plante d'être emporté par les solvants (éthanol et l'eau ), le tout est mis au fond du siphon. Dans un ballon, on introduit 300 ml de solvant et des fragments de pierre ponce. La durée d l'extraction est de 10 heures. A la fin de l'opération, la cartouche est retirer et on fait les testes pour chaque solvant et pour les deux organes, il peut être nécessaire de réaliser plusieurs extractions successives pour récupérer une quantité suffisante d'extraits.

## **3.1- Réaction de caractérisations :**

Le screening phytochimique est le moyen indispensable pour mettre en évidence la présence des groupes de familles chimiques présentes dans une drogue donnée. Toutefois, ce screening phytochimique ne renseigne point sur la nature des molécules chimiques .Bien entendu, les tests de caractérisation phytochimique présentent des imprécisions car ils sont basés en partie sur l'analyse qualitative.

Le principe est soit basé sur la formation de complexes insolubles :

- ❖ en utilisant les réactions de précipitation, soit sur la formation de complexes insolubles
- ❖ en utilisant les réactions de précipitation, soit sur la formation de complexes colorés
- ❖ en utilisant des réactions de coloration (conjugaison ou insaturation dans une molécule).

### **3.1.1- l'extrait éthanolique de la plante :**

#### **3.1.1.1- caractérisation des alcaloïdes :**

La présence d'alcaloïdes est établie par la précipitation de sels et la révélation à l'aide du réactif de Mayer et Wagner .

Évaporer 20 ml de la solution éthanolique .Ajouter 5 ml d'HCl 10% au résidu et chauffer dans un bain-marie .filtrer le mélange et l'alcaliniser avec quelques gouttes d'une solution de NH<sub>4</sub>OH 10% jusqu'à pH 9. Extraire la solution avec l'éther diéthylique ensuite concentrer à sec. Dissoudre le résidu dans du HCl 2%. [6]

#### **3.1.1.2- caractérisation des tanins :**

# Partie Expérimental

---

La présence de tanins galliques et cathéchiques a été mise en évidence à l'aide de perchlorure ferrique. A 1 ml de solution alcoolique, ajouter 2 ml d'eau et 2 à 3 gouttes de solution de  $FeCl_3$ , diluée un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleu-noire, verte ou bleu-verte et un précipité, selon que les tanins seraient cathéchiques, galliques ou éllagiques.[7]

### **3.1.1.3- Caractérisation des flavonoïdes :**

Les flavonoïdes, pigments quasiment universels des végétaux, constituent une grande famille de composés très souvent abondamment présents dans les plantes, plusieurs tests de caractérisation permettent de mettre en évidence différents types de flavonoïdes.

Traiter 5 ml d'extrait alcoolique avec quelques gouttes d'HCl concentré et 0.5 g de tournures de magnésium. La présence des flavonoïdes est mise en évidence si une couleur rose ou rouge se développe en l'espace de 3 min [8] .

### **3.1.1.4- Caractérisation des stérols et stéroïdes :**

Evaporer 10 ml d'extrait alcoolique puis traiter le résidu obtenu avec 10 ml de chloroforme anhydre. Après filtration, mélanger 5 ml de la solution chloroformique avec 5 ml d'anhydre acétique puis ajouter quelques gouttes d'acide sulfurique concentré. Agiter puis laisser reposer .Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration violacée fugace virant au vert (maximum d'intensité en 30 min à 21°C) [6].

### **3.1.1.5- caractérisation des composés réducteurs :**

Plusieurs composés réducteurs peuvent être mis en évidence, il s'agit des oses et holosides et des mucilages.

Traiter 1 ml de l'extrait éthanolique avec 2 ml d'eau distillé et 20 gouttes de la liqueur de Fehling puis chauffer .Un test positif est révélé par la formation d'un précipité rouge brique.

## **3.1.2- L'extrait aqueux de la plante**

### **3.1.2.1- Caractérisation des saponosides :**

Les saponosides sont des substances très fréquentes chez les végétaux, ils sont caractérisés par leur pouvoir moussant en solution aqueuse qui donne l'indice de mousse.

Ajouter à 2 ml de la solution aqueuse un peu d'eau et agiter fortement .Une écume persistante confirme la présence des saponosides. Abandonner le mélange pendant 20 min pour s'assurer que le test est positif.[7]

### **3.1.2.2- caractérisation d'amidon :**

Traiter 5 ml de la solution préparée avec le réactif d'amidon. L'apparition d'une coloration bleu violacée indique la présence d'amidon.

# Partie Expérimental

---

### 3.1.2.3- caractérisation des composés réducteurs :

Ajouter à 2ml de la solution aqueuse 5 à 8 gouttes de liqueur de Fehling Chauffer ensuite la solution résultante. Un précipité rouge brique marque la présence des hydrates de carbones.

### 3.1.2.4- caractérisation des tanins :

Traiter 1 ml de la solution aqueuse avec 1 ml d'eau et 1 à 2 gouttes de solution diluée de  $\text{FeCl}_3$ . L'apparition d'une coloration verte ou bleu verte indique la présence des tanins.

### 3.1.2.5- caractérisation d'alcaloïdes sels :

Mettre 15 ml de l'extrait aqueux dans un ballon bicol. Ajouter  $\text{NH}_4\text{OH}$  10%, jusqu'à  $\text{pH}=9$ . Extraire avec  $3 \times 10\text{ml}$  de chloroforme. Laver la solution chloroformique avec  $3 \times 2\text{ml}$  d' $\text{HCl}$  10%. La solution aqueuse de lavage est divisée en trois parties égales. Tester les échantillons avec les réactifs de *Mayer* et *Wagner*. Le troisième tube est considéré comme témoin. [6]

### 3.2- réactif de caractérisation :

- **Réactif de Mayer** :

Dissoudre 1.358 g de  $\text{HgCl}_2$  dans 60 mL d'eau. Dissoudre 5g de KI dans 10 ml d'eau. Mélanger les deux solutions puis ajuster le volume total à 100 ml d'eau. Les alcaloïdes donnent avec ce réactif un trouble et un précipité.

- **Réactif de Wagner** :

Dissoudre 2g de KI et 1.27g d' $\text{I}_2$  dans 75 ml d'eau. Ajuster le volume total à 100 ml d'eau. Les alcaloïdes donnent avec ce réactif un précipité brun.

**N.B.** : Il est important de souligner que le réactif de Dragendorff est aussi un révélateur potentiel des alcaloïdes. Dans notre étude son usage est limité, en tenant compte de sa forte affinité avec les acides aminés. Le réactif de Dragendorff peut se révéler avec les faux positifs.

- **liqueur de Fehling** :

La liqueur est un mélange de deux solutions :

Fehling a : dissoudre 2g de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  dans 50 ml d'eau distillée.

Fehling b : dissoudre 6.5g de NaOH ,17.3 g de tartrate de sodium et potassium dans 35 ml d'eau distillée puis compléter le volume à 50 ml.

- **Réactif d'amidon** :

Dissoudre 1.2g d'iode dans 50 ml d'eau distillée contenant 2.5g d'iodure de potassium. Chauffer pendant 5 min. Diluer jusqu'à 500ml. Chauffer 5ml de la solution à tester avec 10 ml d'une solution de NaCl saturée dans un bain marie jusqu'à ébullition. Ajouter le réactif d'amidon. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleu violacée.

# Partie Expérimental

---

## Références :

- [1] Takao T., Kitatani F., Watanabe N., Yagi A. and Sakata K. (1994). A simple screening method for antioxidants and isolation of several antioxidants produced by marine bacteria from fish and shell fish. *Brusci, Brotech-Brochem* 58, pp 1780-1783
- [2] Burits M., Bucar F.; (2000). Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research*, 14, 323-328.
- [3] Sharififar F., Moshafi M.H., Mansouri S.H., Khodashenas M., Khoshnoodi M., (2007). In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora* Boiss. *Food Control* , 18, 800–805.
- [4] Sun et ho Sun, T., Ho, C-H. (2005). Antioxidant activities of buckwheat extracts. *Food Chem*, 90: 743–749.
- [5] oyaizu m.,(1986). studies on products of browning reactions: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition* 44, 307-315.
- [6] Mejdoub H. (2012-2013)., contribution à la recherche d'éventuelles activités biologiques de *zygophyllum geslini* Coss., thèse de doctorat, Université de Tlemcen (Algérie).
- [7] Trease E. et Evans W.C. (2004)., *Pharmacognosie, Billiaire Tindall*. London 13 th Edition. 61-62. In Karumi Y., Onyeyili PA. Et ogugduaja VO., (1987). Identification des principes actifs de l'extrait de feuilles de *M. balsamia* (Baume du pomme). *Journal of Medicine and scintific*. 4(3), 179-182. Nigeria. ISSN 1682-4474.
- [8] Debray M., jacquemin H., Razafindrambo R., (1971). *Travaux et documents de l'orstom*. (Paris, N°8).

# RESULTATS ET DISCUSSION

---

## 1- Teneur de l'huile essentielle de le C. Cheirifolium :

L'huile est obtenue par hydrodistillation à l'aide d'un clevenger pendant 8h minimum, elle est de couleur transparente.

On a obtenu 200 mg d'huile essentielle.

$$\text{Rdt} = \text{M}_{\text{H.E}} / \text{M}_{\text{vg}} \times 100$$

Où : Rdt : rendement en HE (en%)

M<sub>H.E</sub> : masse de l'huile essentielle

M<sub>vg</sub> : masse végétale sec

$$\text{Rendement} = 0.011 \%$$

## 2- Principaux composés de l'huile essentielle détectés CPG :

L'analyse de l'huile essentielle de *Cynoglossum Cheirifolium* par chromatographie en phase gazeuse a permis d'identifier 15 composés terpéniques cités dans le **Tableau 6** par ordre d'élution 66.1% composants représentant la somme des pourcentages des composants obtenus ont été identifiés dont 27.7% sont des Composés non-terpéniques et 0.2.% sont des hydrocarbures mono terpéniques et 4.3% Sesquiterpènes oxygénés , aussi 29.3% diterpènes oxygénés . Il semble que les composants de l'huile essentielle de *Cynoglossum Cheirifolium* sont des Diterpènes oxygénés.

Les composants majeurs de cette huile sont :

**E-phytol, et l'acide hexadecanoïque.**

# RESULTATS ET DISCUSSION

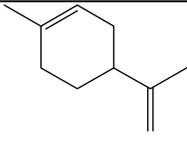
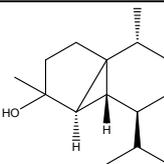
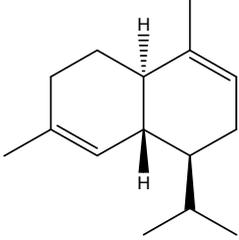
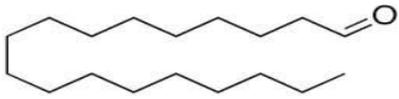
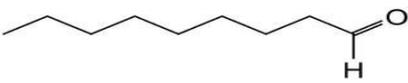
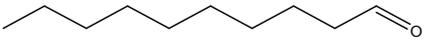
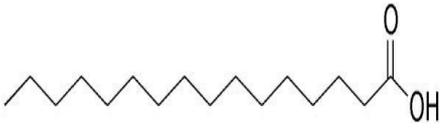
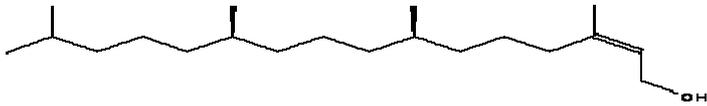
## 2.1- la composition chimique de H.E de la C.cheirifolium :

Tableau 6 : les pourcentages des composés identifiants

N°	Composés	/RI <sub>a</sub> <sup>b</sup>	RI <sub>a</sub> <sup>c</sup>	RI <sub>p</sub> <sup>d</sup>	HE	Identification
1	Limonene	1023	1017	1197	0,2	RI, MS
2	Nonanal	1083	1079	1394	0.1	RI, MS
3	Decanal	1185	1180	1498	0.6	RI, MS
4	Docecanal	1389	1380	1708	3.6	RI, MS
5	β-Gorganene	1448	1440		3.5	RI, MS, Rf
6	4-epiCubebol	1487	1492	1904	4.3	RI, MS
7	<b>α-Cadinene</b>	<b>1535</b>	<b>1530</b>	<b>1743</b>	<b>1.1</b>	RI, MS
8	<b>Octadécane</b>	<b>1799</b>	<b>1800</b>	<b>1800</b>	<b>0.2</b>	RI, MS
9	Acide héxadecanoïque		1970		8.5	RI, MS
10	(Z)-Phytol	2080	2081	2572	4.2	RI, MS
11	(E)-Phytol	2114	2115	2591	25.1	RI, MS
12	Eicosane	2200	2201	2200	0.9	RI, MS
13	Tricosane	2300	2301	2300	11.4	RI, MS
14	Tetracosane	2400	20402	2400	0.5	RI, MS
15	Pentacosane	2500	2500	2500	1.9	RI, MS
Taux d'identification %					<b>66.1</b>	
Monoterpènes hydrocarbonés					0.2	
Monoterpènes oxygénés					0	
Sesquiterpènes hydrocarbonés					4.6	
Sesquiterpènes oxygénés					<b>4.3</b>	
Diterpènes oxygénés					29.3	
Composés non-terpéniques					27.7	

# RESULTATS ET DISCUSSION

**Tableau 7 :** les structures des composées identifié par **CPG/SM :**

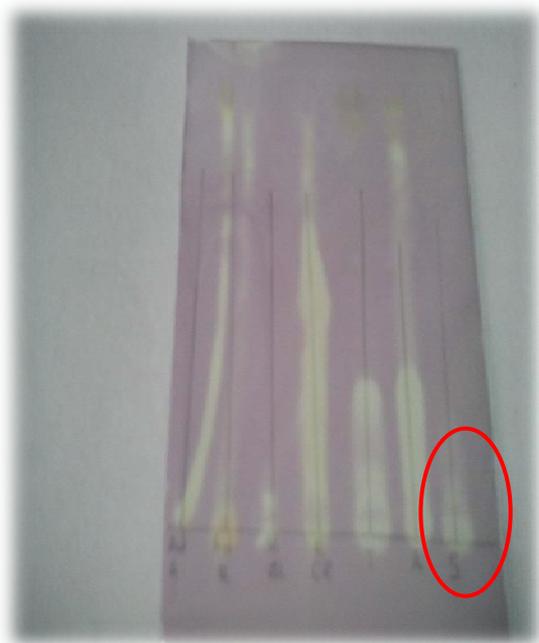
 <p><b>Limonène</b></p>	 <p><b>4 epicubebol</b></p>
 <p><b>α-Cadinène</b></p>	 <p><b>Octadécane</b></p>
 <p><b>Nonanal</b></p>	 <p><b>Decanal</b></p>
 <p><b>Acide hexadonoïque</b></p>	 <p><b>Eicosane</b></p>
 <p><b>Tricosane</b></p>	
 <p><b>Tetracosane</b></p>	
 <p><b>Pentacosane</b></p>	
 <p><b>Z-Phytol</b></p>	
 <p><b>E-phytol</b></p>	

# RESULTATS ET DISCUSSION

## 2.3-Evaluation de l'activité antioxydante:

### A-l'huile essentielle :

#### 2.3.1-Dépistage de l'activité antioxydante de H.E sur CCM à l'aide du DPPH :



**Figure 20 :** plaque CCM pour les testes des huiles essentielle.

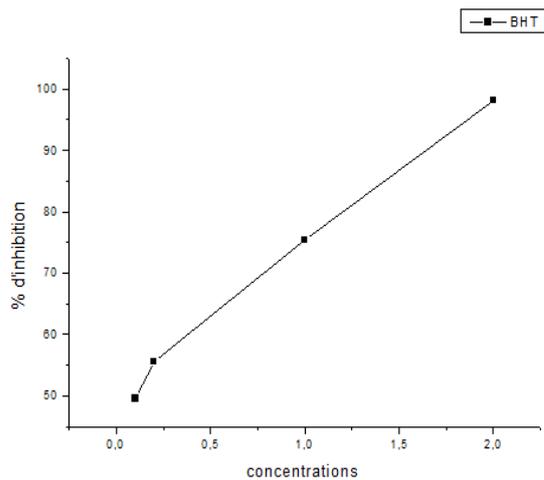
Le teste par la plaque CCM a été observé par un virage du violet vers le jaune ce qui explique que l'huile essentielle de la *cynoglossum cheirifolium* a une activité antioxydant pour cela on fait recours à d'autres méthodes pour prouver ou non l'activité anti oxydantes de notre plante étudié.

#### 2.3.1 – activité antioxydant par DPPH :

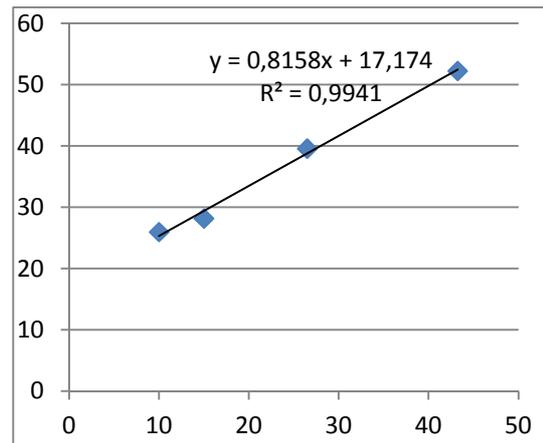
**Tableau 8 :** Résultats de *cynoglossum cheirifolium* test de DPPH

Echantillon	Activité antioxydante				
	Concentration de l'extrait ( $\mu\text{g/mL}$ )	45.2	26.5	15	10
HE	Inhibition du DPPH (%)	51.26	39.58	28.18	25.98
	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )				42.9
	Concentration de l'extrait ( $\text{mg/mL } 10^{-3}$ )	2	5	10	20
BHT	Inhibition du DPPH (%)	18.55	30.40	35.95	55.85
	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )				17.36

# RESULTATS ET DISCUSSION



**Figure 21 :** pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de Utilisées pour le BHT



**figure 22 :** pourcentage radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations de H.E.

**La figure 21** représente le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH pour l'antioxydant standard le BHT.

A des fins comparatives, le BHT antioxydant standard a montré une activité antiradicalaire importante avec de  $IC_{50}$  17.36  $\mu\text{g/ml}$ .

**La figure 22** représente le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations utilisées pour l'huile essentielle de la *C. Cheirifolium*, on a obtenu une activité antioxydant inférieure à celle de BHT avec un  $IC_{50}$  42.9  $\mu\text{g/ml}$ .

### **Calcul des $IC_{50}$ :**

$IC_{50}$  (concentration inhibitrice de 50 %), aussi appelée  $EC_{50}$  (Efficient concentration 50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH.

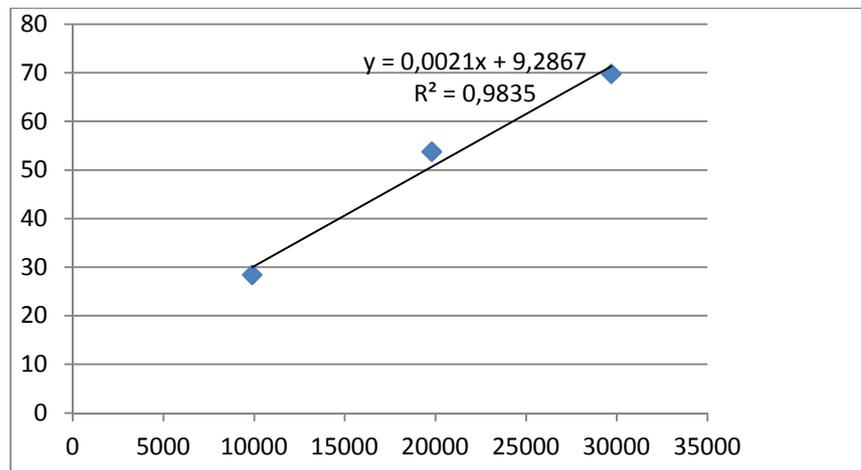
Les  $IC_{50}$  sont calculées graphiquement par des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testés.

# RESULTATS ET DISCUSSION

## 2.3.2 – activité antioxydant par blanchissement du $\beta$ – carotène:

**Tableau 9 :** Résultats de *cynoglossum cheirifolium* Test de blanchissement du  $\beta$  – carotène

Echantillon	Activité antioxydante				
<b>HE</b>	Concentration de l'extrait (mg/mL $10^{-3}$ )	<b>9.9</b>	<b>19.8</b>	<b>29.7</b>	/
	Inhibition du blanchiment du $\beta$ -carotène (%)	28.42	53.74	69.78	/
	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ g/mL)				<b>19.32</b>
<b>BHT</b>	Concentration de l'extrait (mg/mL $10^{-3}$ )	<b>0.1</b>	<b>0.2</b>	<b>1.0</b>	<b>2.0</b>
	Inhibition du blanchiment du $\beta$ -carotène (%)	49.5	55.59	75.36	98.
	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ g/mL)	5			23
					<b>0.62</b>



**Figure 23 :** blanchiment du  $\beta$ -carotène de H.E

Le pourcentage d'inhibition de l'activité antioxydante par le blanchissement  $\beta$ -carotène est proportionnel à la concentration de l'H.E de la plante qui inhibe le blanchiment du  $\beta$ -carotène à différentes valeurs par le piégeage des radicaux libre **Figure 23**

# RESULTATS ET DISCUSSION

## 2.3.3 – activité antioxydant par réducteur de fer (FRAP) :

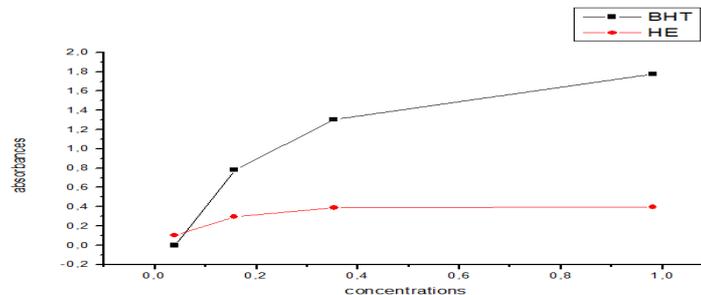
L'activité antioxydante de l'H.E de *C. Cheirifolium* a été évaluée en utilisant la méthode FRAP.

**Tableau 10 :** l'absorption à différents concentrations par la réduction de fer

C mg/ml H.E	0.039	0.157	0.353	0.981
Abs	0.102	0.295	0.390	0.396
C mg/ml BHT	0,00025	0,00051	0,00076	0.00102
Abs	0,781	1,305	1,774	1.982



**Figure 24 :** l'apparition de la couleur verte. (Réduction de fer)



**Figure 25 :** Pouvoir réducteur de H.E de la *C. Cheirifolium*

L'huile essentielle de la partie aérienne de la *C. cheirifolium* a montré une capacité à réduire le fer largement inférieure à celle de BHT.

Nous constatons que la capacité réductrice est proportionnelle à l'augmentation de la concentration d'extrait.

# RESULTATS ET DISCUSSION

## B-extrait éthanolique :

### 1- Par CCM :



**Figure 26 :** plaque CCM pour le teste de l'extrait éthanolique et l'extrait aqueux

Le test de l'activité antioxydant par la plaque CCM a montré que l'extrait éthanolique possède une activité par contre l'extrait aqueux n'a pas une activité antioxydant car le virage du violet vers le jaune n'a pas été observé.

### 2-L'activité antioxydante Par DPPH :

**Tableau 11 :** l'inhibition de radical DPPH à différents concentration d'extrait éthanolique

C $\mu\text{g/ml}$ Extrait <sub>ETH</sub>	31.16	27.1	23.26	15.2
%	83.77	66.79	54.49	46.13

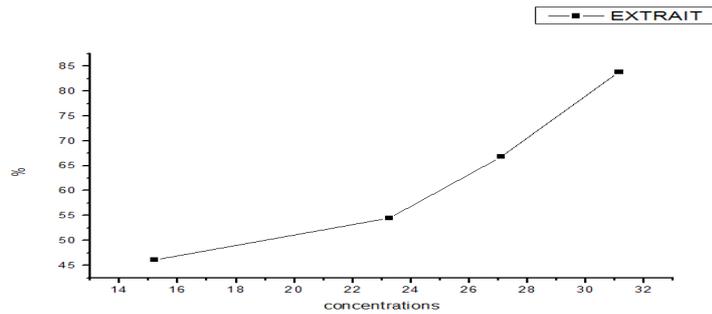
$$\text{IC}_{50} = 18.78 \mu\text{g/ml}$$

$$\text{IC}_{50} (\text{BHT}) = 17,36 \mu\text{g/ml}$$



**Figure 27 :** changement de couleur de l'extrait éthanolique avec la solution DPPH

# RESULTATS ET DISCUSSION



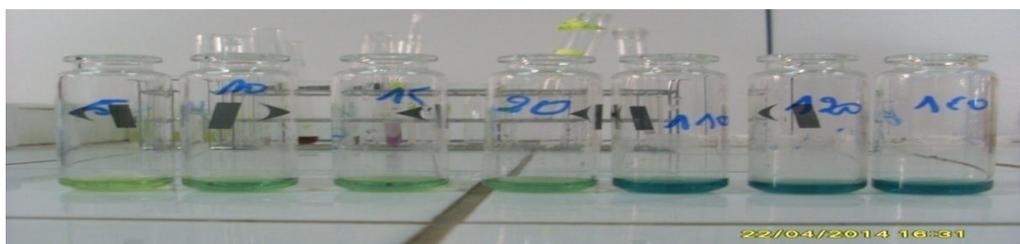
**Figure 28 :** pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de différentes concentrations d'extrait éthanolique

Le changement de couleur du violet vers le jaune du radical DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait éthanolique ( $IC_{50} = 18.78 \mu\text{g/ml}$ ), du témoin BHT (antioxydant de référence)  $IC_{50} = 17.36 \mu\text{g/ml}$ . (Tableau 11) représente l'activité du piégeage du DPPH, exprimé en pourcentage, causée par les différentes concentrations de l'extrait éthanolique. En conclusion, l'extrait éthanolique a une bonne activité antioxydante mais reste inférieure à l'activité antioxydante standard.

### 3-L'activité antioxydante par FRAP :

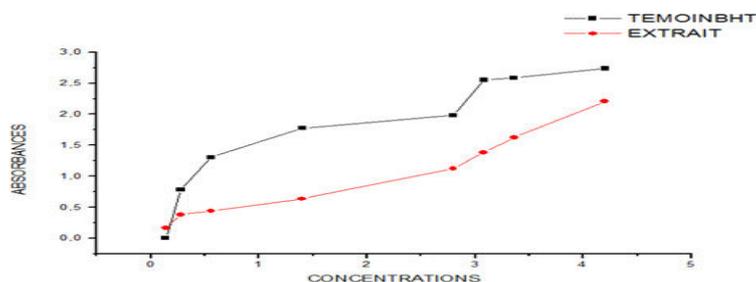
**Tableau 12 :** l'absorption de différentes concentrations de l'extrait éthanolique

<b>C mg/ml d'extrait</b>	<b>0.14</b>	<b>0.28</b>	<b>0.56</b>	<b>1.4</b>	<b>2.8</b>	<b>3.08</b>	<b>3.36</b>	<b>4.2</b>	<b>/</b>
<b>Abs</b>	<b>0.164</b>	<b>0.380</b>	<b>0.438</b>	<b>0.633</b>	<b>1.118</b>	<b>1.381</b>	<b>1.625</b>	<b>2.207</b>	<b>/</b>
<b>C mg/ml BHT</b>	<b>0.0002 5</b>	<b>0.0005 1</b>	<b>0.0007 6</b>	<b>0.0010 2</b>	<b>0.0020 3</b>	<b>0.0030 5</b>	<b>0.0040 7</b>	<b>0.006 1</b>	<b>0.008 1</b>
<b>Abs</b>	<b>0.781</b>	<b>1.305</b>	<b>1.774</b>	<b>1.982</b>	<b>2.552</b>	<b>2.585</b>	<b>2.738</b>	<b>2.757</b>	<b>2.770</b>



**Figure 29 :** la couleur verte des différentes concentrations d'extrait éthanolique

# RESULTATS ET DISCUSSION



**Figure 30:** réduction de fer de l'extrait et BH

L'extrait éthanolique a une bonne activité antioxydant mais elle reste toujours inférieure à celle de témoin.

En conclusion l'huile essentielle et l'extrait éthanolique présentent une activité antioxydante. cette dernière a été testé par trois méthodes mais elle reste toujours inférieure à celle des témoins utilisés.

### **3- Résultats des caractérisations phytochimique :**

Les résultats du screening phytochimique sont classés en fonction des différents critères d'observation, sont consignés dans le tableau 13.

**Tableau 13 :** les différentes familles détectées aux extraits

	Partie aérienne		Les racines
	Extrait aqueux	Extrait éthanolique	Extrait aqueux
<b>Alcaloïdes sels</b>	+	+	+
<b>Flavonoïdes</b>	/	+	/
<b>Tanins</b>	+	+	+
<b>Composés réducteurs</b>	+	+	+
<b>Stérols et stéroïdes</b>	/	+	/
<b>Amidon</b>	-	/	-
<b>Saponosides</b>	+	/	-
<b>Anthocyanosides</b>	/	/	-

(+) test positif. (-) test négatif. (/) Pas fait

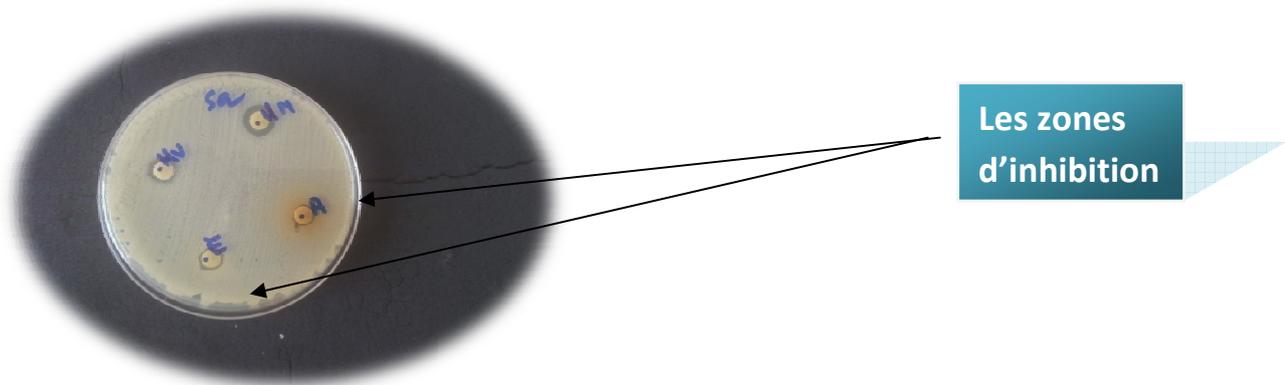


**Figure 31 :** le teste d'alcaloïdes avec le réactif Wagner

D'après le screening phytochimique les alcaloïdes sont la famille la plus abondante dans la *cynoglossum cheirifolium*

### 3- Activité antibactérienne :

L'activité antibactérienne a été réalisée au sein du laboratoire LAMAABE sous la direction du Pr Mourad Bendahou



**Figure 32:** les zones d'inhibition des extraits aqueux et éthanolique

**A :** indique l'extrait aqueux

**B :** indique l'extrait éthanolique

La méthode de diffusion par disques sur gélose (méthode de Kirby-Bauer) a été utilisée pour évaluer la bio activité des extraits par la formation de zones d'inhibition. Des disques en papier filtre à 6 mm de diamètre sont imprégnés de 20 µl des extraits sont déposés sur la surface gélosée pré-ensemencée par écouvillonnage avec de la suspension microbienne standardisée. Les souches bactériennes sont ensemencées sur gélose Müller-Hinton et incubées à 37 °C pendant 24 h. Après incubation, les résultats sont lus par la mesure des diamètres des zones d'inhibition en millimètres (mm).

# RESULTATS ET DISCUSSION

---

Les résultats de la sensibilité de l'extrait aqueux et l'extrait éthanolique du *C.cheirifolium* testé avec la méthode des disques le tableau 14 : huit souches de référence ont été utilisées.

## **Expression des résultats :**

A la sortie de l'étuve, l'absence de la croissance microbienne se traduit par un halo translucide autour du disque, identique à la gélose stérile, dont le diamètre est mesuré à l'aide d'un pied à coulisse (y compris le diamètre de disque de 6 mm).

La sensibilité des extraits a été classée par le diamètre des halos d'inhibition : < 6mm : non sensible, sensible pour les diamètres de 7mm à 14mm.

Les bactéries montrant une sensibilité aux extraits sont sélectionnées pour déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI).

## **Sensibilité des bactéries aux extraits du C. Cheirifolium :**

La méthode de diffusion des disques nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien des extraits aqueux et éthanolique de la plante *C. Cheirifolium* vis-à-vis de 8 souches (Bactéries à gram-positif, Bactéries à gram-négatif, *Candida albicans* ATCC). Les zones d'inhibition, variant entre 6 et 10 mm, indiquent que toutes les souches sont sensibles aux extraits.

D'après le tableau 14 et la figure 32, nous constatons que les extraits ont une activité antibactérienne.

Malgré l'existence des zones d'inhibition, relativement faible, nos résultats prouvent l'existence d'activités antibactérienne contre les 8 souches testés

Donc il est intéressant d'estimer les CMI.

# RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau 14 : les zones d'inhibition de différentes souches

Souches	Extrait éthanolique	Extrait aqueux
<b>Bactéries à gram-positif</b>		
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	8mm	8mm
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19115	6mm	7mm
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	9mm	8mm
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	10mm	8mm
<b>Bactéries à gram-négatif</b>		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	8mm	10mm
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 70603	9mm	10mm
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	10mm	10mm
<b>levure</b>		
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	6mm	6mm

# Conclusion générale

---

La connaissance et l'usage des plantes médicinales constituent un vrai patrimoine de l'être humain. Leur importance dans le domaine de la santé publique est très accentuée dans ces dernières années grâce aux thérapeutiques qu'elles procurent. Cette diversité en propriétés biologiques est liée certainement aux vertus thérapeutiques attribuées à une gamme extraordinaire de molécules bioactives synthétisées par la plante non seulement comme des agents chimique contre les maladies, les herbivores et les prédateurs mais aussi comme des agents médicaux tels que les antioxydants.

Le travail que nous avons abordé, repose sur l'extraction et l'étude chimique et biologique de l'huile essentielle ainsi que les extraits aqueux et alcoolique de la *Cynoglossum Cheirifolium* de la région de Tlemcen.

Tlemcen est une ville riche en plantes aromatiques médicinales, on a vu l'importance de ces plantes grâce à son utilisation traditionnelle par les populations. Mais tenant compte des facteurs climatiques, de l'environnement, socio-économiques certains espèces deviennent de plus en plus rares et d'autres demeurent abondantes.

L'huile essentielle de la *C. Cheirifolium* est décrite pour la première fois. Elle est particulièrement intéressante d'un point de vue analytique par la présence des diterpènes oxygénés.

La chromatographie en phase gazeuse nous a permis d'identifier 15 composés Dans l'huile

essentielle de la *C. Cheirifolium* spontanée dont les produits majoritaires sont :

## **E-phytol, et l'acide hexadecanoïque.**

Il est à noter que le rendement de l'huile essentielle de cette plante est assez faible : 0.011%

Pour l'activité des extraits éthanolique et aqueux :

Extrait éthanolique possède une bonne activité antioxydante et antimicrobienne.

Extrait aqueux possède une activité antioxydante modérée et une bonne activité antimicrobienne

En fin il serait intéressant de tester l'activité antioxydant par d'autres méthodes pour l'huile et les extraits, faire des tests de l'activité antibactérienne pour l'huile essentielle.

Vue l'importance des alcaloïdes en industrie il est intéressant d'identifier les alcaloïdes présent dans notre plante.

# Conclusion générale

---

La connaissance et l'usage des plantes médicinales constituent un vrai patrimoine de l'être humain. Leur importance dans le domaine de la santé publique est très accentuée dans ces dernières années grâce aux thérapeutiques qu'elles procurent. Cette diversité en propriétés biologiques est liée certainement aux vertus thérapeutiques attribuées à une gamme extraordinaire de molécules bioactives synthétisées par la plante non seulement comme des agents chimique contre les maladies, les herbivores et les prédateurs mais aussi comme des agents médicaux tels que les antioxydants.

Le travail que nous avons abordé, repose sur l'extraction et l'étude chimique et biologique de l'huile essentielle ainsi que les extraits aqueux et alcoolique de la *Cynoglossum Cheirifolium* de la région de Tlemcen.

Tlemcen est une ville riche en plantes aromatiques médicinales, on a vu l'importance de ces plantes grâce à son utilisation traditionnelle par les populations. Mais tenant compte des facteurs climatiques, de l'environnement, socio-économiques certains espèces deviennent de plus en plus rares et d'autres demeurent abondantes.

L'huile essentielle de la *C. Cheirifolium* est décrite pour la première fois. Elle est particulièrement intéressante d'un point de vue analytique par la présence des diterpènes oxygénés.

La chromatographie en phase gazeuse nous a permis d'identifier 15 composés Dans l'huile

essentielle de la *C. Cheirifolium* spontanée dont les produits majoritaires sont :

## **E-phytol, et l'acide hexadecanoïque.**

Il est à noter que le rendement de l'huile essentielle de cette plante est assez faible : 0.011%

Pour l'activité des extraits éthanolique et aqueux :

Extrait éthanolique possède une bonne activité antioxydante et antimicrobienne.

Extrait aqueux possède une activité antioxydante modérée et une bonne activité antimicrobienne

En fin il serait intéressant de tester l'activité antioxydant par d'autres méthodes pour l'huile et les extraits, faire des tests de l'activité antibactérienne pour l'huile essentielle.

Vue l'importance des alcaloïdes en industrie il est intéressant d'identifier les alcaloïdes présent dans notre plante.

## RESUME

Tlemcen est riche en plantes aromatiques et médicinales dont les huiles essentielles sont susceptibles d'être utilisées dans différents domaines. L'objectif principal de cette étude est : l'identification de la composition chimique et l'évaluation des activités biologiques de l'huile essentielle de la *C. Cheirifolium* pour la première fois. L'activité antioxydant de cette dernière a été testé par trois méthodes différentes : DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyle), le blanchissement  $\beta$ -carotène et la réduction de fer (FRAP) . L'évaluation des activités antioxydant des extraits aqueux et éthanolique a été teste par les même méthodes, d'après les résultats obtenues on conclu que notre plante a un pouvoir antioxydant modéré. Pour l'activité antibactérienne l'extrait aqueux et l'extrait éthanolique ont été testé par la méthode de diffusion en gélose. Ces derniers ont un pouvoir antimicrobien considérable.

**Mots clés :** criblage phytochimique, plantes médicinales, huile essentielles, activités antioxydant et antibactérienne, *Cynoglossum Cheirifolium*

## ABSTRACT

Tlemcen is rich in aromatic and medicinal plants whose essential oils are likely to be used in various fields. The principal objective of this study is: identification of the chemical composition and the evaluation of the biological activities of the essential oil of *C. Cheirifolium* for the first time. The antioxydant activity of the latter was by three different methods: DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyle), whitening  $\beta$ -carotene and the iron reduction (FRAP). The evaluation of the antioxydant activities of the extracts aqueous and ethanolic was tests by same the methods, according to the results obtained we concluded that our plant has a moderated antioxydant capacity. For the antibactérienne activity the aqueous extract and the extract ethanolic were tested by the method of diffusion in gélose. The latter have a considerable antimicrobic capacity.

**Keywords:** phytochemical screening, medicinal plants, essential oil, antioxidant and antibacterial activities, *Cynoglossum Cheirifolium*.

## ملخص

تلمسان غنية بالنباتات العطرية والطبية التي من المرجح أن يتم استخدامها في مختلف المجالات الزيوت الأساسية. الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو: التعرف على التركيب الكيميائي وتقييم الأنشطة البيولوجية للزيت الأساسية من *C. Cheirifolium* للمرة الأولى. كان النشاط مضادات الأكسدة هذا الأخير بثلاثة طرق مختلفة: DPPH (2,2-ثنائي الفينيل-1-بيكريلهايدرازيل)، تبييض  $\beta$  كاروتين والحد من الحديد (FRAP). كان تقييم أنشطة مضادات الأكسدة للمستخلص المائي والكحولي الاختبارات من نفس الأساليب، وفقا لنتائج التي تم الحصول عليها ونحن خلص إلى أن لدينا مصنع لديه القدرة مضادات الأكسدة خاضعة للإشراف. للنشاط مضاد للجراثيم تم اختبار المستخلص المائي والمستخلص الكحولي من خلال طريقة نشرها في أغار. هذه الأخيرة لديها قدرة كبيرة المضادة للميكروبات.

الكلمات الرئيسية: الفحص الكيميائي النباتي والنباتات الطبية والزيوت الأساسية، الأنشطة المضادة للأكسدة ومضاد

للجراثيم، *Cynoglossum Cheirifolium*