REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES

Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de **Master**

En Chimie

Spécialité : Chimie Macromoléculaire

Par :

YAGOUB Cherifa

BENAMEUR Hind

Thème :

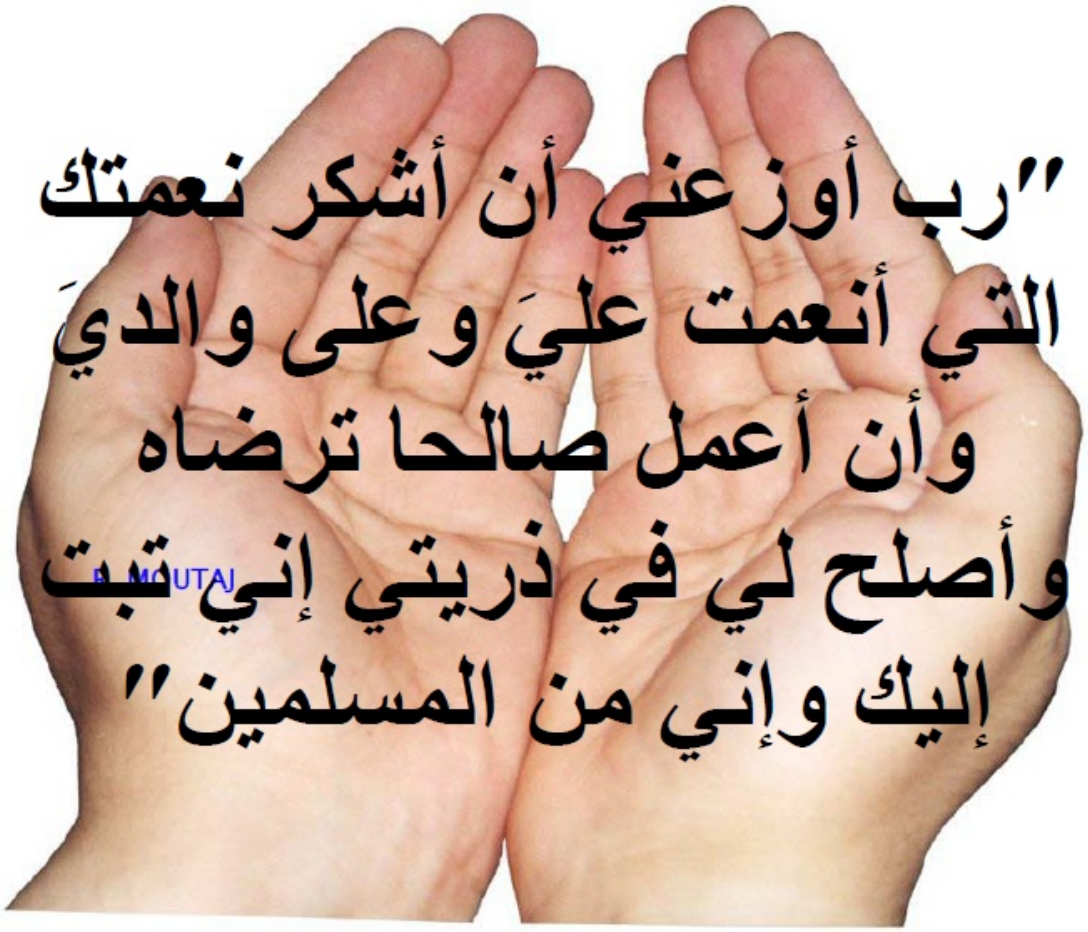
ETUDE DE QUELQUES PROPRIETES CHIMIQUES ET BIOLOGIQUES DE PLANTES MEDICINALES

Soutenue publiquement le : 11 /07 /2021. Devant le jury composé de :

M^{me} MAACHOU H	MCA	Univ de Médéa	Présidente
M^{me} BOUCHRIT N	MCA	Univ de Médéa	Examinatrice
Mme BENALLEL H	MAA	Univ de Médéa	Coencadreur
M^{me} MIMI N	MCB	Univ de Médéa	Encadreur

Année universitaire: 2020/2021


بسم الله الرحمن الرحيم


"رب أوزعني أن أشكر نعمتك
التي أنعمت عليَ وعلى والديَ
وأن أعمل صالحا ترضاه
وأصلح لي في ذريتي إني تبت
إليك وإني من المسلمين"

M.MOUTAJ

ملخص

يعد عالم النبات مصدرًا ممتازًا للمكونات النشطة، مما يمنحه نشاطًا لمضادات الميكروبات ومضادات الأكسدة الهامة.

الهدف من هذا العمل البحثي هو إجراء دراسة مقارنة بين مقتطفات من بعض النباتات الطبية (**قرافيولا** Graviola ، **العلندى** Ephedra alata ،**شندقورة** Ajuga Iva **و القراص** Ortie) تم الحصول عليها بطريقتين من النقع ، لتقييم آثارها المضادة للبكتيريا ومضادات الأكسدة مما يبين فاعليتها في علاج مرض السكري ومرض السرطان في الطب التقليدي.

خضعت المستخلصات لفحص نشاطها المضاد للميكروبات في المختبر ، ضد أربع سلالات من البكتيريا المسببة للأمراض (Escherichia coli، Staphylococcus aureus ، Pseudomonas aeruginosa و Streptococcus)

اما تقييم الفاعلية ضد الاكسدة فقد تم بفحص كمية الفينولات المتواجدة بكل مستخلص.

Résumé

Le monde végétal est une excellente source de principes actifs, ce qui lui confère une activité antibactérienne et antioxydante importante.

L'objectif de ce travail de recherche est d'effectuer une étude comparative entre des extraits de quelques plantes médicinales, **(*Graviola, Ephédra alata, Ajuga Iva et l'Ortie*)** obtenus par deux méthodes macération et décoction, pour évaluer leurs effets antibactériens et antioxydants. Ces propriétés montrent les effets thérapeutiques de ces plantes médicinales importantes utilisées en medecine traditionelle pour le traitement du diabete et cancer.

Les extraits ont été soumis à un test antimicrobien in vitro, vis-à-vis de quatre souches de bactéries pathogènes (*Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa et Streptococcus*). L'effet antioxydant est réalisé par le dosage des polyphénols totaux.

ABSTRAT

The plant world is an excellent source of active ingredients, which gives it activity important antimicrobial and antioxidant.

The objective of this research work is to carry out a comparative study between extracts of some medicinal plants (Graviola, Ephedra alata, Ajuga Iva and Ortie) obtained by two methods : maceration and decoction, to evaluate their antibacterial and antioxidant effects.

The extracts were screened for their antimicrobial activity in vitro, against four strains of pathogenic bacteria (*Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa et Streptococcus*). The antioxydant effect is realised by polyphenols dosage.

Remerciements

Ce travail de mémoire a été réalisé au laboratoire de biologie de l'université YAHIA Farés de MEDEA, une partie de l'étude a été effectuée au laboratoire de microbiologie au dispensaire

Tous d'abord nous remercions énormément Dieu tout puissant et Miséricordieux, qui nous a tout donné pour vivre sur terre et chercher à apprendre pour accomplir la mission pour laquelle il nous a crée.

En premier lieu nous tenons à adresser nos plus vifs remerciements à notre encadreur M^{me} MIMI , maitre de conférence à la faculté des Sciences de l'université YAHIA Farés de MEDEA, pour avoir encadré et dirigé ce travail de recherche et d'avoir porté une attention constante à notre travail.

Nos vifs remerciements vont à mesdames les membres du jury Dr MAACHOU et Dr BOUCHERIT d'avoir accepté de consacrer de leur temps pour juger ce travail, de l'intérêt qu'elles ont bien voulu prodiguer à nos activités de recherche, en acceptant d'être examinatrices en participant au Jury de soutenance de ce mémoire.

Nos remerciements s'adressent aussi à tous les ingénieurs de laboratoires de biologie et de chimie de l'université de Médéa pour leur aide et leur patience avec les étudiants.

Nous désirons aussi remercier le personnel du laboratoire du dispensaire de Médéa pour l'aide précieux qu'ils nous ont porté.

Enfin, nous tenons à remercier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail de recherche.

Dédicaces

Avec un coeur plein d'amour et de fierté je dédie ce travail :

*À l'étoile de mon ciel qui a su mettre la lumière dans mon univers, qui m'a toujours entourée d'amour, pour me soutenir et m'encouragée durant toute ma vie et donné l'espoir de poursuivre ce chemin jusqu'au bout «**Ma chère mère**». Que dieu la protège.*

À l'homme le plus généreux du monde, à celui qui a été toujours présent, qui m'a appris les valeurs de la vie, qui m'a soutenu en toutes circonstances et à celui qui m'a tout donné sans cesse,

*«**Mon cher père**». Que dieu le garde.*

A ma grand –mére

C'est la personne la plus ideal dans ce monde, à qui je souhaite une bonne santé

Et à toute ma grande famille pour leur soutient moral.

*A mes chères sœurs **FERIEL**, **MARIA**, **KATIA**, **CHIRAZ**, **SARA**, **NAILA** que j'aime énormément. Que dieu les protèges.*

*À mon fiancé **AMINE** qui m'a soutenu et m'a encouragé et m'a donné les efforts je dédie ce travail et je lui souhaite une longue belle vie.*

*A Ma belle Famille **SOULHI**, que dieu les protége*

À ma promotrice: **M^{me} MIMI NASSIBA** ,

Pour l'encadrement judicieux dont elle m'a honorée pour la préparation du présent mémoire.

*A mon Binôme « **HIND** » qui a partagée avec moi les moments difficiles de ce travail et sa famille.*

Sans oublier mes brave Amies de la promotion2021

CHERIFA

Dédicaces

*A l'aide de **Dieu** tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, J'ai pu réaliser ce travail que je dédie :*

A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie ma mère qui ma apporté son appui durant toutes mes années d'étude, pour son Sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité.
A mon cher père qui ma appris le sens de la persévérance tout au long de Mes études, pour son sacrifice ses conseils et ses encouragements.

A mes très chères sœurs : Samira, Ikram, Amani

Ama chére tante :Fatima et ses enfants

A mes très chères frères : Ahmed Fouad, Fares, Yousef bahaa Eddine.

A toute ma famille, proche ou éloigné A tout mes Amis A mon Binôme «Cherifa » qui a partagée avec moi les moments difficiles de ce travail et sa famille.

A tous les combattants contre cancer et diabète
Et a tous ceux qui m'ont aidé de prés ou de loin et que je n'ai pas pu citer

HIND

LISTE DES ABREVIATIONS

- **OMS :** L’organisation Mondial de la Santé.
- **E.alata :** Ephédra alata.
- **E.Coli :** Escherichia coli**.**
- **EAM :** L’extraction assité par Micro-onde. .
- **P :** Pseudomonas.
- **GN :**Gélose Nutritive.
- **MH :** Mueller Hinton.
- **IR :** Infrarouge.
- **T :** Température.
- **Pc :** Pression critique.
- **G :** Gramme
- **mm :** Milimetre.
- **µm :** Micromètre.
- **FTIR :** Infrarouge à Transformée de fourier
- **CMI :** Concentration Minimal Inhibitrice.
- **R% :** Rendement.

LISTE DES FIGURES

Figure I.1: Ajuga Iva …..…….5
Figure I.2 : Ephedra alata alenda……...…….……....7
Figure I.3: Répartition géographique de l'Ephedra dans le monde……...8
Figure I.4: Feuilles de Graviola (corossol) ……..……...9
Figure I.5 : *Ortie:Urtica dioi*……..……11
Figure I.6: Percolation du café…….....13
Figure I.7: la decoction…….…….……....14
Figure I.8: La maceration ....…….……14
Figure I.9: La distillation…...…….....15
Figure I.10: Extraction de soxhlet…….……16
Figure I.11: Extraction assistée par ultrason…….……...……17
Figure I.12 : Extraction assisté par micro-onde……...……18
Figure I.13: Extraction par CO_2 supercritique…….……19
Figure I.14: Extraction par l'eau subcritique…….…….……20
Figure I.15: Bactérie à gram positif ……...……22
Figure I.16: Bactérie à gram négatif ……..… …….. 22
Figure I.17: Streptocoques**.**.....24
Figure I.18: Structure du noyau phénol……...24
Figure I.19 Squelette de base des flavonoïdes……....25
Figure II.1 : Etapes photographiques de l'extraction réalisée au laboratoire de biologie de la faculté de science de l'université de Médéa …….....31
Figure II.2: Obtention de l'extrait sec après séchage à l'étuve …….…….....32.
Figure II.3: Schéma récapitulatif de la préparation des dilutions des extraits…….…....33
Figure II.4: Différentes étapes de la mesure de l'activité antibactériènne……...……35
Figure II.5 : Incubation dans l'étuve et mesure des zones d'inhibition.....36
Figure II.6: Dosage des phénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu……37
Figure II.7: Spectrophotomètre UV-Visible ……37
Figure III..1 : Valeurs des rendements d'extraction en fonction de la méthode d'extration……41
Figure III.2 : Valeurs des rendements d'extraction par macération en en fonction de la masse des différentes plantes …….....41

Figure III. 3 : Courbe d'étallonage de l'acide gallique……..…….43
Figure III.4: Teneurs en polyphénols…….……...44
Figure III..5 : Spectres Infrarouge des plantes étudiées (avant extraction 1- Ortie 2- Graviola ….....45
Figure III.6 : Spectres Infrarouge des plantes (avant extraction) 3- Ajuga iva 4-Ephedra.....46
Figure III.7 Spectres IR de l'ortie ……..47
Figure III.8 Spectres IR du graviola……....47
Figure III.9 Spectres IR de l'Ajuga iva……...……48
Figure III.10 Spectres IR de l'éphedra……..……..48
Figure III.11 : Zones d'inhibition de l'extrait de plante (Ajuga iva) obtenu par décoction....50
Figure III.12 : Zones d'inhibition de l'extrait de plante (Ephédra) obtenu par décoction…..50
Figure III.13 : Zones d'inhibition de l'extrait de plante (Graviola) obtenu par décoction…..51
Figure III.14 : Zones d'inhibition de l'extrait de plante (Ortie) obtenu par décoction……...51
Figure III.15 : Zones d'inhibition de l'extrait de plante (Ajuga iva) obtenu par macération..52
Figure III.16 : Zones d'inhibition de l'extrait de plante (Ephedra) obtenu par macération....52
Figure III.17 : Zones d'inhibition de l'extrait de plante (Ortie) obtenu par macération.....53
Figure III.18 : Zones d'inhibition de l'extrait de plante (Graviola) obtenu par macération….53
Figure III.19 Activité antibactérienne des différents extraits……..…55

LISTE DES TABLEAUX

Tableau III.1 : Résultats des rendements d'extraction.....39

Tableau III.2: Teneurs en polyphénols totaux.....43

Tableau III.3 : Valeurs des diamètres d'inhibition des souches bactériennes.....54

Tableau III.4 Valeurs des diamètres d'inhibition de souches bactérienne *Staphylococcus aureus* à différentes concentrations en extrait de *l'ortie* obtenu par décoction.....55

Sommaire

Liste des Abréviations	
LISTE DES FIGURES	
LISTE DES TABLEAUX	
INTRODUCTION	1
Chapitre I : Synthése bibliographique	
I -Les plantes médicinales	5
I-1.Ajuga Iva	5
a) Description botanique	5
b) Systématique de la plante Ajuga Iva	6
c) Composition chimique	6
d) Utilisations de la plante	6
I-2.Ephedra alata alenda.	6
a) Description botanique	7
b) Répartition géographique	7
c) Classification systématique d'Ephedra alata	8
d) Composition chimique	8
e) Utilisation	8
I-3.Graviola	9
a) Description botanique	9
b) Classification systématique	10
c) Composition chimique	10
d) Utilisation	10
I-4. L'ortie	10
a) Classification et caractères botaniques	11
b) Systématique de l'ortie	11
c) Composition chimique	12
d) Utilisation	12

I-5.Méthodes d'extractions	**13**
I-5-1.Méthodes d'extractions traditionnelles (anciennes)	13
I-5-2.Méthodes d'extractions alternatives (nouvelles).	15
I-6.Caractérisation des plantes médicinales	**21**
I-6-1.Activité antibactérienne	21
I-6-2.**L**es polyphénols	24
I-6-3.Les flavonoïdes	24
I-6-4. Spectroscopie Infrarouge	25
Chapitre II: Matériel et méthodes	
II- Matériel et méthodes	29
II-1.But de l'étude	29
II-2.Le matériel végétal	29
II-3.Matériel et produits utilisés	29
II-4. Procédés d'extraction	30
a) Extraction par macération à l'éthanol	30
b) Extraction par décoction	30
II-5. Caractérisation	31
I-5-1. Détermination du rendement d'extraction	32
II-5-2. Analyse infrarouge à transformée de Fourier FTIR	32
II-6. Activité antibactérienne	33
➢ Mode Opératoire	33
➢ Prépartion de la dilution	33
➢ Prépation des précultures	33
II- 7.Dosage des polyphénols totaux	36
➢ *Principe*	36
➢ Mode opératoire	*36*
Chapitre III: Résultats et interprétations	
III-1. Rendement de l'extraction	39
III-2.Dosage des polyphénols totaux	42

III-3. Analyse infrarouge	44
III-4. Activite antibacterienne	49
➢ Etude de l'effet antimicrobien par la méthode de disque	49
Conclusion	56
Perspectives	57
Références Bibliographiques	60

Introduction

Introduction

Au fil des siècles, les traditions humaines ont développé la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales visant à vaincre la souffrance et à améliorer la santé des humains [1]**.** L'utilisation des plantes à des fins thérapeutiques est décrite dans la littérature arabe, chinoise, égyptienne, hindoue, grecque et romaine. Le pouvoir thérapeutique des plantes était connu empiriquement de nos ancêtres [2].En fait, il existe dans le monde environ 500 000 espèces de plantes, 80 000 espèces sont considérées comme des plantes médicinales et de nombreux médicaments sont élaborés à partir de leurs principes actifs. La grande majorité des pays en développement du monde (80%) utilisent des plantes médicinales à des fins médicales et pour le traitement de la douleur [3]**.** L'Organisation mondiale de la santé (OMS) considère que, dans de nombreux pays moins développés, les plantes et leurs composants sont les principales sources de remèdes [4]. Dans la région africaine, les connaissances et les pratiques en matière de médecine traditionnelle ont été transmises d'une génération à l'autre comme tradition orale. La médecine traditionnelle est bien développée en Algérie, mais l'utilisation de la médecine conventionnelle a conduit à négliger ces pratiques ancestrales, qui risquent d'être oubliées [5].

Par son action en douceur et en profondeur, la Phytothérapie apparaît comme la réponse idéale aux "maladies du siècle" qui caractérisent nos sociétés, comme le stress, la perte du sommeil ou la prise de poids, diabète, cancer [6]…

L'étude de la chimie des plantes est toujours d'une brûlante actualité malgré son ancienneté. Cette matière végétale contient un grand nombre de molécules qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie alimentaire, en cosmétologie et en pharmacie. Parmi ces composés on retrouve les alcaloïdes, les composés phénoliques, les tannins et les flavonoïdes [7,8]**.** Cependant, l'évaluation des propriétés anti oxydantes et antimicrobienne demeure une tache très intéressante et utile, en particulier pour les plantes d'une utilisation rare ou moins fréquente [9,10]**.**

L'objectif de ce travail de recherche est d'effectuer une étude comparative entre des extraits de quelques plantes médicinales, **(*Graviola, Ephédra alata, Ajuga Iva et l'Ortie*)** obtenus par macération et décoction, pour évaluer leurs effets antibactériens et

antioxydants. Ces propriétés montrent les effets thérapeutiques de ces plantes médicinales importantes.

Notre travail est organisé en trois chapitres :

Le premier chapitre présente une synthèse bibliographique regroupant les différentes définitions, les méthodes d'extractions ainsi qu'une présentation des différentes plantes utilisées dans ce travail, (*Graviola, Ephédra alata, Ajuga Iva et Ortie*) leur description, composition chimique et leurs propriétés pharmacologiques correspondantes.

Le deuxième chapitre regroupe les différents modes opératoires et matériels utilisés pour nos expériences.

Le troisième chapitre présente les résultats obtenus et leurs interprétations.

Enfin, nous terminons avec une conclusion présentant les différents résultats obtenus ainsi que les perspectives envisagées.

Chapitre I
Synthèse bibliographique

I -Les plantes médicinales

La phytothérapie est le traitement des maladies par des plantes dites médicinales. La phytothérapie vient du grec et signifie « soigner par les plantes ». Elle repose en partie sur une pratique traditionnelle, fondée sur l'utilisation ancestrale et locale des plantes. Depuis la nuit des temps et à travers le monde les plantes sont utilisées à des fins thérapeutiques [6].

Les plantes médicinales sont des drogues végétales qui possèdent des propriétés médicamenteuses [1,6]. Elles renferment de nombreux principes actifs qui ont des activités thérapeutiques complémentaires ou synergiques. Ces principes actifs ont été étudiés et reproduits chimiquement pour être incorporés de nos jours dans de nombreux médicaments. Ces plantes médicinales peuvent également avoir des usages alimentaires, condimentaires ou hygiéniques [6].

Parmi les plantes les plus employé depuis l'antiquité **(*Graviola, Ephédra alata, Ajuga Iva et l'Ortie*)**, leurs descriptions et leurs propriétés sont présentées ci-dessous.

I-1.Ajuga Iva

Le genre Ajuga appartient à la famille des lamiacées avec plus de 300 espèces différentes. Cette plante est largement distribuée dans les régions arides d'Europe, d'Asie, d'Afrique et d'Australie [11] (Figure I.1).



Figure I.1: **Ajuga Iva**

a) Description botanique

Ajuga iva est une petite plante vivace de 5 à 20 cm de long, à tiges vertes rampantes et velues, à feuilles vertes de 14 à 25 mm de longueur, linéaires, denses et couvertes de duvets. Les fleurs sont violettes, roses, ou jaunes, de 20 mm de longueur ; la lèvre supérieure de la corolle est réduite ou absente et la lèvre inférieure est divisée en trois lobes velus. Les lobes

latéraux sont petits, alors que le lobe central est relativement plus large décoré dans sa base par un axe central jaunâtre [12].

b) Systématique de la plante Ajuga Iva

Systématique de la plante	
Règne : *Plantae*	**Ordre :** *Lamiales*
Sous-règne : *Tracheobionta*	**Famille :** *Lamiaceae*
Division: *Magnoliophyta*	**Genre :** *Ajuga*
Classe : *Magnoliopsida*	**Espèce :** *A. iva* L Schreb
Sous-classe : *Asteridae*	
Nom binomial : *Ajuga iva* **L Schreb**	
Nom vernaculaire algérien : Chendgora ; Français : Ivette	

c) Composition chimique

La plante est riche en composés polyphénoliques, qui sont les meilleurs antioxydants, flavonoïdes et tanins [13]. Elle contient aussi des anthocyanes, des acides phénoliques et d'autres substances en particulier l'ajugarine [14]. Les études photochimiques ont montrés que l'ivette contient aussi des ecdystéroides, des diterpénoides, des iridoïdes et des saponosides acides [15]

d) Utilisations de la plante

En médecine traditionnelle, Ajuga iva est utilisé pour traiter le diabète et l'hypertension [16], ainsi que les troubles gastro-intestinales et l'ulcère de l'estomac [17]. L'ivette est efficace contre la fièvre, la diarrhée, les gaz, les maux de tête et les maux de dents. En usage externe, elle est souvent employée en applications locales contre les rhumatismes, comme antiseptique et cicatrisante sur les plaies [18]. La richesse de l'ivette lui donne plusieurs propriétés prouvées scientifiquement. C'est un agent antioxydant [19], antidiabétique et hypolipidémique [20], vasodilatateur et donc anti hypertensif [21], antibactérien et antifongique [11].

I-2.Ephedra alata alenda

L'origine de l'Ephedra a parfois été considérée comme ancienne, peut-être dès ou avant l'éclatement de la Pangée (environ 200 millions d'années passant dans le Trias moyen)

[24].La famille des Ephedraceae représentée par le seul genre Ephedra, inclue environ 40 espèces dans le monde [25].



Figure I.2 : Ephedra alata alenda

a) Description botanique

Cette espèce, qui est réputée pour sa tolérance élevée à la carence en eau dans les régions sahariennes [26].Est un arbuste de 1 à 3 mètres de haut, à rameaux articulés et très ramifiés d'une couleur vert-jaunâtre, portant au niveau des nœuds de petites feuilles opposées, alternant d'un nœud à l'autre **(Figure I.2).** Les fleurs sont en petits cônes blanchâtres, dioïques (fleurs mâles et femelles sur des pieds différents) et les fruits entourés de bractées largement membraneuses. Elle présente un système de racines latérales extrêmement puissant [26].

b) Répartition géographique

L'espèce Ephedra alata est une plante médicinale appartenant au genre Ephedra originaire d'Asie, y compris l'Arabie Saoudite [27]. Elle est commune dans le Sahara du Maroc à la Libye jusqu'à l'Egypte et l'Arabie [26]. En Algérie, E. alata se trouve dans le Sahara septentrional et occidental au niveau des terrains sableux, des regs et les lits sablonneux des oueds. Elle est même rencontrée dans le sable de l'étage tropical et la Hamada de Tinghert [26] **(Figure I.4)**.

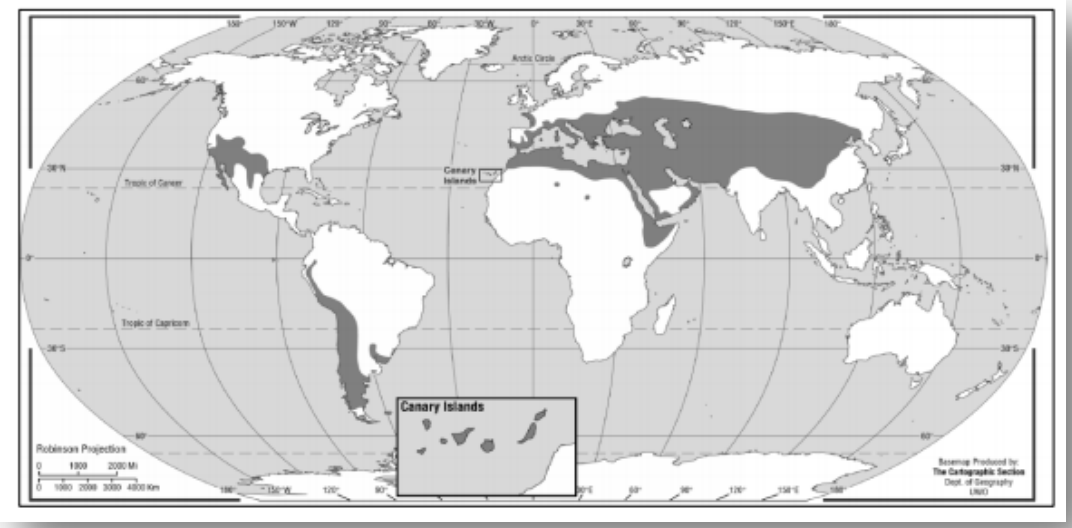


Figure I.3: Répartition géographique de l'Ephedra dans le monde (zone sombre)

c) Classification systématique d'Ephedra alata

Embranchement : Spermaphytes

Sous embranchement: Gymnospermes

Classe : Gnetopsida

Ordre : Ephedrales

Famille : Ephedraceae

Genre: Ephedra

Espèce : Ephedra alata

Eous espèce : Ephedra alata alenda

d) Composition chimique

L'apparition d'éphédra dans plusieurs zones de monde induit la diversité des ingrédients chimique comprend les cycles cyclopropyle, les dérivés de tryptophane et l'éphédrine [28].

e) Utilisation

Les espèces du genre Ephedra sont parmi les plus anciennes herbes médicinales connues de l'humanité. E. sinica est l'espèce principale qui a été utilisée en Chine depuis plus de 5000 ans. E. gerardiana a aussi été utilisée dans la médecine traditionnelle indienne depuis l'ancien temps. Même durant le temps de l'empire Romain, l'Ephedra était bien connue [29]. Ma-huang est le terme spécifique donné par les chinois à la partie aérienne des espèces contenant de l'éphédrine [29].Ma-huang a été traditionnellement utilisé en Chine pour lutter contre

l'asthme bronchiale, rhume, grippe, fièvre, frissons, rhinite, congestion nasale, œdème, maux de tête, arthralgies et comme diaphorétique, antiallergique et antitussif [29-31]. Les espèces Ephedra d'Asie ont été récemment utilisée dans la fabrication clandestine d'une drogue de rue, laméthamphétamine **(d-desoxy-éphédrine)** [32].

Des gens, au moyen orient, sont guérit en utilisant l'ephedra. Ils l'ont utilisé en faisant bouillir 400g de cette plante dans 8 litres d'eau pendant 2 heures à petit feu. Après filtration, ils gardent le filtrat dans le réfrigérateur et prennent une dose de 2 litres par jour pendant quelques mois. Parmi les cas qui ont été guéris grâce à Dieu: Leucémie (سرطان الدم), cancer de la vessie, cancer de la prostate et cancer du foie.

I-3.Graviola

Le Graviola est un fruit, et plus précisément, qui provient d'un arbre fruitier. Il appartient à la famille des anonacées. L'arbre pousse dans les sols calcaires et secs, voire caillouteux. Il apprécie les climats chauds et les zones abritées du vent. Il se plante au printemps et il fleurit en été, pour atteindre une taille maximale de dix mètres. Le fruit peut mesurer jusqu'à 25 centimètres de long et peser entre un et trois kilogrammes. (Figure I.4). Le Graviola est originaire des Antilles et de l'Amérique tropicale



Figure I.4: Feuilles de Graviola (corossol)

a) Description botanique

➢ Graviola est un arbre aussi haut que large, d'une stature de 4 à 7 m. il développe un tronc à l'écorce lisse gris-brun, se fissurant avec l'âge. Sa couronne s'étale en cône inversé. Ses racines sont superficielles, et s'étendent au-delà de sa couronne. La racine pivotante des corossoliers juvéniles se perd lorsqu'ils grandissent.

- Les feuilles sont persistantes, alternes avec un beau limbe brillant, ovales à elliptique, long de 7 à 15 cm et large de 3 à 8 cm. Elles sont aromatiques et ont un parfum un peu piquant.
- Les fleurs sont solitaires ou groupées par 3 sur un pédicelle robuste. Elles sont verdâtres, de moins de 2 cm de large, à 6 pétales en 2 longueurs différentes.
- Les fruits sont des syncarpes (carpes réunis comme chez la fraise) capables de devenir très gros, ovoïdes ou en forme de cœur. Les plus imposants peuvent mesurer jusqu'à 40 cm de longueur pour un poids extraordinaire de 7 kg.
- Ce fruit qui est un ensemble d'ovaires soudés est hérissé de petites pointes souples. Lorsqu'il y a une fécondation incomplète, il prend une forme dissymétrique.

b) Classification systématique

Nom Arabe: جرافيولا

Nom scientifique: Annona muricata L.

Famille: Annonacées

Drogue: Fruit, graine et feuille [33].

c) Composition chimique

Deux cent douze composés bioactifs ont été signalés à A. muricata .les composés prédominants sont les acétogénines suivis des alcaloïdes, des phénols et d'autres composés [33].

d) Utilisation

- La préparation la plus largement utilisée dans la médecine est la décoction de l'écorce, de la racine, de la graine ou de la feuille mais les applications sont variées
- Toutes les parties sont utilisées pour traiter le paludisme, les maux d'estomac, les infections parasitaires, le diabète et le cancer ; les affections cutanées et les parasitoses
- La décoction des feuilles est utilisée comme antalgique
- En plus d'être utilisé comme aliment, le jus de fruit est utilisé pour traiter la diarrhée et quelques maladies du foie
- L'usage des feuilles en décoction ou sous forme de gélules est indiqué pour l'hypertension, le diabète et le cancer [33].

I-4. L'Qrtie

L'ortie est une plante herbacées vivace, vigoureuse et à longue durée de vie par un rhizome jaune rampant, nitrophile, couverte de poils crochus irritants elle peut atteindre 1,50 mètre de haut [34] (Figure I.5).



Figure I.5 : *Ortie:Urtica dioica*

L'origine du nom de la plante : l'ortie, urtica pour les botanistes provient du latin urer « bruler », qui a également donnée urine, urètre et uretère [35].

Le nom d'espèce *dioïca,* dioïque en français concerne un végétal dont les fleurs males et femelles sont portées par des pieds différents [36].

Nom scientifique: *Urtica dioica* L,

Nom français: Grande ortie, ortie piquante, ortie commune, ortie vivace.

Nom Anglais: Nettle

Nom arabe : Harayig القراص

a) Classification et caractères botaniques

S dioique, genre urtica espèce dioica, appartient à la famille des Urticacées. Cette famille comprend près d'une cinquantaine de genres et plus de 700 espèces, elle est présente partout dons le monde. on distingue les Urticacées avec poils urticants (genre urtica) ou sans (genres Parietaria et Boehmeria) [36]. Une trentaine d'espèces présentes dans le monde sauf à Madagascar et en Afrique du Sud où l'ortie est absente.

b) Systématique de *l'ortie*

Règne: Plantae (plantes).

Sous-règne: Tracheobionta (plantes vasculaires).

Embranchement: Magnoliophyta (phanérogames).

Sous-embranchement : Magnoliophytina (angiospermes).

Classe : Rosideae.

Sous-classe : Rosideae dialycarpellées.

Ordre : Rosales.

Famille: Urticaceae.

Genre : Urtica

Espèce : *Urtica dioica* L.

c) *Composition chimique*

Les constituants de l'Ortie dioïque sont d'un intérêt, car les extraits des racines et des feuilles sont largement utilisés en médecine traditionnelle dans de nombreuses régions du monde. La partie chimique active de l'Ortie dioïque comprend près de cinquante composés de la fraction lipophile et dont la structure chimique est connue. On trouve des stérols, des acides triterpéniques, des coumarines, des phénols, des lignanes, des céramides, des acides gras, etc., tous ces constituants trouvent leur répartition dans les divers organes de la plante.

d) *Utilisations*

Plusieurs propriétés médicinales lui sont attribuées : adaptogène, nutritive, astringente, tonique, antiasthmatique, stimulante et dépurative. Les feuilles d'ortie sont riches en fer et en oligo-éléments. On la conseille en usage interne, soit en infusion, en teinture, en capsules ou sous forme de jus frais pour tonifier et redonner de l'énergie, contre l'inflammation des voies urinaires, en traitement ou en prévention des calculs rénaux, contre l'anémie, l'insuffisance cardiaque et le rhume des foins. L'ortie est aussi utilisée par voie externe pour traiter les entorses, la tendinite et la névralgie, ainsi que pour soulager les douleurs arthritiques et rhumatismales. On la retrouve dans certains produits pour traiter les maladies de peau comme l'eczéma, le psoriasis, l'acné et les infections.L'ortie seule ou en association avec d'autres plantes entre dans la composition de plusieurs produits pharmaceutiques. Par ailleurs, depuis le début des années 1980, la racine d'ortie est utilisée pour traiter l'hyperplasie bénigne de la prostate.

L'ortie est également utilisée dans plusieurs cosmétiques comme les shampoings, car on lui attribue la capacité de stimuler la croissance des cheveux. En cuisine, les jeunes feuilles sont excellentes cuites, en potage, en salade ou comme légume. Elles perdent d'ailleurs leur propriété urticante lorsqu'elles sont cuites, séchées ou transformées. Auparavant, l'ortie était utilisée comme colorant naturel vert en raison de sa haute teneur en chlorophylle et ses fibres servaient à la fabrication de papier. Pendant quelque deux mille ans, l'ortie a été exploitée en Norvège et en Écosse pour ses fibres qui servaient au tissage de vêtements.

I-5.Méthodes Extractions :

I-5-1.Méthodes d'extraction traditionnelles (anciennes)

L'extraction veut dire la séparation des parties actives de tissus végétaux ou animaux des composants inactifs ou inertes à l'aide de solvants sélectifs, traditionnellement l'eau, les huiles végétales ou les graisses animales. Les produits ainsi obtenus sont relativement impures sous forme de liquides, semi-solide ou poudres exclusivement destinés à un usage oral ou externe.

Il s'agit de préparations connes comme les tisanes et les huiles médicinales [33]. La tisane, que ce soit infusion, décoction ou macération, est un procédé d'extraction de constituants actifs des plates médicinales. le mot tisane vient du grec ptisané qui désignait orge monde, puis tisane d'orge. l'utilisation de la plante en tisane est retrouvé parmi les méthodes les plus anciennes à coté des fumigation des inhalation de vapeur, de l'application d'une solution sur le corps . l'eau chaude permet ainsi de récupéré certains constituants actifs hydrosolubles [34]

- **La percolation :**

Elle consiste à laisser couler un solvant (généralement très chaud) sur un lit de solides finement divisés. Elle est plus rapide et donne une meilleur qualité de substance aromatique mais charge les huiles essentielles en substance non volatiles ; on parle alors d'essence de percolation. La préparation du café (Figure I.6) relève de cette opération [35].

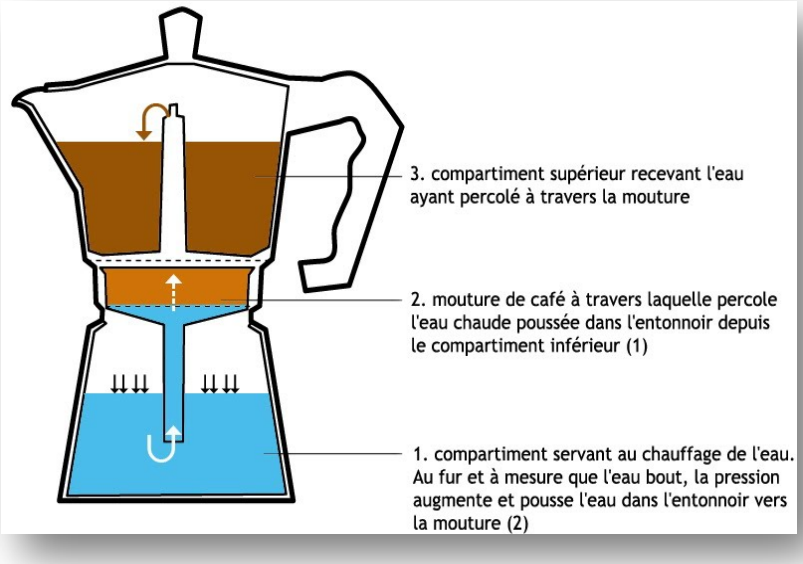


Figure I.6: Percolation du café

- **La décoction :**

Elle convient pour l'extraction de matières végétales dur ou très dur : bois, écorse, racines, ou des plantes avec des constituants peu soluble (ex : l'acide silicique). Elle consiste à faire bouillir les plantes fraîches ou sécher dans l'eau pendent 10 à 30 min (Figure I.7), pour bien extraire les principes médicinales [36].

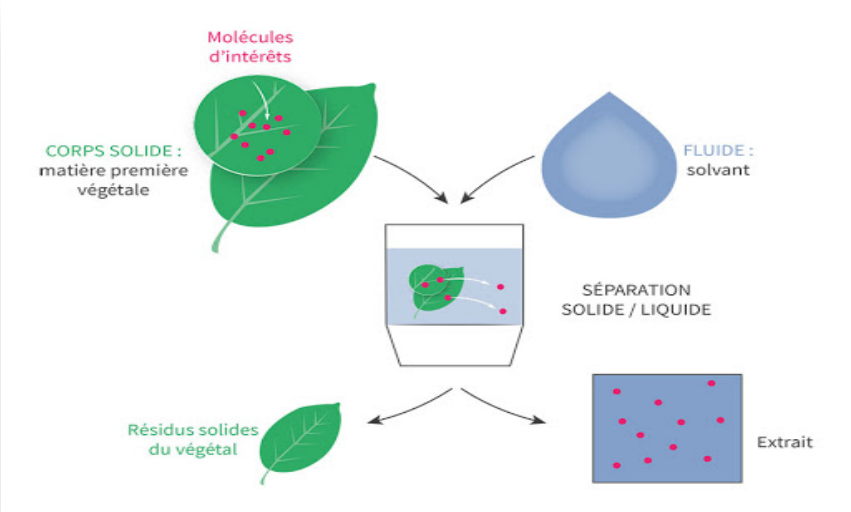


Figure I.7: La décoction

- **Macération**

C'est la méthode d'extraction solide-liquide similaire à l'infusion qui s'effectue à température ambiante (Figure I.8). Elle est généralement utilisée pour l'extraction de composés sensibles à la chaleur.

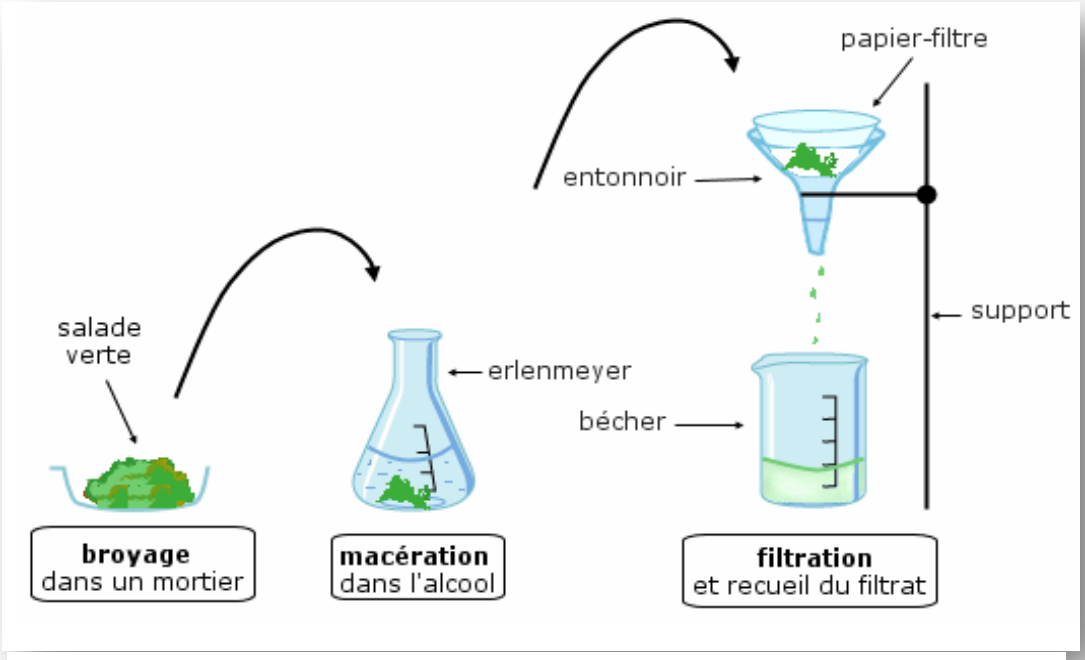


Figure I.8: La macération

- **Infusion**

C'est une méthode d'extraction des principe actif ou des arome d'un végétal par dissolution dans un liquide initialement porté à ébullition que l'on laisse refroidir. Le terme désigne aussi les boissons préparées par cette méthode, comme tisane et le thé

- **Distillation**

C'est une pratique très ancienne utilisant la vapeur d'eau pour récupérer les principes volatiles (Figure I.9). Développée par Jabir Ibn Hayyan **(Geber 720-815)** qui à rajouté l'alambic à l'ancien appareil de distillation pour la réfrigération, mais utilisé par Al kindi **(Alchindius 805-873)** et Ibn Sina **(Avicenne 980-1037)** pour la préparation des parfums. Les eaux distillées ou hydrolat, sont obtenues par la distillation de la plante (feuilles, tige…..), alors que les eaux florales sont obtenues de la même manière mais à partir des fleurs [37]

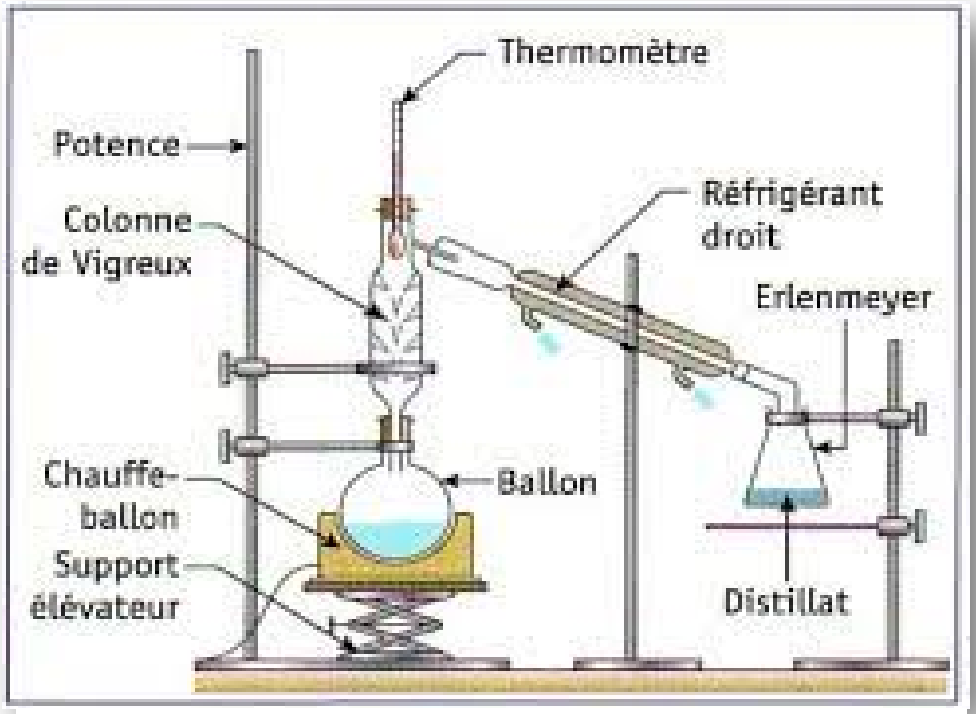


Figure I.9: La Distillation

I-5-2.Méthodes d'extraction alternatives (nouvelles)

Les méthodes d'extraction conventionnelles des plantes médicinales utilisaient les solvants organiques. Soit par macération (extraction discontinue) ou en utilisant certain appareils comme le soxhlet. qui est une extraction continue inventé pour la première fois en 1879 par l'allemand Franz Von soxhlet (1848-1926), mais certain inconvénients se présentent avec ce appareil à cause de la taille limitée de la cartouche qui porte la plante, et la chaleur qui peut dégrader les composés chimique [38].

- **Le soxhlet :**

C'est une méthode classique pour l'extraction solide-liquide. L'échantillon entre rapidement en contact avec une portion fraiche de solvant, ce qui aide à déplacer l'équilibre de transfert vers le solvant (Figure I.10). Les inconvénients les plus significatif de cette méthode sont : la durée importante d'extraction et la grande quantité de solvant consommée, ce qui conduit non seulement à des pertes économique mais pose aussi des problèmes sur le plan environnemental. Les échantillons étant portés à haute température pendant une période relativement longue, le risque de thermodestruction de certains composés n'est pas à négliger si la matière végétale contient des composés thermolabiles. Etant donné la grande quantité de solvant utilisée, l'étape postérieure d'évaporation \ concentration devient limitant [39]

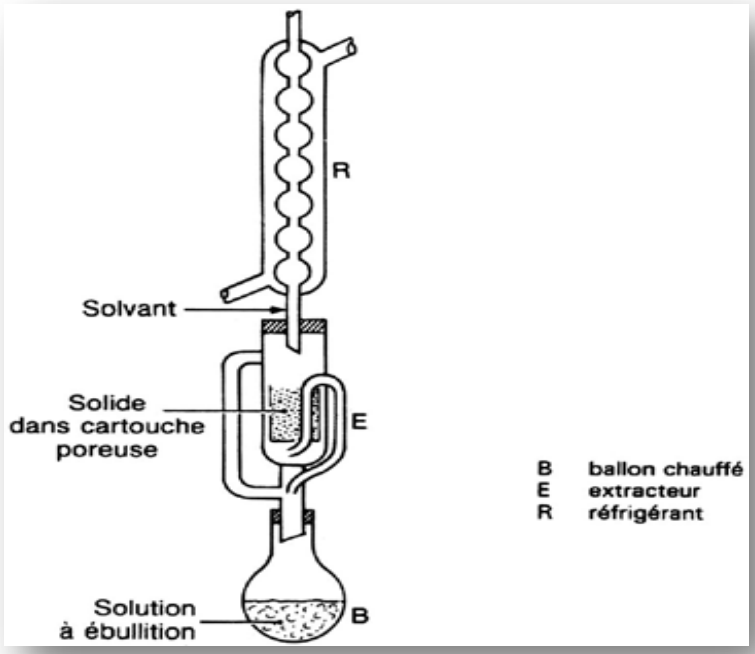


Figure I.10: Extraction de soxhlet

- **Extraction assistée par ultrason**

La technique d'extraction par ultrasons est la plus à l'échelle inusuelle pour améliorer les phénomènes de transfert masse (Figure I.11). Elle a été reconnue pour son application potentiel dans l'extraction des plantes et huiles (carbone, gingeons, huile d'amande….), les protéines (soja), poly phénol, anthocyanines, saponines de ginseng, polysaccharide, la pasteurisation et la production de produits laitiers [40]

L'ultrason fait référence aux ondes sonores mécanique et élastique avec fréquence plus hautes que celle détectable par l'oreille humaine, c'est-à-dire autour de 18 kHz. Les fréquences

ultrason d'intérêt pour réaction chimique (20-100kHz) sont plus faibles que dans application médical, mais le pouvoir utilisé est plus grand supérieur à une dizaine de watt. En usage médical, les ondes à hautes fréquence (3-10MHz) sont utilisées pour le diagnostic et à faible niveau d'énergie inferieur à 1watt. L'application des faible fréquences sur le corps peut endommage les tissus, alors que l'usage des hautes fréquences en chimie est sans valeur [41] Les principaux avantages de l'utilisation des ultrasons dans l'extraction de solide-liquide incluent :

- Réduction de la température de fonctionnement permettant l'extraction des composés thermolabile.
- Faible cout de l'appareillage et facilité de l'opération par comparaison à d'autres nouvelles technique d'extraction telles que l'extraction assistée par micro-ondes.
- Possibilité d'utilisation de n'importe quel solvant ce qui permet d'intervenir dans l'extraction d'une large variété de composés naturels
- L'augmentation de la cinétique et du rendement d'extraction

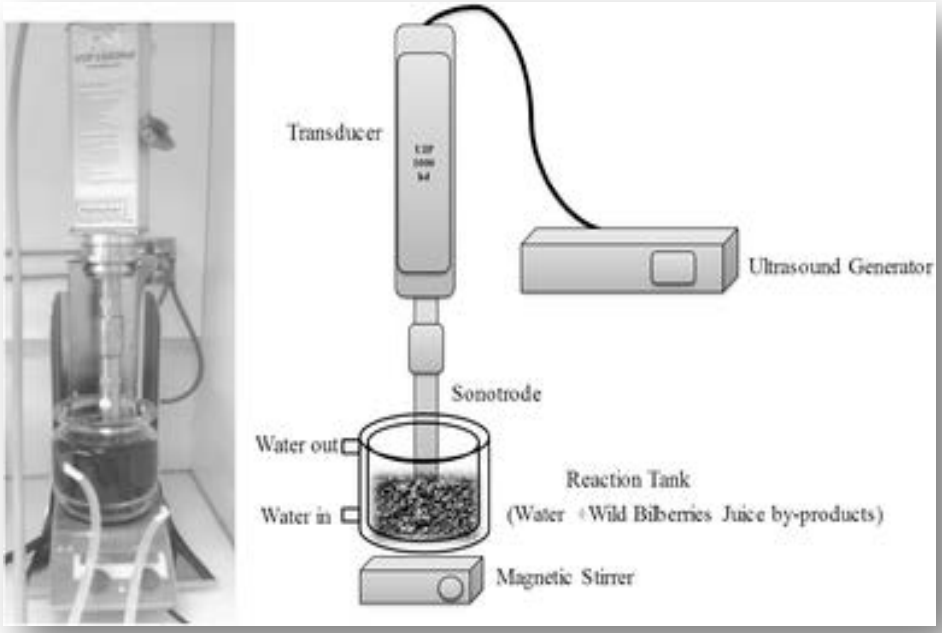


Figure I.11: Extraction assistée par ultrason

- **Extraction assisté par micro-onde**

Les micro-ondes sont des rayonnements électromagnétiques de fréquence allant de 0.3 à 300GHz. L'extraction assisté par micro-ondes (EAM) offre un transfert rapide d'énergie et un chauffage simultané de l'ensemble) » solvant et matrice végétale solide » (Figure I.12). En

absorbant l'énergie des micro-ondes, l'eau présente dans la matrice végétale favorise la rupture des cellules facilitant ainsi la libération des produits chimiques de la matrice et améliorant leur extraction [43]. Elle utilise de plus petite quantité de solvant, n'est pas conteuse et est considérablement rapide. Cependant, la température opératoire de cette technique est relativement (100-150), ce qui pose de problèmes quand il s'agit de l'extraction d'antioxydants [42].

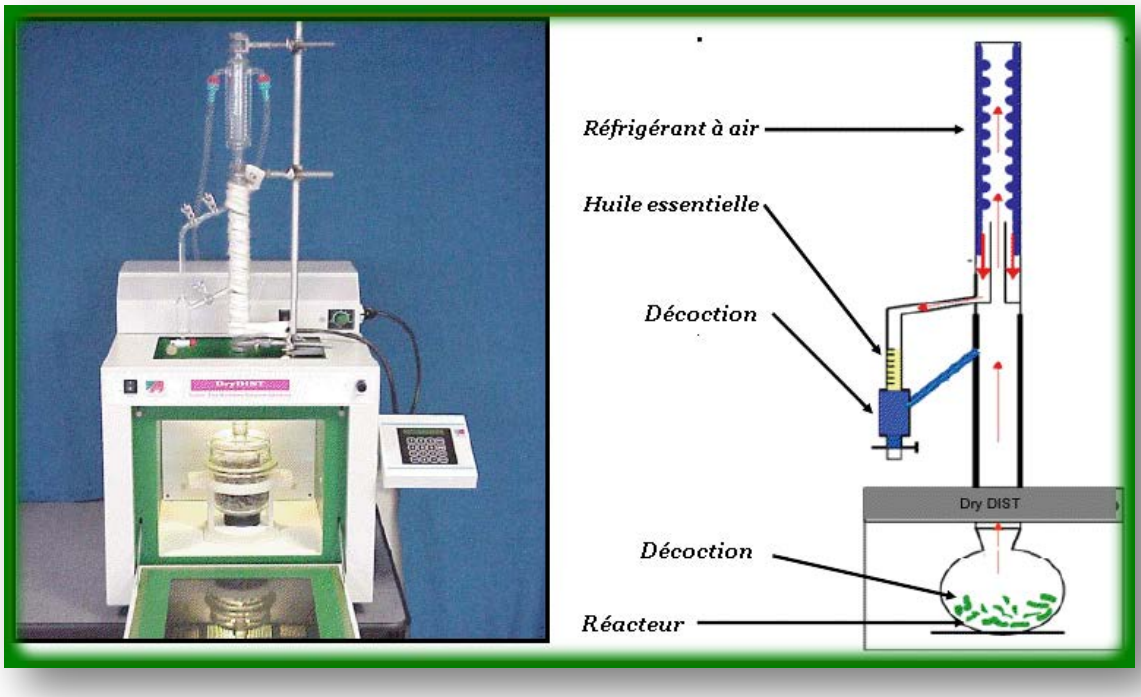


Figure I.12 : Extraction assisté par micro-onde

❖ **Extraction par fluides supercritique**

En 1822, le physicien français Charles Cagnard de la tour (1777-1859) remarque qu'au-dessus des certaines températures et pressions, les substances simples ne se condensent pas et ne s'évapore pas mais existent sous forme de fluide. Au –dessoude ces condition les deux phases gaz et liquide possèdent la même densité et aucune distinction entre les deux phases, c'est l'état critique [43]

Toutes les substances sur terre possèdent trois états : solide, liquide et gaz, alors que l'état supercritique est distinct et qui ne peut être atteint que si la substance est soumise à une température et une pression au –delà de son point critique. Le fluide supercritique ressemble au gaz dans sa propriété de diffusion, viscosité et la tension de surface, et il ressemble au liquide dans sa densité et son pouvoir de solvatation. Ces propriété le rendent convenable pour l'extraction des composés en un temps court avec un rendement élevé [43]. Le dioxyde de

carbone (CO_2) est considéré comme le solvant idéal pour l'extraction supercritique, sa température critique est 31°C qui est proche de la température ambiante, alors que sa pression critique est faible de l'ordre de 74bars (pour l'eau Tc= 374°C, Pc=220atm), ce qui offre la possibilité d'opérer à pression modérées généralement entre 100 et 450bars. L'inconvénient du CO_2 est qu'il a une faible polarité qui le rend idéal pour les lipides, les graisses et les substances non polaires, mais inapproprié pour la plupart des échantillons pharmaceutique (Figure I.13).

Ce problème a pu être surpassé par l'usage de petites quantités de solvants chimiques pour augmenter la polarité du CO_2, par exemple 0.5ml de dichlorométhane (CH_2CL_2) peut augmenter l'extraction qui est égale à quatre heurs d'hydro distillation .certains avantages de cette technique se résument comme suit [44] :

- Cette technique utilise de faibles quantités de solvant organique et par conséquent elle est considérée comme « amie » de l'environnement.
- Elle est utile pour les molécules très volatiles du fait qu'elle peut être couplée aux techniques chromatographique.
- Le recyclage et l'usage à nouveau du fluide supercritique est possible ce qui diminue la génération des déchets

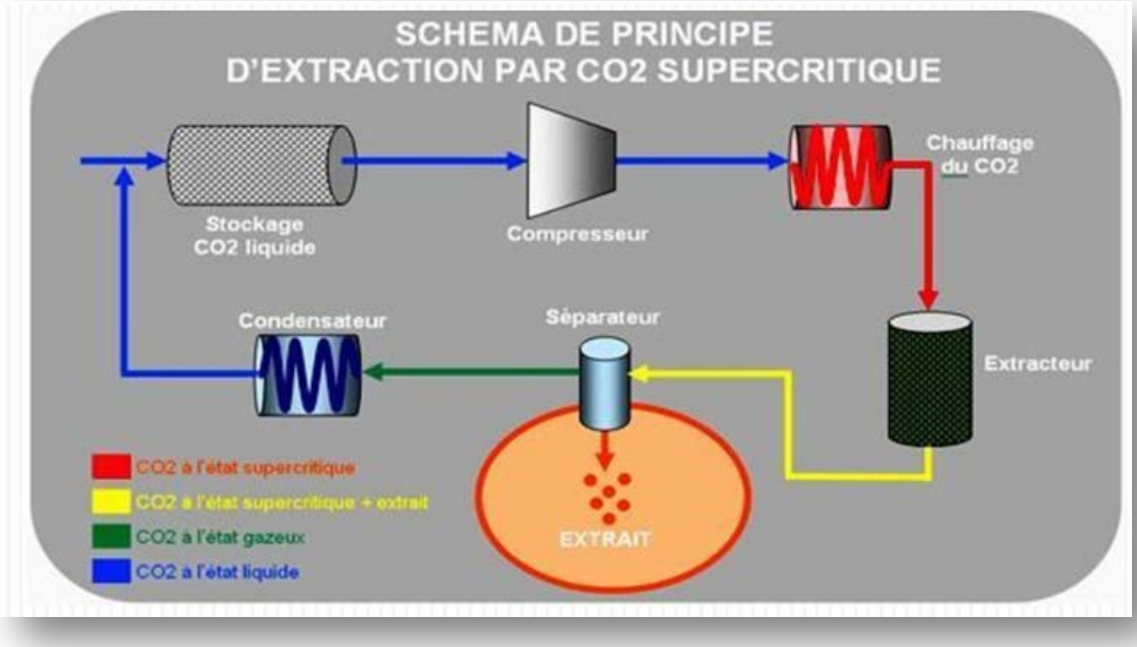


Figure I.13: Extraction par CO_2 supercritique

- **Extraction par eau surchauffée**

L'eau surchauffée ou subcritique est l'eau liquide au-dessus de sa température d'ébullition (100°C) sous pression. Sous ces conditions l'eau liquide est moins polaire qu'à la température ambiante et possède une capacité croissante à dissoudre les composés organiques, ainsi lui donnant un caractère étendu des solvants organique polaire. Le terme eau surchauffée est attribué à l'eau liquide sous pression à température comprise entre 100 et 374°C qui est sa température critique. Pour l'extraction des produits naturels la température ne peut pas être trop élevée à cause de leur thermosensible, alors l'intervalle 100 et 200°C est le plus utilisé. Les propriétés de l'eau changent lorsque sa température augmente, à cause de la rupture des laissons hydrogène et sa constante diélectrique diminue. A température ambiante cette constante est de l'ordre de 80, mais lorsque la température augmente elle chute. à 205°C, la constante diélectrique est égale à 33 comme celle du méthanol à température ambiante. Ainsi, entre 100 et 200°C l'eau surchauffée se comporte comme un mélange eau-méthanol (Figure I.14).

La solubilité des composés organiques dans l'eau surchauffée est supérieure à leur solubilité dans l'eau à température ambiante pour deux raisons : la première est le changement dans la constante diélectrique et l'eau devient moins polaire ; la seconde est lorsqu'un composé possède une faible solubilité à température ambiante aura une grand enthalpie positive de la solution dans l'eau surchauffée sont généralement polarisable, comme les composés aromatique, les huiles essentielles ou ceux possédant un caractère polaire [45].

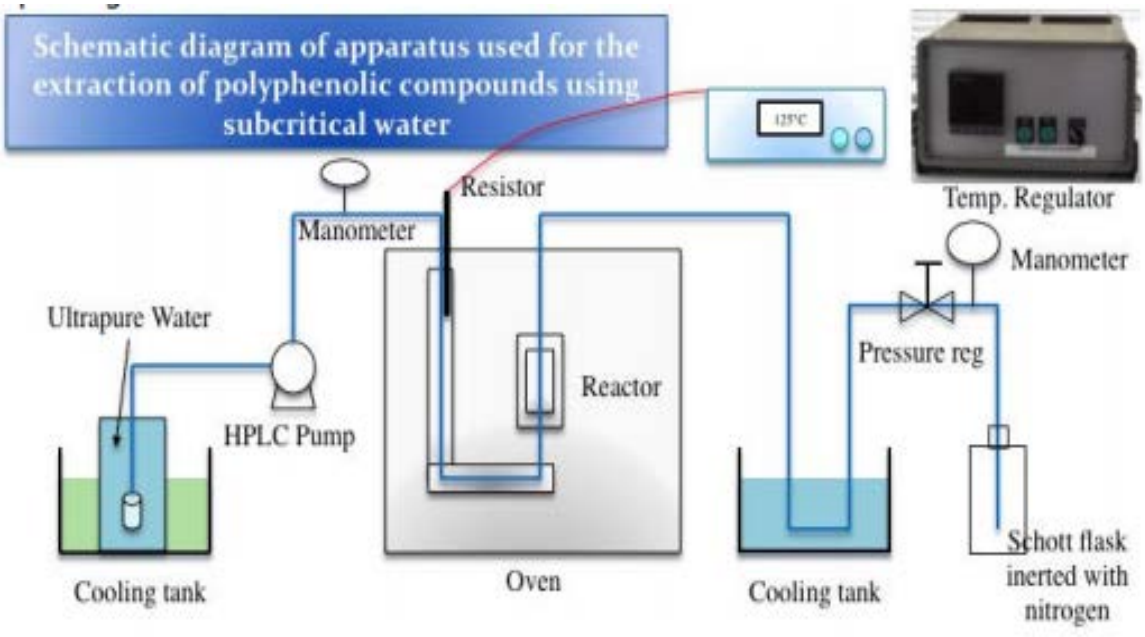


Figure I.14: Extraction par l'eau subcritique

I-6.Caractérisation des plantes médicinales

Il existe plusieurs méthodes de caractérisation des plantes médicinales parmi lesquelles nous citons : l'activité antibactérienne, le dosage des poly phénols, le dosage des flavonoïdes et l'analyse par infrarouge.

I-6-1.Activité antibactérienne

- **Introduction:**

Les microbes sont très répandus dans la nature ; on les rencontre on seulement dans l'organisme, mais dans le milieu qui nous environne, dans l'air, l'eau, le sol …et ils se développent quand ils trouvent certaines favorables d'humidité et de température. [53].Ces micro-organismes furent tout d'abord classés dans le règne végétal .L'organisme humain possède un système complexe de défense qui lui permet de rencontre ou d'héberger ces microbes sans leur permettre d'envahir ses tissu [54]. Cependant, dans certaines conditions, l'infection peut entrainer des maladies infectieuses graves [55]. Les maladie infectieuse causées par les bactéries et les champignons effectuent des maillons de personnes dans le monde entier, et causent de lourdes pertes au niveau économique. Des nombreux programmes ont été conduits pour découvrir et développer de nombreux agents antimicrobiens d'origine biologique [56].

- **Les bactéries :**

Les bactéries sont des organismes vivants unicellulaires et procaryotes présents dans tous les milieux. La plupart des bactéries possèdent une paroi cellulaire glucidique. Les bactéries les plus grosses mesurent plus de 2µm et jusqu'au début du XXle siécle, les spécialistes considéraient que les plus petites mesuraient 0,2µm, mais il existe des « ultramicrobactéries », compris en eau douce [57]

Les bactéries présentant de nombreuses formes : sphérique (coques), allongées ou en bâtonnets (bacilles) des formes plus ou moins spiralées.

Pour distinguer entre les bactéries au microscope optique, une méthode important et largement utilisée en bactériologie, c'est « la coloration de gram ».Elle Consiste a traiter des bactéries fixées à la chaleur, par un colorant basique (violet de gentiane) puis une solution iodo-iodurée (mordançange), toutes les cellules se colorent en violet. soumises ensuite à l'action de l'alcool éthylique elles se répartissent en : cellules qui conservent la coloration violette dites à **gram positif (Figure I.15)** et qui sont décolorées, appelées à **gram négatif** (Figure I.16). Pour mieux distinguer ces deux catégories, le frottis bactérien est finalement traité par de la fuchsine basique, les bactéries à gram négatif sont roses et celles à gram positif restent violettes [58].

Après leur réaction avec les différents colorants utilisés par cette méthode, les bactéries se divisent en deux groupes majeurs : bactéries à gram positif (colorées en violet), bactéries à gram négatif (colorées en rose). Cette distinction de réponse à la coloration de gram est due à la différence qui existe dans la composition des parois bactériennes, celles des bactéries à gram négatif laissent passer la solution alcoolique, tandis que celles des bactéries à gram positif représentent une véritable barrière que la solution alcoolique ne peut franchir [58,59]



Figure I.15: Bactérie à gram positif



Figure I.16: Bactérie à gram négatif

- **<u>Les bactéries utilisées</u>**
- **Bactéries à gram negatif**

a. Escherichia coli (E. coli)

Escherichia coli (E. coli) est une bactérie naturellement présente dans notre tube digestif**,** le plus souvent sans provoquer aucune maladie. C'est une bactérie dite "commensale" : normalement présente dans la flore intestinale, elle nous protège même contre certaines infections. Si la majorité des souches de E. coli sont inoffensives, certaines ont acquis des facteurs de virulence qui les rendent pathogènes**.** Son nom a été donné en hommage aux travaux du médecin allemand Theodor Von Escherich, qui a mis en évidence la bactérie en 1885 et de "colum" qui signifie côlon en latin [60].

b. Pseudomonas aeruginosa

Le genre ***Pseudomonas***, de la famille des *Pseudomonadaceae*, regroupe des bactéries mobiles aérobies Gram négatif, de 2 à 4 µm de longueur, en forme de bâtonnets renflés, avec un flagelle polaire qui joue un rôle important dans la pathogénicité. Ces bactéries sont asporulées et peuvent produire des pigments, tels que la pyocyanine (vert-bleu) et la

pyorubrine (jaune-vert) fluorescentes. ***P. aeruginosa*** peut sécréter un vaste éventail de toxines extracellulaires, notamment l'exotoxine A et des entérotoxines. D'autres substances comme l'acide hydrocyanique, des enzymes protéolytiques, des biofilms et des substances hémolytiques peuvent également contribuer à la pathogénicité de cette espèce. La combinaison de toxines et de substances dangereuses est un facteur qui joue un rôle déterminant dans la forte virulence de P. aeruginosa dans différents hôtes [60].

- **Bactéries à gram positif**

a) Staphylococcus aureus

Les staphylococcus sont des bactéries sphériques, qui se divisent sir plusieurs plans pour former des amas réguliers ou irréguliers en grappe de raisin, d'où leur nom (en grec staphlos), ils sont immobiles et cultivent sur des milieux content 5% de Na Cl et pour certains jusqu'à 10 et même 15%.Ils sont aérobies ou anaérobies facultatifs.

Les staphylococcus est responsable d'intoxications alimentaires, d'infections localisées suppurées et, dans certains cas extrêmes, de septicémies physiques (greffe, prothèses cardiaques).Staphylococcus aureus se présente comme une coque en amas (grappe de raisin), gram positif et catalase positif. Sa teneur en caroténoïdes lui confère une couleur dorée à l'origine de son nom [57].

b) Streptocoques

Les streptocoques sont des microorganismes à l'origine de nombreux troubles comme la pharyngite, ou certaines infections pulmonaires ou cutanées. Les symptômes sont variables selon l'organe concerné.

On distingue 3 types de streptocoques (Figure I.17) selon leurs caractéristiques en culture et leur composition chimique :

- Les streptocoques β hémolytiques caractérisées par des halos clairs autour de chaque colonie ;
- Les streptocoques α hémolytiques entourés d'une zone colorée en verte ;
- Les streptocoques γ hémolytiques.



Figure I.17: streptocoques

I-6-2.Les polyphénols

- **Définition**

Les polyphénols sont des antioxydants très répondus dans le règne végétal, leur structure de base est constituée d'un noyau benzénique lié à une ou plusieurs fonctions hydroxyles libres (Figure I.18), ils possèdent plusieurs fonctions biologiques telles que la protection contre le stress oxydatif et les maladies dégénératives. Les polyphénols sont très nombreux, plus de 8000 structures identifiées, ils sont classés selon la complexité du squelette de base, le degré de modifications de ce squelette et les liaisons avec d'autres molécules. Suite à cette différence de structure, les polyphénols sont classés en quatre groupes voir les acides phénoliques, flavonoïdes, tannins et lignines [61,62].

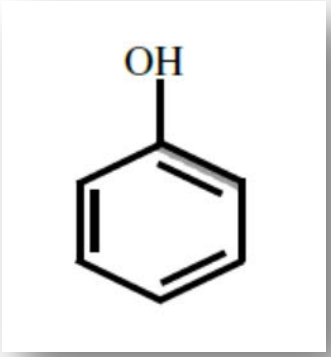


Figure I.18: Structure du noyau phénol.

I-6-3.Les flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent le principal groupe de polyphénols, avec plus de 9000 composés différents et distribués de manière générale, dans toutes les plantes vasculaires. Leur

squelette chimique commun possède 15 atomes de carbones, constitué de deux noyaux benzéniques A et B reliés par un cycle puranique central C (Figure I.19).Ils diffèrent les uns des autres par la position des substitutions sur les noyaux A et B, et la nature de C.

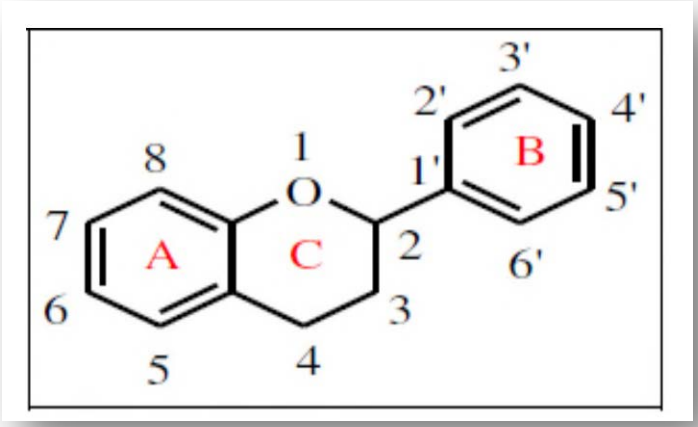


Figure I.19: Squelette de base des flavonoïdes.

Il existe plusieurs classes de flavonoïdes, dont les principales sont les flavonols, les flavones, les flavanols, les isoflavones, les flavanones, et les anthocyanes. Ils sont localisés dans divers organe : fleurs, fruits, feuilles, tiges et racines. La couleur des fruits, des fleurs et des feuilles est une caractéristique des flavonoïdes [63].

I-6-4. Spectroscopie Infrarouge

- **Définition:**

La spectroscopie IR est une technique d'analyse permettant de déterminer la nature des liaisons chimiques présentes dans un échantillon et d'en caractériser les groupements moléculaires afin d'obtenir de nombreuses informations sur la conformation et les éventuelles interactions.

- **Principe de l'infrarouge :**

La plupart des substances chimiques, lorsqu'elles sont soumises à un rayonnement infrarouge absorbent de manière sélective certaines longueurs d'onde du spectre. L'absorption est caractéristique des liaisons chimiques qui constituent le composé. Cette méthode d'analyse structurale révèle la nature des liaisons entre atomes dans une molécule et correspond à des changements énergétiques affectant essentiellement les états de vibration des liaisons entre atomes.

Le résultat d'une analyse se traduit par un spectre infrarouge qui se compose de plusieurs bandes d'absorption. Dans l'infrarouge moyen (4000- 450 cm^{-1}), elles correspondent aux

différents modes fondamentaux de vibrations de la molécule auxquelles s'ajoutent certaines harmoniques (absorption au nombre d'onde multiple du mode normal) et combinaisons (somme ou différence des fréquences fondamentales). Parmi les modes de vibration des molécules, il y a les vibrations d'élongation et les vibrations de déformation. L'attribution de toutes les bandes n'est pas facile. Toutefois, l'identification de certaines d'entre-elles permet de reconstituer la structure de l'échantillon [64, 65].

- **Appareillage:**

Il existe deux sortes de spectromètre IR : le spectromètre à balayage et le spectromètre à transformée de Fourier [66].

- Un spectromètre IR à balayage s'agit du modèle le plus classique, semblable aux spectrophotomètres utilisés en spectroscopie UV-visible.
- Un spectromètre IR à transformée de Fourier (IRTF) est identique à un spectromètre à balayage le système dispersif est remplacé par un interféromètre (de Michelon)

dont la position est ajustée par laser. Il est composé des éléments suivants :

- Source
- Échantillon ·
- Système dispersif ·
- Détecteur

- **Domaines d'application:**

La spectroscopie infrarouge est très répandue dans la recherche académique et dans l'industrie en tant que technique simple et sûre, de contrôle de qualité et de mesure dynamique. Elle est, par exemple, utilisée en [64] :

- Médecine légale : identification des composés.
- Industrie de la micro-électronique : pour la caractérisation des matériaux et/ou quantification du stress subi lors de leur fonctionnement.
- Environnement : pour la caractérisation de polluants ou de contaminants.
- Pharmacie : pour la caractérisation des composés et notamment la répartition du principe actif.
- Géologie : pour l'analyse de minéraux par micro-spectrométrie infrarouge
- Agroalimentaire : pour l'identification de contaminants (champignons, bactéries, ..)

Chapitre II

Matériel et méthodes

/

II- Matériel et méthodes

II-1.But de l'étude

Ce travail de recherche a été réalisé au laboratoire de biologie de l'université de Médéa. Son objectif est l'étude de quelques propriétés chimiques et biologiques d'extraits de plantes *« Graviola, Ephédra alata, Ajuga Iva et l'Ortie)* et d'effectuer une comparaison entre leurs effets antibactériens et antioxydants

Notre travail a consisté, dans un premier temps, à l'extraction des constituants des plantes: par macération et décoction; ensuite à effectuer leurs analyses par différentes méthodes de caractérisation. Une partie de cette caractérisation a été réalisée au laboratoire de microbiologie au dispensaire.

II-2.Le matériel végétal

Les différentes plantes ont été achetées à Alger

L'éphédra et le Graviola sont choisis dans cette étude essentiellement pour leurs effets anticancer,

Ajuga Iva et l'ortie sontt également utilisées pour leurs effets thérapeutiques essentiellement antidiabète vu leus caractéristiques antioxydantes.

II-3. Matériel et produits utilisés: Le matériel et produits utilisés pour nos experiences sont presentés sur le tableau II.1

Tableau II.1: Matériel et produits utilisés

Matériel	Produits
- Bécher - Erlenmeyer - Balance - Agitateur magnétique - Etuve - Rotavapeur - Burette - Paro magnétique - Tubes - Spectrophotomètre IR - Papier filtre - Boites à pétrie - Tubes à essais - Entonnoir - Pipette graduée - Appareil UV-Visible - Ecoviant	- Ethanol, - Acide gallique - Souches bactériennes - Bromure de potassium (KBr) - Réactif de Folin - Carbonate de sodium - Milieu de culture: la gélose Muller-hinton (M-H) - Eau distillé

II-4. Procédés d'extraction

L'extraction par solvant est réalisée selon le travail d'Aswan et al **[7]** par macération à l'éthanol et décoction, avec quelques modifications, comme suit:

a- Extraction par macération à l'éthanol

On fait broyer 20 g de plante (*Graviola, Ephédra alata, Ajuga Iva et l'Ortie*). On Introduit la poudre obtenue dans 100 ml d'éthanol, à température ambiante pendant 24h sous agitation magnétique. Après filtration, on garde le filtrat et on ajoute 100ml d'éthanol au résidu sous agitation magnétique pendant 24 h.

Ensuite, On rassemble les deux filtrats et on fait concentrer le mélange en évaporant le solvant à l'aide du rotavapeur à température comprise entre 40 à 45 °C (Figure II.1).

Enfin, on fait sécher l'extrait obtenu à l'étuve à 40°C et on pèse l'extrait sec (Figure II.2) pour déterminer le rendement.

b- Extraction par décoction :

On prend 20g de la poudre végétale on leur ajoute 200 ml d'eau bouillante, on laisse le mélange 20 min sous agitation magnétique à 60 °C. La température de chauffage ne doit pas atteindre l'ébullition pour éviter la perte les huiles essentielles de la plante qui sont volatiles, Puis on fait filtrer et après filtration on fait concentrer le filtrat avec le rotavapeur (Tp 65°C à 68 °C), puis on fait sécher l'extrait aqueux obtenu à l'étuve à 40°C. La température de séchage ne doit pas dépasser 45 °C pour éviter la dégradation des constituants de la plante.

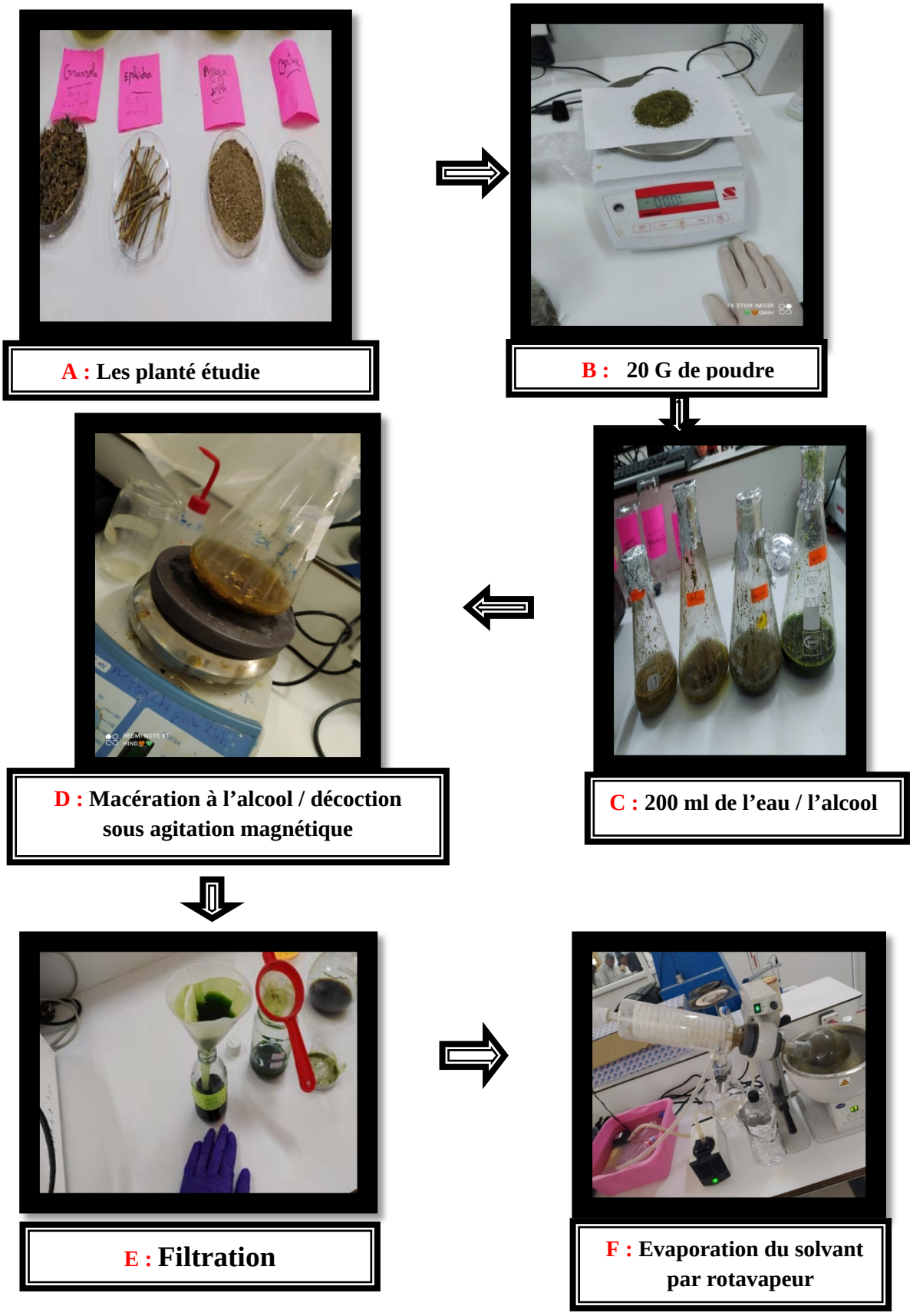


Figure II.1 : Etapes photographiques de l'extraction par décoction et par macération réalisée au laboratoire de biologie de la faculté des sciences de l'université de Médéa



H : L'extrait sec



G : Séchage de l'extait à l'etuve

Figure II.2 : Obtention de l'extrait sec après séchage à l'étuve

II-5. Caractérisation

II-5-1. Détermination du rendement d'extraction

Le rendement, est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenue par macération ou décoction (Me) et la masse de la matière végétale utilisée (Mv). Il est donné par la formule suivante:

$$R\% = (Me / Mv) * 100$$

R%: Rendement en %.

Me : Masse l'extrait sec

Mv : Masse de la matière végétale utilisée pour l'extraction.

II-5-2. Analyse infrarouge à transformée de Fourier FTIR

Les spectres infrarouges ont été obtenus grâce à un spectrophotomètre FTIR- 8400 de marque SHIMADZU , à partir de pastilles de KBr anhydre renfermant environ 1 % en masse de poudres d'échantillons constituées de poudre de *Graviola, Ephédra alata, Ajuga Iva et l'Ortie.*

Dans un premier temps on effectue la préparation de l'échantillon en pastille. L'échantillon en poudre est incorporé à un support qui n'absorbe pas dans l'IR moyen, C'est le bromure de potassium KBr.

Un mélange homogène à l'état 1% de poudre / poudre KBr est préparé puis déposé dans un moule qui est soumis à une très forte pression dans une presse hydraulique. Il est ensuite extrait du moule sous forme d'une pastille.

La pastille est placée dans le compartiment de mesure du spectre. Le signal enregistré par le détecteur donne le spectre IR de l'échantillon.

II-6. Activité antibactérienne

- **Mode Opératoire:**
- **Prépartion de la dilution :**

- On pese 1g de l'extrait de chaque plante et on met dans un tube de 100ml (solution mére)
- On prépare une série de 4 tubes à vis contenants chacun 9ml d'eau physiologique stérile
- A partir de la solution mére, introduire aseptiquement 1ml à l'aide d'une pipette stérile dans le tube 1 contenant 9ml d'eau physiologique stérile (il s'agit de la dilution 10^{-1}).
- On agite doucement le tube par des mouvements de rotation
- On refait la même opération en partant cette fois-ci de la dilution 10^{-1} du tube 1 et en prélevant 1ml avec une autre pipette stérile et l'introduire dans le tube 2 pour avoir la dilution 10^{-2}
- On Procéde de la même manière pour les autres tubes jusqu'à la dilution 10^{-3}

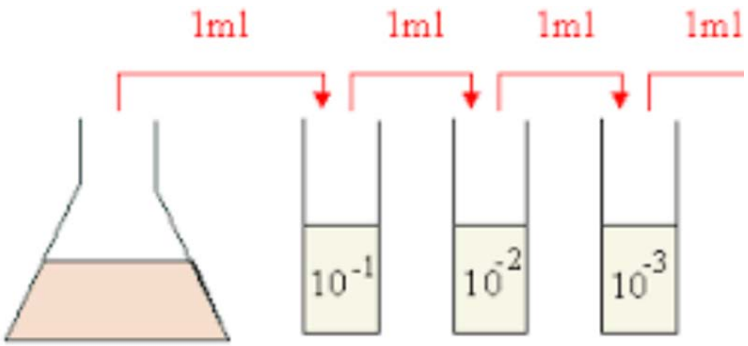


Figure II.3: Schéma récapitulatif de la préparation des dilutions des extraits.

- **Prépation des précultures :**

La méthode de diffusion sur le milieu gélosé à été realisée sur Muller-hinton (M-H).

- On fait fondre le milieu dans un bain marie à 95°C, puis le verser dans des boites à pétris.
- On prépare une suspension bactérienne dans l'eau physiologique en prélevant à l'aide d'une anse stérile, une petite quantité de la colonie microbienne, puis on l'imerge dans le tube contenant l'eau physiologie. On laisse le melange dans l'etuve à 37°C pendant 15 mn (4 tubes correspondant aux 4 souches utilisées ont été préparés)
- Après refroidissement des boites à pétris à température ambiante, on étale le contenu du tube à la surface du milieu culture.

  On imbibe les disques dans les solutions de dilution (SM, 10^{-1}, 10^{-2},10^{-3}) et on les dépose à la surface de la boite à pétri. (Figure II.4)
- Incubation à 37°c pendant 24h (Figure II.5).
- Mesure du diamétre de zone d'inhibition

Les diamétres des zones d'inhibition (D) de la croissance microbienne sont classés en 5 catégories :

- Très fortement inhibitrice : $D \geq 30$ mm.
- Frotement inhibitrice : $21mm \leq D \leq 29mm$
- Modérément inhibitrice : $16mm \leq D \leq 20mm$
- Légerement inhibtrice : $11\ mm \leq D \leq 16mm$
- Non inhibtrice : $D < 10mm$

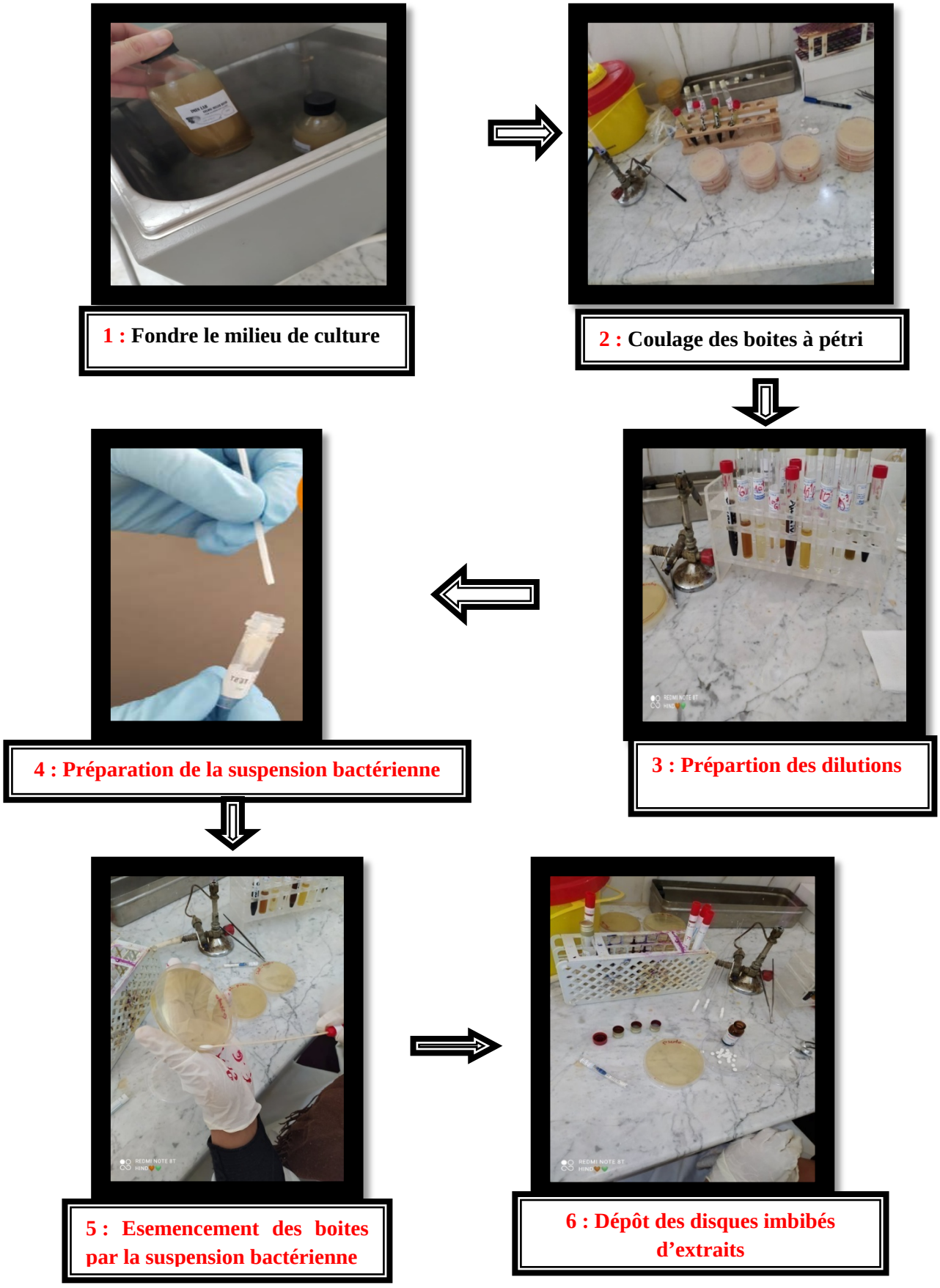


Figure II.4: Différentes étapes de la mesure de l'activité antibactérienne

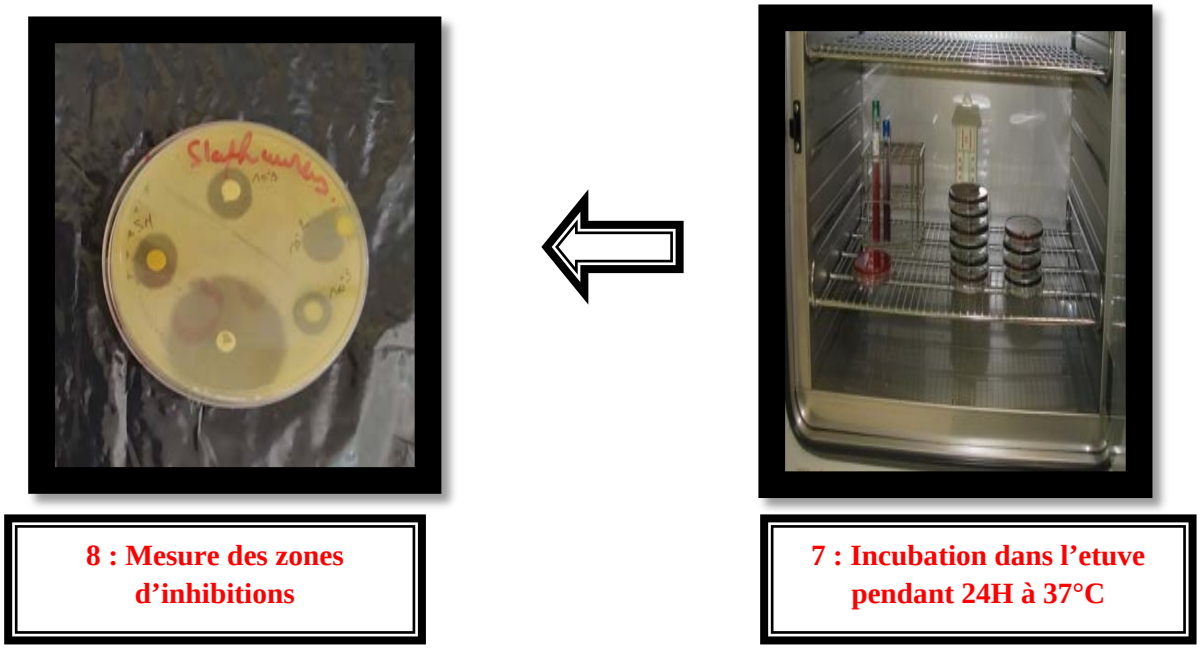


Figure II.5: Incubation dans l'étuve et mesure des zones d'inhibition

II- 7.Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux dans les différents extraits est réalisé par la méthode de Folin-Ciocalteu [63].

- ***Principe***

Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune, constitué de polyheterocycles acides contenant un mélange d'acide phosphotungstique (H3PW12O40) et phosphomolybdique (H3PMo12O40), il est réduit par les phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W8O23) et de molybdène (Mo8O23). Cette coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle aux taux de composés phénoliques présents dans le milieu donne un maximum d'absorption à 750 nm.

- **Mode opératoire :**

On dissout 1g d'extrait sec dans 100ml d'eau ou d'éthanol. On prend 0.3ml de cette solution mère à laquelle on ajoute 1.5ml de réactif de Folin-Ciocalteu à 10% (V/V) et 0.2 ml de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 7.5%. (m/V) (Figure II.6)

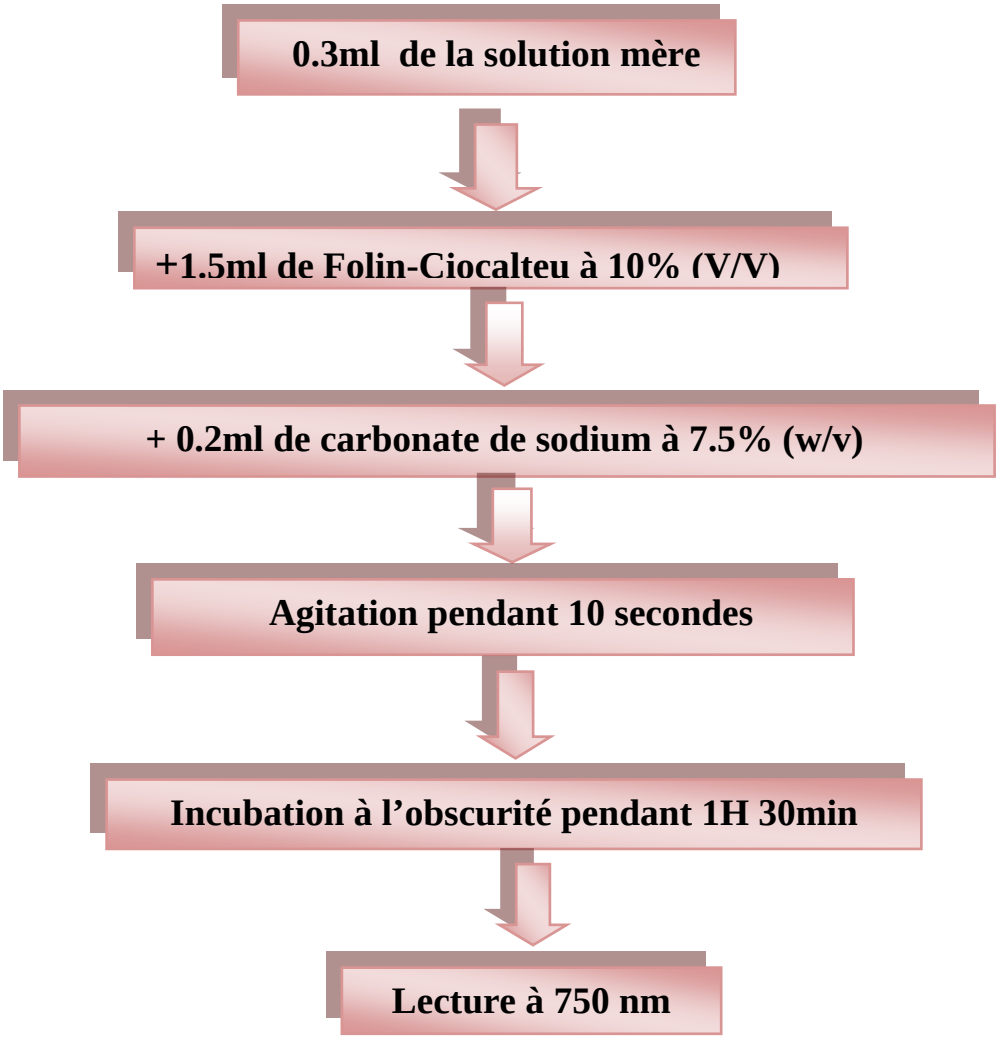


Figure II.6: Dosage des phénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu

Les concentrations des polyphénols contenus dans nos extraits sont calculées en se référant à la droite d'étalonnage obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard à différentes concentrations dans les mêmes conditions que les échantillons. La lecture des absorbances est effectuée en utilisant un spectromètre Uv-visible (Figure II.7). Les résultats sont exprimés en mg équivalent en acide gallique/ g de matière sèche.

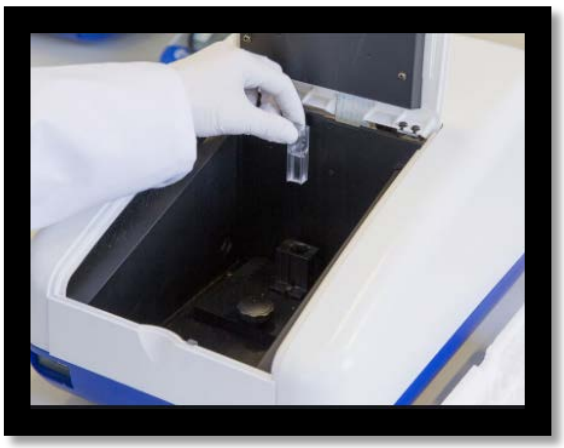


Figure II.7: Spectrophotomètre UV-Visible

Chapitre III

Résultats et interprétations

CHAPITRE III : RESULTATS ET INTERPRETATIONS

Différents paramètres peuvent influencer l'extraction : la température, la pression, la durée, le pH ainsi que le type de solvant. Le solvant joue un rôle primordial dans le processus d'extraction étant donné que la solubilité est le paramètre le plus important [7].

Le changement du solvant a un impact direct sur la composition en métabolites de l'extrait obtenu. Aucun type d'extraction ne permet d'obtenir tous les métabolites d'une plante. Type de métabolites : Phénols, flavonoïdes, terpènes, coumarines et alcaloïdes [9].

III-1. RENDEMENT DE L'EXTRACTION

Le rendement de l'extraction varie en fonction de l'espèce végétale, l'organe utilisé dans l'extraction, les conditions de séchage, le contenu de chaque espèce en métabolites et de la nature du solvant utilisé dans l'extraction ainsi que de sa polarité. Les rendements enregistrés avec les différents extraits varient entre 5,8 et 10,5 % (Tableau III-1).

Tableau III-1.Résultats des rendements d'extraction

Expériences	Solvant d'extraction	Volume du solvant d'extraction (en ml)	Matière végétale	Masse de la matière végétale (en g)	Masse de l'extrait (en g)	Rendement en %
1	Ethanol	200	*Graviola*	10	0.84	8.4
2	Ethanol	200	*Ephedra alata*	10	0.83	8.3
3	Ethanol	200	*Ajuga Iva*	10	0.78	7.8
4	Ethanol	200	*Ortie*	10	0.67	6.7
5	Ethanol	200	*Graviola*	20	1.24	6.2
6	Ethanol	200	*Ephedra alata*	20	1.46	7.3
7	Ethanol	200	*Ajuga Iva*	20	1.16	5.8
8	Ethanol	200	*Ortie*	20	2.1	10.5
9	**Eau**	200	*Graviola*	20	1.61	8.1
10	**Eau**	200	*Ephedra alata*	20	2.04	10.2
11	**Eau**	200	*Ajuga Iva*	20	2.07	10.35
12	**Eau**	200	*Ortie*	20	1.86	9.3

Le rendement d'extraction dépend du mode d'extraction ainsi que la nature de la plante étudiée.

La figure II.1 montre l'influence de la méthode d'extraction sur le rendement. D'après ces valeurs, il apparait clairement que l'extraction par décoction donne des valeurs de rendements plus importants que la macération sauf pour *l'ortie*. Ce résultat est en accord avec le travail de Ben salem et Hadji [67] sur l'éphedra et le gingembre.

Le travail de Achour et Keddar sur le gingembre [9] a donné un rendement de 33 % pour la décoction et 14% pour la macération. LEHOUT et LAIB [68] ont trouvé un rendement de 13.3 % par macération avec un mélange méthanol/eau (70/30) (v/v) et 21% par décoction.

Le rendement d'extraction est influencé par la nature et la polarité du solvant d'extraction [68]. L'eau est plus polaire que l'éthanol, ce qui permet d'extraire plus de composes polaire avec l'eau en comparaison à l'éthanol.

En utilisant une quantité de 10g et pour le même volume d'extraction (Figure III.2), les valeurs des rendements d'extraction sont plus importants en comparaison aux valeurs obtenus avec 20g sauf pour *l'ortie.* Ce volume d'extraction est insufisant pour cette quantité de plante

On a donc a priori intérêt à utiliser un maximum de solvant d'extraction pour augmenter le rendement afin de recueillir la quantité maximale d'extrait contenant plus de principes actifs, mais Il est inutile de prendre une quantité trop élevée de solvant d'extraction, pour plusieurs raisons:

- coût du solvant lorsque ce n'est pas l'eau ;
- nécessité de l'éliminer par la suite pour récupérer l'extrait ;

On a toujours intérêt à extraire plusieurs fois avec un petit volume qu'une fois avec un grand volume mais pour une quantité de plante convenable à ce volume de solvant.

Le choix d'un solvant pour l'extraction de la matière végétale, doit répondre à un certains nombres de critères dont la faible toxicité et la facilité de l'évaporation à basse température. Le méthanol est recommandé, et est fréquemment employé pour l'extraction des composés phénoliques. L'extraction par un mélange de solvants peut conduire à des extraits de bonne qualité riches en antioxydants : le méthanol/ eau est deux fois plus efficace que le méthanol pur pour l'extraction des composés phénoliques [69].

Les solvants de polarité faible sont de bons solvants pour l'extraction des composés actifs biologiques non polaires [69].

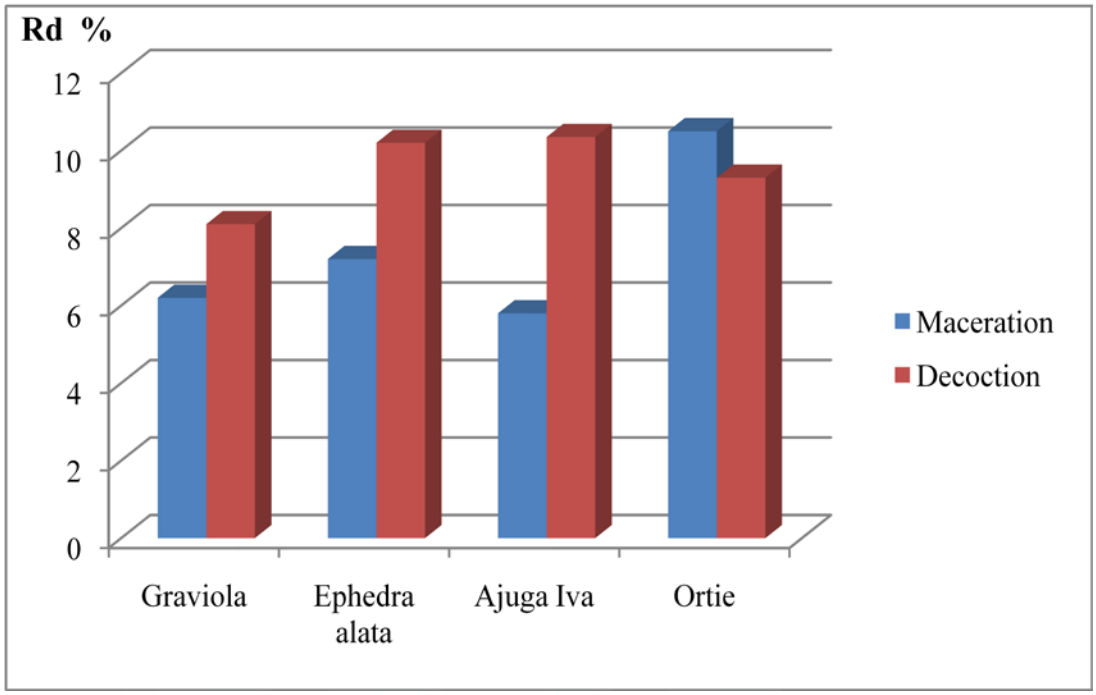


Figure III.1 : Valeurs des rendements d'extraction en fonction de la méthode d'extration

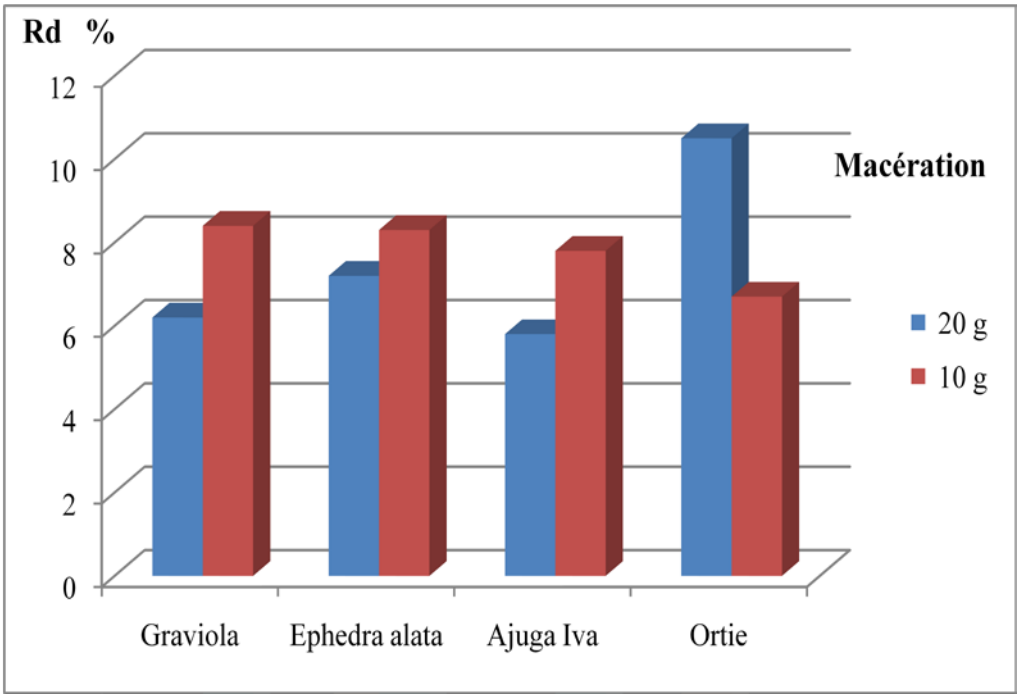


Figure III.2 : Valeurs des rendements d'extraction par macération en
en fonction de la masse des différentes plantes

III-2.Dosage des polyphénols totaux

Les concentrations des polyphénols totaux contenus dans les extraits sont calculées en se référant à la droite d'étalonnage (y= ax+b) obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard à différentes concentrations dans les mêmes conditions que les échantillons.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent en acide gallique/ g de matière sèche en appliquant la formule suivante :

(C= (c x V) / m) [70]

C : La teneur en phénols totaux (mg d'acide gallique/ g de matière sèche).

c : La concentration de l'acide gallique établie à partir de la droite d'étalonnage (mg/ml).

V : Volume de l'extrait méthanolique ou aqueux (ml)

m : Le poids de la matière sèche (g).

Pour nos expériences 1g d'extrait est dissout dans 100ml d'eau pour les extraits obtenus par décoction et d'éthanol pour les extraits obtenus par macération à l'éthanol.

(Le blanc est représenté par l'éthanol ou eau additionné du Folin-Ciocalteu et de carbonate de sodium).

- **Courbe d'étalonnage de l'acide gallique**

On a fait dissoudre 0.01g d'acide gallique dans 10ml d'éthanol (solution mère d'acide gallique 1g/l). A partir de cette solution on a préparé les étalons suivants (Le blanc est représenté par l'éthanol) :

Solution mère d'acide gallique (en ml)	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.6
Volume d'éthanol ajouté (en ml)	0	0.9	0.8	0.7	0.6	0.4
Absorbance à 750nm	**0**	**0.009**	**0.027**	**0.044**	**0.05**	**0.076**
Concentration (mg/ml)	**0**	**0.1**	**0.2**	**0.3**	**0.4**	**0.6**

La détermination de la teneur en polyphénols totaux des différents extraits a été réalisée selon la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. La droite montre une linéarité de l'absorbance en fonction des concentrations. Les quantités des polyphénols correspondantes de chaque extrait ont été rapportées en équivalent gramme d'acide gallique par gramme de matière sèche et déterminé par l'équation de type: A = 0,129 C sachant que R^2 = 0,987 (Figure III..3)

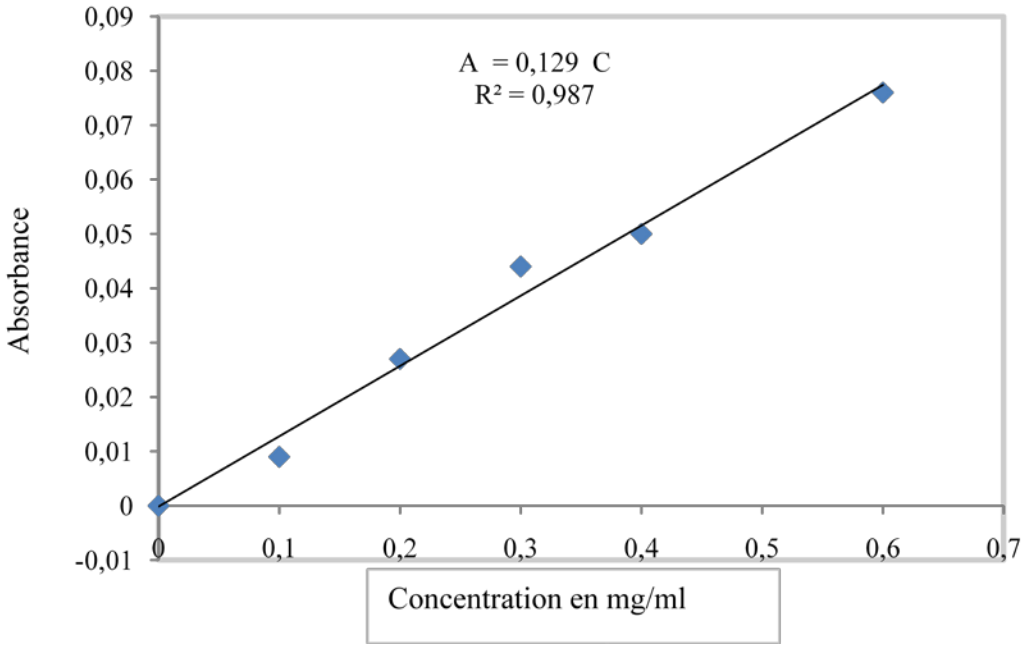


Figure III. 3 : Courbe d'étallonage de l'acide gallique

Tableau III.2. Teneurs en polyphénols totaux

Extrait	Concentration en polyphenols (mg EAG/g MS) Extrait aqueux	Concentration en polyphenols (mg EAG/g MS) Extrait éthanolique
Ajuga iva	489.1	235.6
Graviola	571.3	199.22
Ephédra	537,9	642.6
Ortie	412.4	210

(EAG/g MS :mg équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche)

Daprès les résultats du tableau III.2, il apparait clairement que les extraits aqueux contiennent plus de polyphénols que les extraits éthanolique. Le graviola et l'éphedra en contiennent plus que les deux autres plantes. Cela explique leurs utilisations par les individues pour le traitement du cancer. Une plante riche en antioxydant (polyphenols, flavonoides et alcaloides) possède un effet plus efficace sur les maladies dangereuses. Malheureusement nous n'avons pas pu trouver les réactifs necessaires pour l'analyse des alcaloides et des flavonoides.

Les résultats du tableau III.2 sont présentés sur la figure III.4 qui illustre d'une manière plus claire la teneur des quatres plantes en polyphénols.

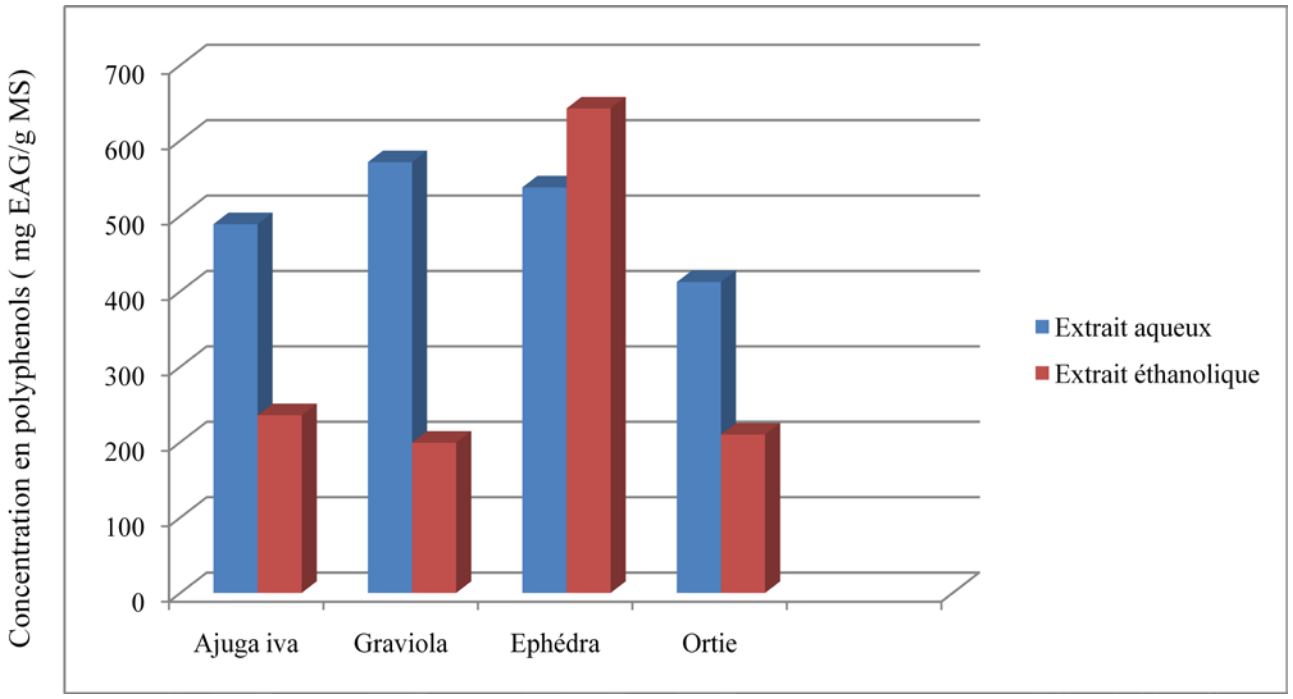


Figure III. 4: Teneurs en polyphénols

Cette variation est liée à la nature de chaque plante et au taux de polyphénols contenu dans cette plante.

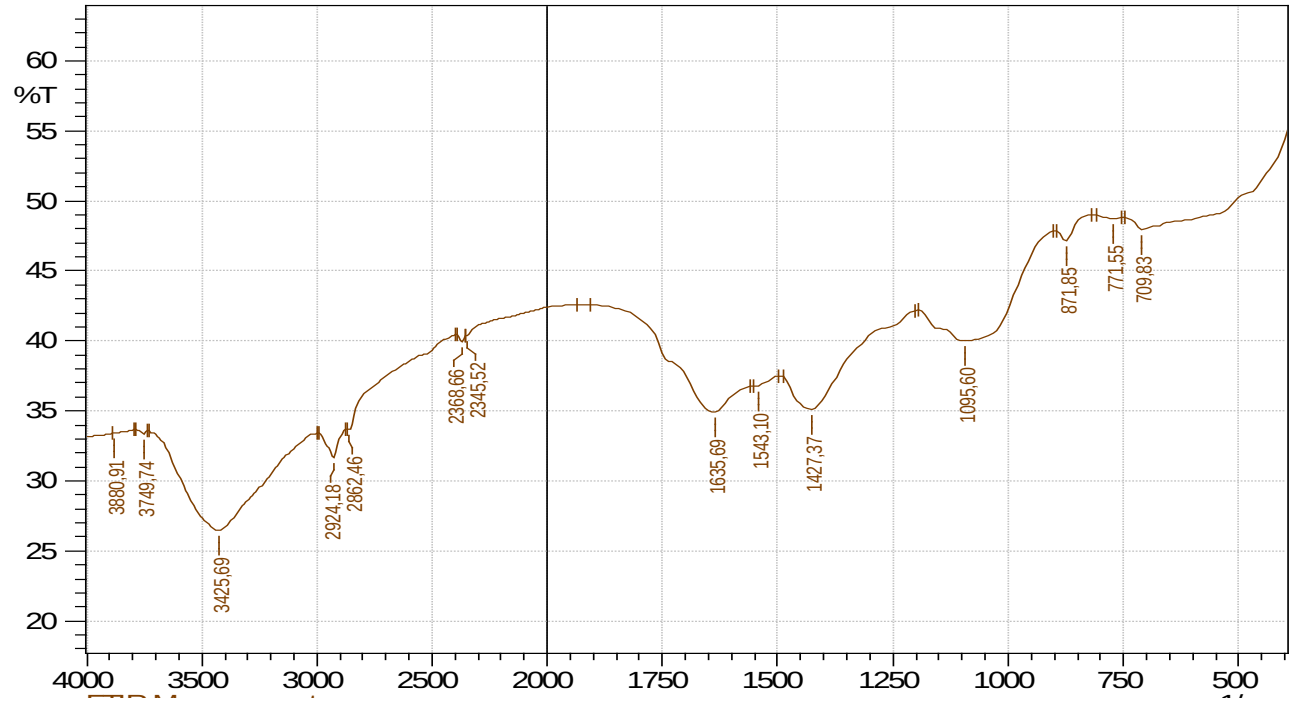
L'extraction par décoction a permi d'extraire une quantité plus importante en polyphénols que la macération, cela est peu être dû à la température d'extraction utilisée pour la décoction (65°C) ; alors que pour la macération nous n'avons pas utilisé une température élevée pour éviter l'évaporation de l'éthanol dont la température d'ébulition est de 40°C.

III-3. ANALYSE INFRAROUGE

Les spectres infrarouges ont été obtenus grâce à un spectrophotomètre FTIR de marque Shimadzu 8400, sur des pastilles de KBr anhydre renfermant environ 1 % en masse de poudre de différentes plantes.

Les spectres FTIR correspondants aux poudres des quatres plantes avant extraction sont représentés sur la figure suivante.

1) Ortie



2) Graviola

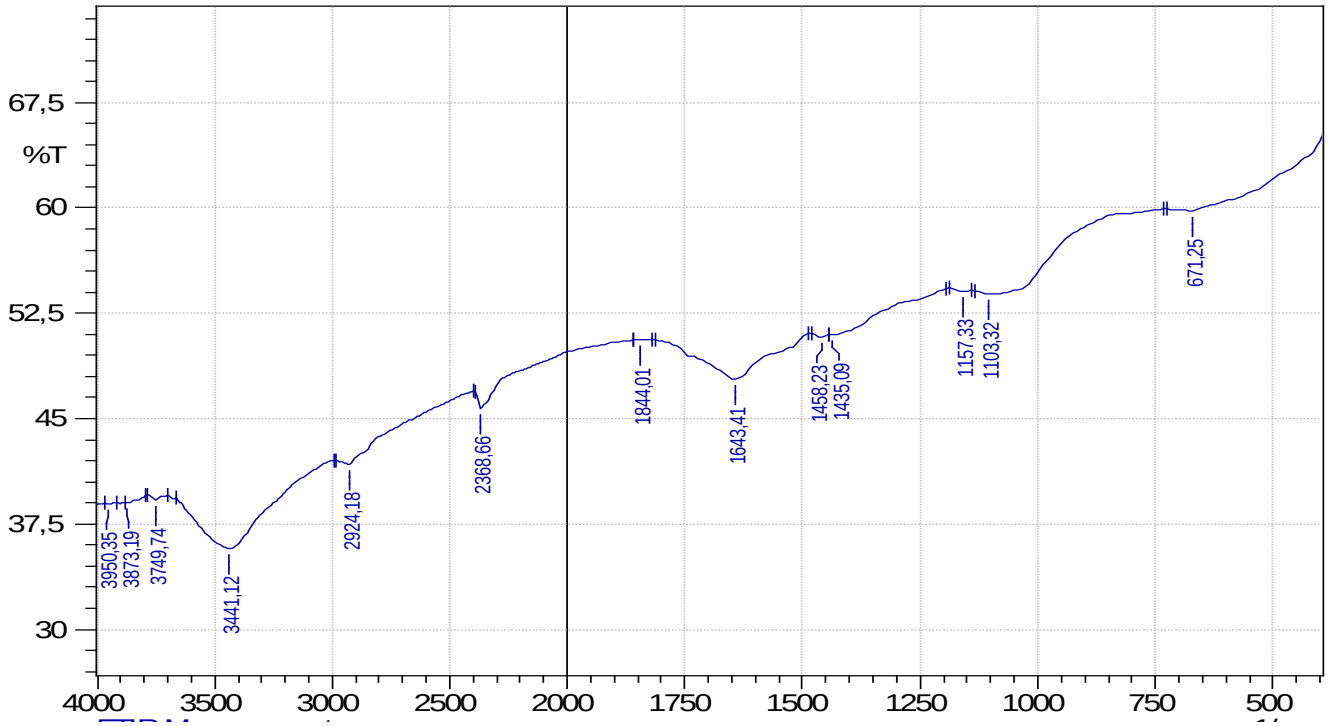
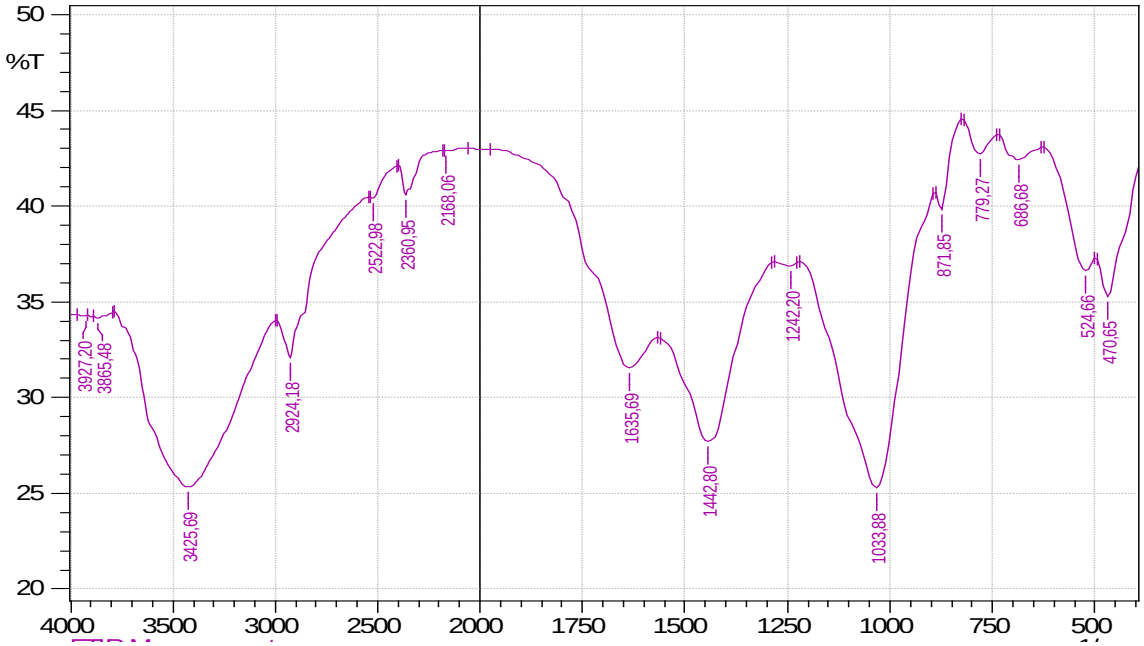


Figure III.5 : Spectres Infrarouge des plantes (avant extraction)

1- Ortie 2- Graviola

3) *Ajuga Iva*



4) *Ephédra*

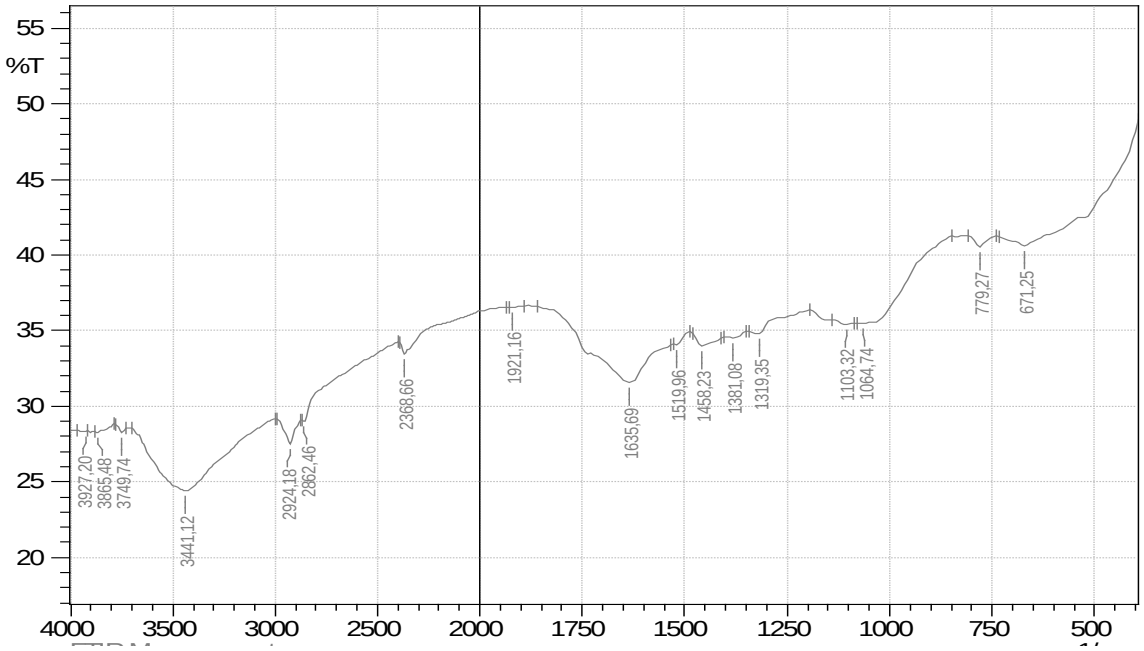


Figure III.6 : Spectres Infrarouge des plantes (avant extraction)

3- Ajuga iva 4- Ephedra

L'objectif de la spectrométrie infrarouge est l'identification des fonctions chimiques présentes dans un produit. Le principe de cette méthode se base sur les liaisons, entre les atomes composant une molécule et qui possèdent des fréquences de vibration propre. Ces

liaisons absorbent les rayons électromagnétiques d'énergie correspondante. Ainsi, la molécule absorbe les rayonnements infrarouges différemment à diverses fréquences, chacune est caractéristique d'une fonction chimique.

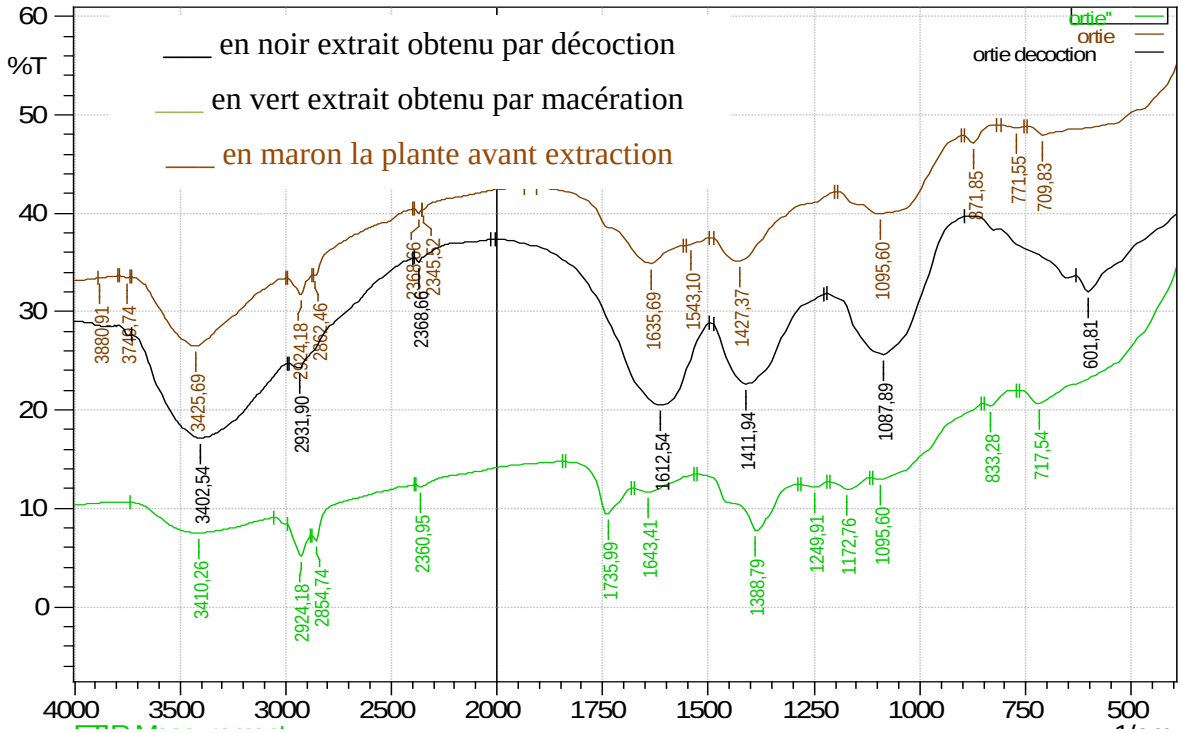


Figure III.7 Spectres IR de l'ortie

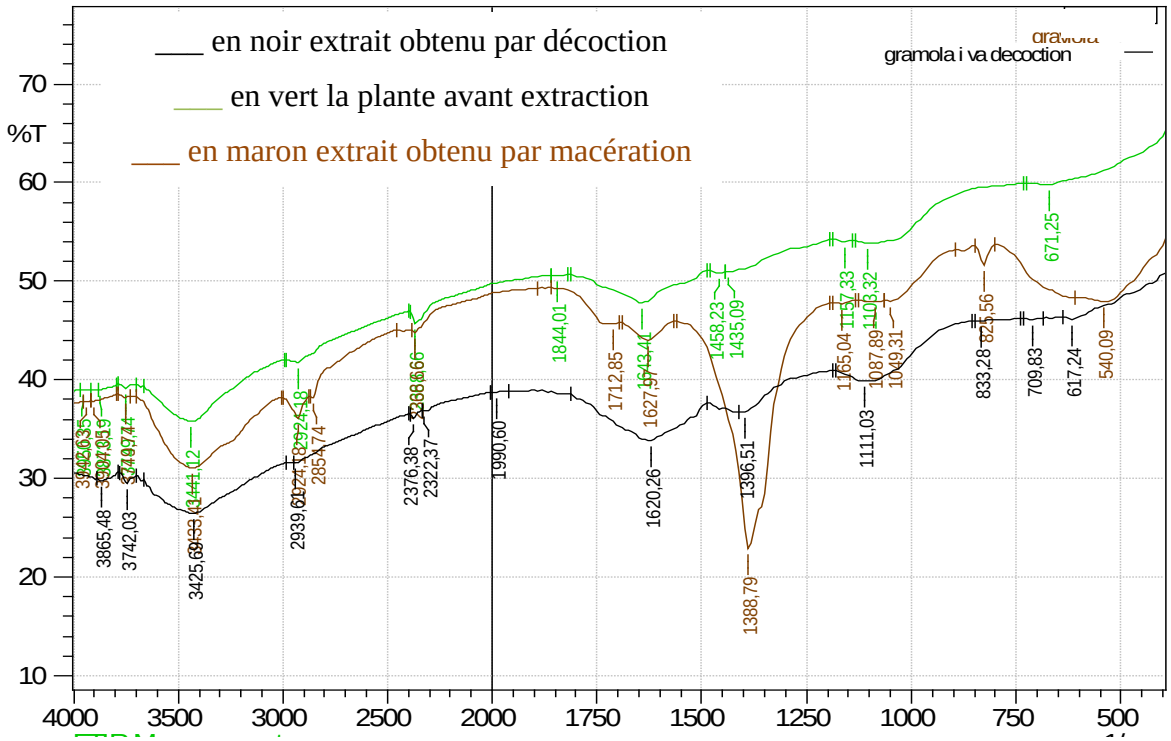


Figure III.8 Spectre IR du graviola

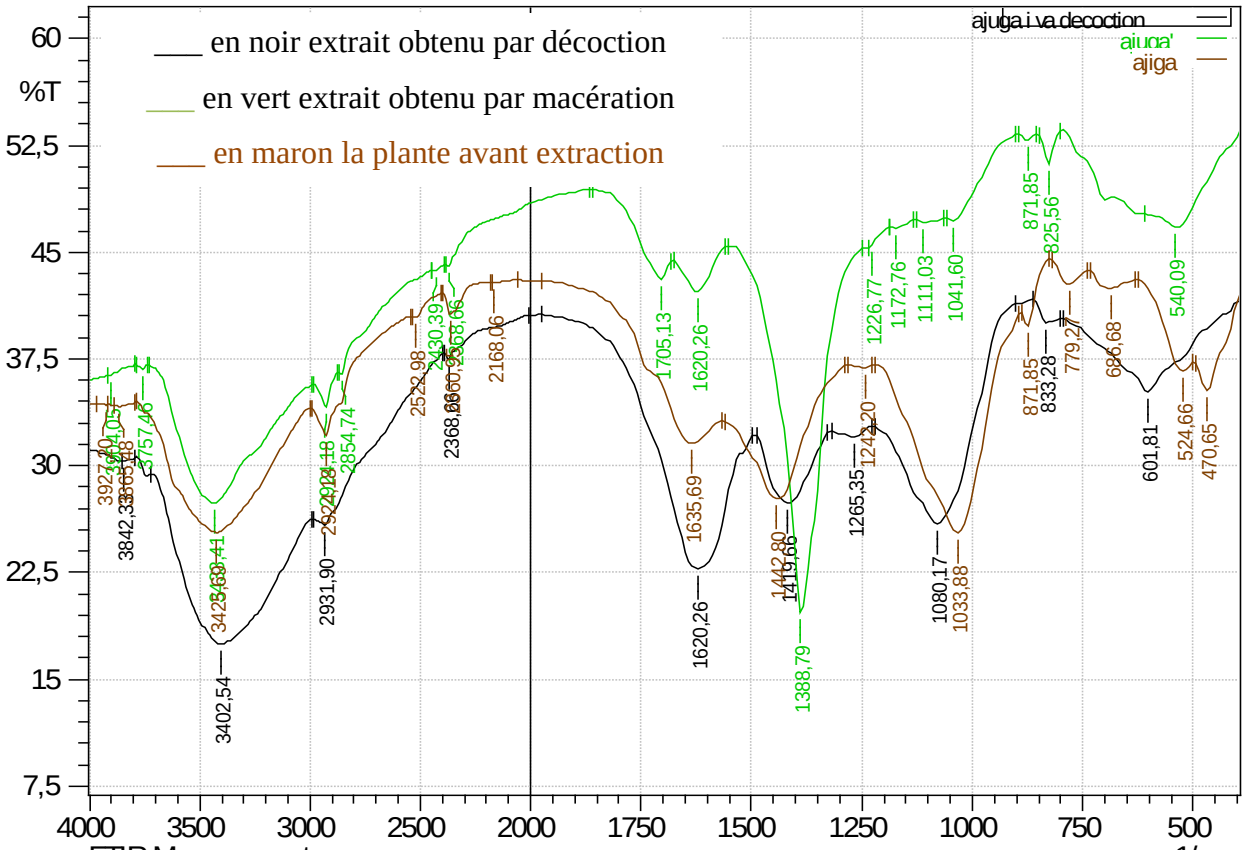


Figure III.9 Ajuga iva

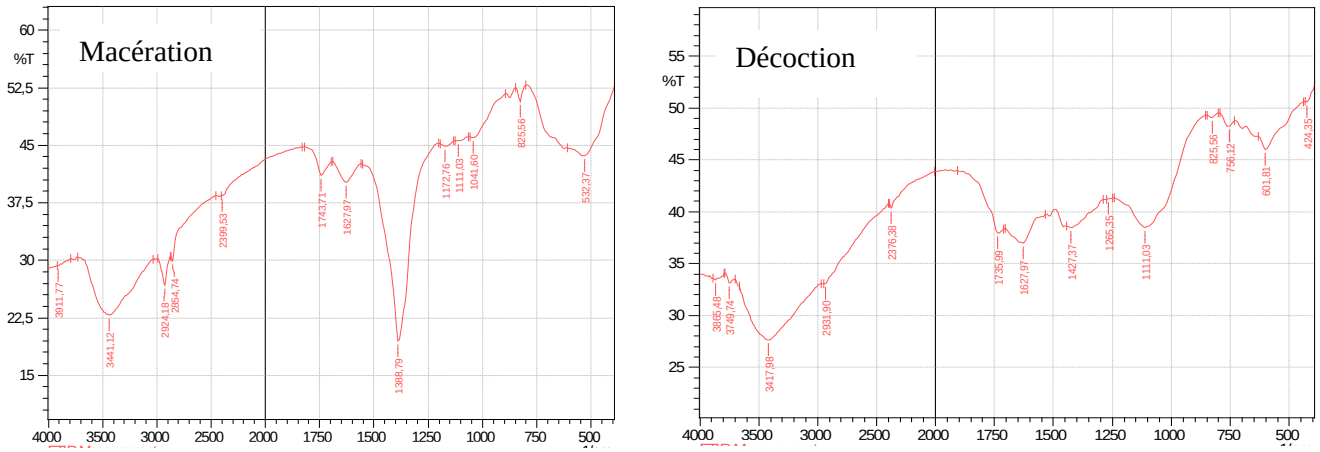


Figure III.10 Spectres IR de l'éphedra

A partir des résultats d'analyse par infra-rouge des différentes fractions des extraits, il ressort que les quatres plantes se caractérisent par plusieurs liaisons à fonctions variables. En effet, les bandes larges autour de 3400 cm-1 sont associées à la vibration d'élongation de la liaison OH (fonction phénol). Les bandes étroites autour de 2924 à 2926 cm-1 correspondent à

la vibration de déformation de la liaison CH (fonction alcène). Les bandes fortes autour de 1630 à 1640 cm-1 correspondent à la vibration d'élongation de la liaison C=O (fonction aldéhyde). Enfin, les bandes autour de 1095 cm-1 sont attribuées à la vibration d'élongation de la liaison C-H (fonction ester) [66, 71].

Les extraits obtenues par macération représente un pic supplementaire aux alentour de 1388 cm-1 qui correspond à la déformation dans le plan de la liaison OH des alcools [71], ici il s'agit de l'éthanol qui peut se trouver en traces dans nos extraits.

III-4. ACTIVITE ANTIBACTERIENNE

Il s'agit de déterminer le diamètre d'inhibition. Nous rappelons, que les objectifs de cette manipulation sont :

- d'évaluer *in vitro* le pouvoir antibactérien des extraits dissouts dans l'éthanol et dans l'eau
- de vérifier si on peut utiliser ce pouvoir antibactérien comme un facteur de comparaison entre les deux méthodes d'extraction étudiées.

Nous avons utilisé la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé contre les bactéries : *Escherichia coli et Pseudomonas aeruginosa à gam negative ainsi que Staphylococcus aureus et Streptococcus à gam positif.*

Le pouvoir antibactérien des extraits a été estimé en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les extraits à tester vis-à-vis des différentes bactéries

- **Etude de l'effet antimicrobien par la méthode de disque**

La méthode de disque a permis de déterminer l'action de nos extraits sur les différentes souches. Celle-ci se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque

Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre et d'un extrait à un autre. La variation de l'activité antimicrobienne des échantillons explique les variations de leurs compositions chimiques

L'évaluation de l'activité antimicrobienne permet de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) à partir d'une gamme de concentrations des différents extraits en mesurant les diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne autour des disques. Ces derniers représentent l'activité antimicrobienne maximale.

Nous illustrons ces résultats des extraits obtenus par décoction et par macération dans ce qui suit.

Les zones d'ihibitioon des extraits des quatres plantes obtenus par décoction sont illustrées sur les figures suivantes.

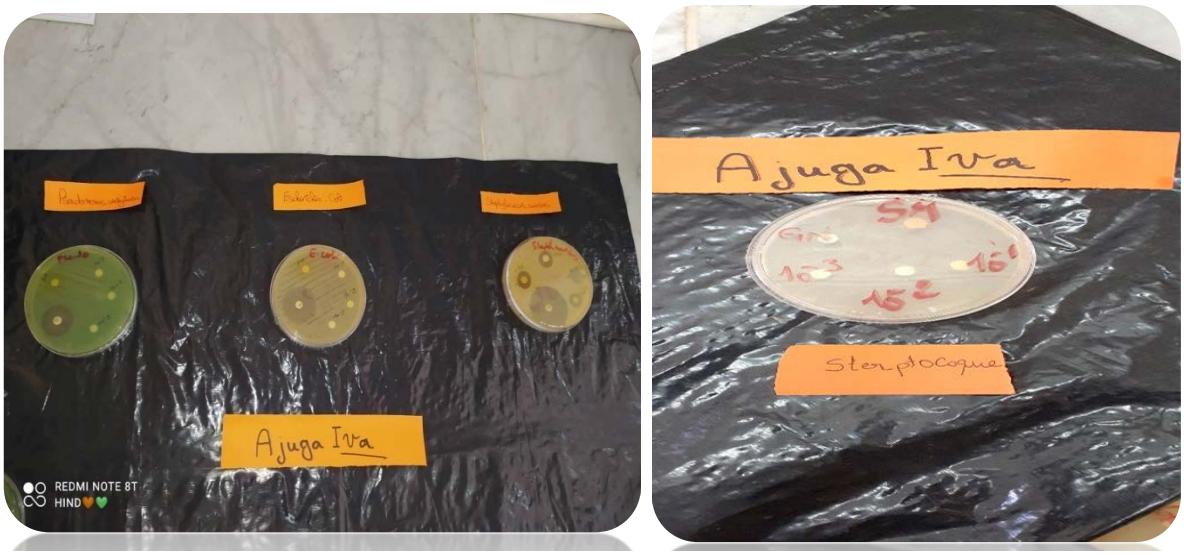


Figure III.11 : Zones d'inhibition de l'extrait de plante (Ajuga iva) obtenu par décoction



Figure III.12 : Zones d'inhibition de l'extrait de plante (Ephédra) obtenu par décoction

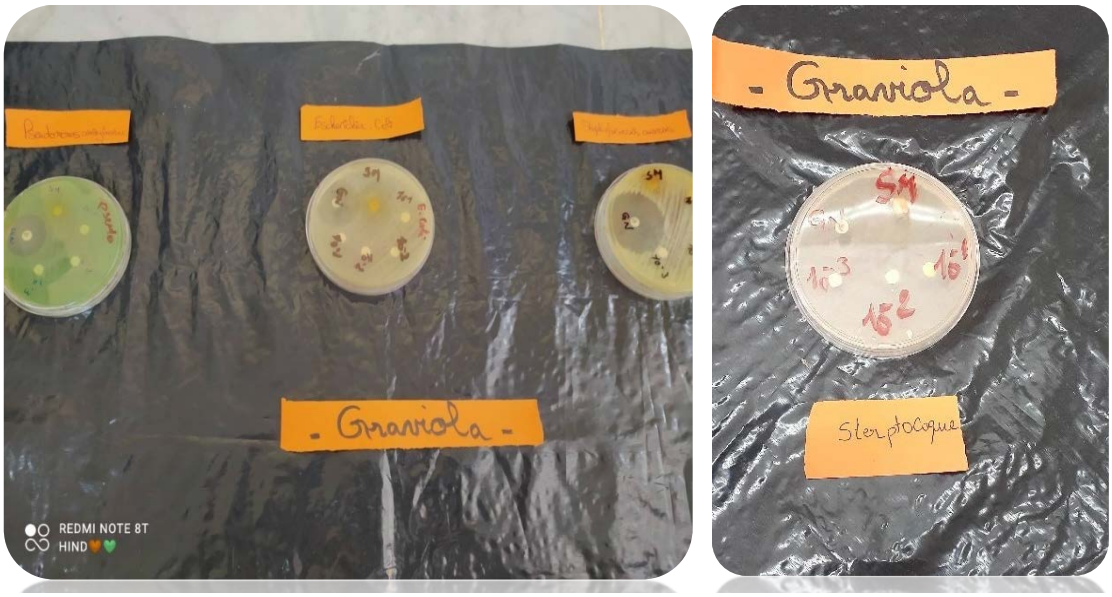


Figure III.13 : Zones d'inhibition de l'extrait de plante (Graviola) obtenu par décoction



Figure III.14 : Zones d'inhibition de l'extrait de plante (Ortie) obtenu par décoction

Les zones d'ihibitioon des extraits obtenus par macération sont présentées sur les figures suivantes.

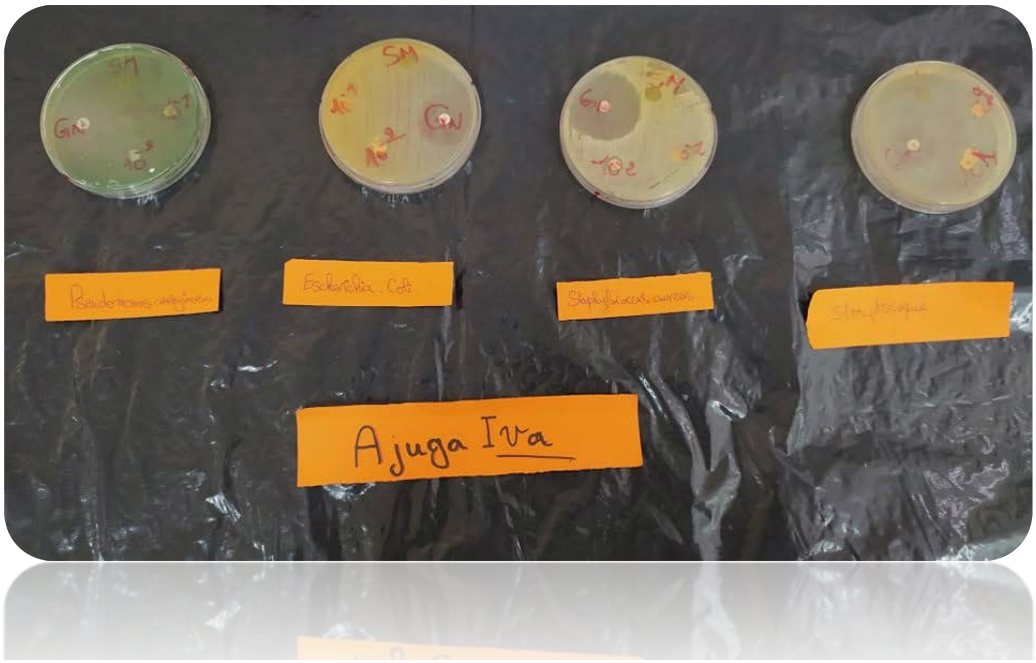


Figure III.15 : Zones d'inhibition de l'extrait de plante (Ajuga iva) obtenu par macération



Figure III.16 : Zones d'inhibition de l'extrait de plante (Ephedra) obtenu par macération



Figure III.17 : Zones d'inhibition de l'extrait de plante (Ortie) obtenu par macération



Figure III.18 : Zones d'inhibition de l'extrait de plante (Graviola) obtenu par macération

Tableau III.3: Valeurs des diamètres d'inhibition des souches bactériennes utilisées en (mm) (valeurs de la 2ème dilution)

Souche	*Staphylococcus aureus*	*Streptococcus*	*Escherichia Coli*	*Pseudomonas aeruginosa*
Milieu de culture	M H	M H	M H	M H
Ajuga Iva M	**11**	**12**	**0**	**0**
Ajuga Iva D	**15**	**7**	**0**	**0**
Ephedra M	**0**	**12**	**10**	**0**
Ephedra D	**0**	**8**	**0**	**0**
Ortie M	**11**	**0**	**9**	**0**
Ortie D	**15**	**0**	**0**	**0**
Graviola M	**7**	**0**	**0**	**0**
Graviola D	**0**	**0**	**0**	**0**
Temoin GN	39	**22**	**25**	**-**

M H : La gélose **M**ueller **H**inton, **D**: Extrait obtenu par **d**écoction, **M:** Extrait obtenu par **maceration**

GN: Gélose Nutritive (forme antibiotique qui possède un effet antibactérien sur toutes les bactéries)

Nos extraits possèdent une activité antibactérienne sur les souches: *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus* mais pas d'effet sur les souches: *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* sauf pour l'extrait éthanolique de *l'éphedra* avec un diameter d'inhibition de 10 mm. Ce résultat est présenté d'une manière plus claire sur l'histogramme de la figure III.18.

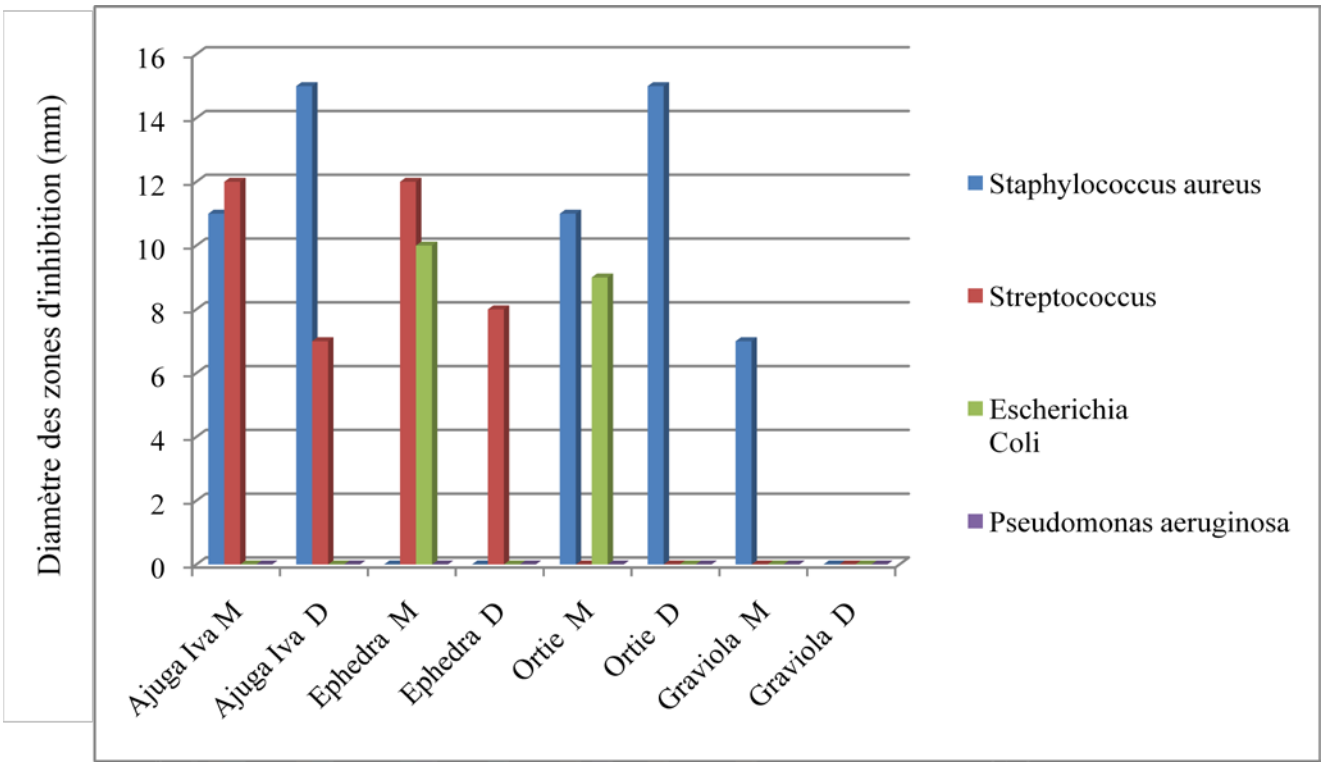


Figure III.19 Activité antibactérienne des differents extraits

Les diamètres d'inhibition obtenus à différentes concentrations pour l'ortie avec la bactérie *Staphylococcus aureus* sont présentés sur le tableau III.4.

Tableau III.4 Valeurs des diamètres d'inhibition de souches bactérienne *Staphylococcus aureus* à différentes concentrations en extrait de *l'ortie* obtenu par décoction

Ortie	Solution mère	1ère dilution	2ème dilution	3ème dillution
Diamètre (mm)	17	16	15	13 mm
Concentration (g/l)	10	1	0.1	0.01

Le diamètre d'inhibition (13mm) est obtenu avec la concentration :

$C = C_{mère} \times 10^{-3} = 10*10^{-3} = 0.01 g/l$

Avec $C_{mère} = 10 g/l$

Conclusion

CONCLUSION

La phytothérapie peut constituer une medicine alternative ou au moins comme un complement à la pharmacie classique.

A l'heure actuelle, l'Algérie est un pays riche en terme de biodiversité, et l'usage des pharmacopées traditionnelles est encore une pratique bien vivante. Ces pharmacopées traditionnelles comportent des traitements pour soigner plusieurs maladies chroniques tel que le diabete et le cancer.

Le principal objectif de ce travail de recherché est d'éffectuer une etude comparative entre quatre plantes issus de cette biodiversité végétale: *Ajuga Iva, Graviola, Ephedra et l'Ortie.* Le choix de ces plantes est basé sur la fréquence de leurs utilisations par la population locale pour le traitement du diabete et cancer.

Deux procédés d'extraction sont utilisés: la macération à l'éthanol et la décoction, les principaux résultats obtenus sont les suivants:

- L'extraction par décoction a donné des rendements plus élevés que la macération à l'éthanol sauf pour l'ortie**.** Le rendement d'extraction dépend du mode d'extraction, de la nature de la plante étudiée, de la polarité du solvant d'extraction ainsi que la température utilisée.

- La détermination de la teneur en polyphénols totaux des différents extraits a été réalisée selon la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Les quantités des polyphénols correspondantes de chaque extrait ont été rapportées en équivalent gramme d'acide gallique par gramme de matière sèche. Nos résultats montrent que les extraits aqueux contiennent plus de polyphénols que les extraits éthanoliques. Le graviola et l'éphédra en contiennent plus.de polyphénols que les deux autres plantes.

- Les spectres IR obtenus sont caractéristiques des composants présents dans l'échantillon. Ils nous fournissent de l'information sur la structure chimique et sur la conformation et la dynamique de l'échantillon étudié. La spectroscopie IR a montré la présence des bandes caractéristiques de quelques fonctions qui existent au sein des quatres plantes et de leurs principes actifs

- Nos échantillons possèdent une activité antibactérienne sur les souches: *Staphylococcus aureus et Streptococcus* mais pas d'effet sur les souches: *Pseudomonas aeruginosa et Escherichia coli* sauf pour l'extrait éthanolique de l'éphédra qui possède un effet sur *l' Escherichia coli.*

PERSPECTIVES

En perspectives, dans le but de compléter cette étude, on propose :

- d'utiliser les méthodes d'extraction nouvelles de la chimie verte
- d'effectuer le dosage des flavonoides ainsi que les alcaloides qui possèdent un effet très efficace dans le traitement du cancer.
- d'évaluer l'activité antioxydante de tous les extraits
- de tester et exploiter d'autres systèmes de solvants pour améliorer l'extraction de certains constituants de ces plantes.
- d'étudier l'activité antioxydante des huiles essentielles de ces plantes.
- d'identifier les principes actifs de ces espèces avec les méthodes chromatographiques.
- d'évaluer l'activité anticancéreuse.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

[1] ***Larousse, 2001.****Encyclopedie des plantes medicinales.Paris*

[2] ***Selle.C.2012.****Valorisation d'une plante medicinale à acivie antidiabetique de la region de Tlemcen : Anacyclus pyrethrum L.Application de l'extrait aqueux à l'inhibition de corrosion d'un acierdouxdans H2SO4 0.5M. Thèse: chimie physique. Tlemcen: universiteAbouBekrBelkaid, 175p.*

[3] ***Cunningham.A.B.,1993*** *African medicinal plants: setting priorities at the interface between conservation and primary healthcare. In: People and Plants Working Paper.UNESCO;* ***Agisho.H.,Osie.M.,Lambore.T.,2014****. Traditional medicinal plants utilization, management and threats in Hadiya Zone, Ethiopia. J. Med. Plants Studies 2, 94–108.*

[4] ***Quyou.A.,2003.****Mise au point d'une base de donneaesur les palntes medicinales. Exempled'utilisationpratique cette base.Thèse de Doct.Univ. IbnTofail. Fac. Sci de kenitra, Maroc.110p.* ***Delille.L.,2007****. Les plantesmedicinalesd'Algerie.Edition BERTI.Alger, 122*

[5] ***Rebbas, K., Bounar, R., Gharzouli, R., Ramdani, M., Djellouli, M., Alatou, D.,2012****. Plantesd'intérêtmédicinaleetécologiquedans la régiond'Ouanougha (M'Sila).phytotérapie 6, 1-12.*

[6] Institut Européen des substances végétales « Les plantes médicinales » 2015

[7] اسوان حمد الله عبود البيار "**تاثير طريقة الاستخلاص لجذور الزنجبيل في الفعالية المضادة للاكسدة** "
مجلة العلوم الزراعية العراقية -40 (1) :101-109 (2009).

[8] Benzeggouta Naïrouz, 2015, Evaluation des Effets Biologiques des Extraits Aqueux de plantes médicinales seules et combinées.Thèse de Doctorat en Sciences Université Mentouri-Constantine.

[9] ACHOUR TALET abdessamad, KEDDAR imane, 2017 « Dosage des composés phénoliques et recherche d'activité antiradicalaire d'extraits aqueux préparés de *Curcuma longa L.* et Zingiber officinale », Mémoire de Master, Université Aboubakr Belkaïd – Tlemcen,

[10] BENIKHLEF KHADRA, 2017, Contribution à l'étude phytochimique et activité biologique des extraits des graines de *Coffea canephora, Mémoire de Master de l'*université Abou Bekr Belkaid Tlemcen.

[11] ***Rice-Evans C.A., Miller N.J. and Paganga G. (1997).*** *Antioxidant properties of phenolic Compounds. Plant Sci,* ***2****: 152-159*

[12] ***El Hilaly J., Lyoussi B., Wibo M. and Morel N. (2004).*** *Vasorelaxant effect of the aqueous extract of Ajuga iva in rat aorta. J Ethnopharmacol,* ***93****: 69-74.*

[13] ***Ziyyat A., Legssyer A., Mekhfi H., Dassouli A., Serhrouchni M.*** *and* ***Benjelloun W.(1997).*** *Phytotherapy of hypertension and diabetes in oriental Moroccan. JEthnopharmacol,* ***58****: 45–54.*

[14] ***Bellakhdar J., Claisse R., Fleurentin J. and Younos C. (1991).*** *Repertory of standard herbal drugs in the Moroccan pharmacopoeia. J Ethnopharmacol,* ***35****: 123–143.*

[15] ***Baba Aissa F. (1999).*** *Encyclopédie des plantes utiles. Flore d'Algerie et du Maghreb.Edition librairie modern-Rouiba. Alger.*

[16] ***Taleb-Senoucia D., Ghomaria H., Kroufa D., Bouderbalaa S., Prost J., Lacaille- Duboisc M.A.*** *and* ***Bouchenaka M. (2009).*** *Antioxidant effect of Ajuga iva*

*aqueous extract in streptozotocin-induced diabetic rats. Phytomedicine, **16**: 623–631.*

[17] ***El-hilaly J., Tahraoui T., Israili Z.H.*** *and* ***Lyoussi B. (2007).*** *Acute hypoglycemic, hypocholesterolemic and hypotriglyceridemic effects of continuous intravenous infusion of a lyophilised aqueous extract of Ajuga Iva L. Schreber whole plant in streptozotocininduced diabetic rats. Pak J Pharm Sci, **20** : 261-268.*

[18] ***El-hilaly J., Tahraoui T., Israili Z.H.*** *and* ***Lyoussi B. (2006).*** *Hypolipidemic effects of acute and sub-chronic administration of an aqueous extract of Ajuga iva L. whole plant in normal and diabetic rats. J Ethnopharmacol **105** : 441–448.*

[19] ***Nikolova M., Gussev C.H.*** *and* ***Nguyen T. (2010).*** *Evaluation of the Antioxidant action and flavonoid composition of Artemisia species extracts. Biotechnol, 21-23.*

[20] ***Quezel P.*** *and* ***Santa S. (1962).*** *Nouvelle Flore de l'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales. Editions du Centre National de la Recherche Scientifique,Paris, Tome I. 565 p.*

[21] ***Marco J.A. (1989).*** *Sesquiterpene lactones from Artemisia herba-alba. Phytochemistry,**28**: 3121-3126.*

[22] **Saleh N.A.M., El-Negoumy S.I.** and **Abou-Zaid M.M. (1987).** Flavonoids of *Artemisia judaica, A. monosperma and Artemisia herba-alba*. Phytochemistry, **26**: 3059–3064.

[23] ***Salah S.M.*** *and* ***Jager A.K. (2005).*** *Screening of traditionally used Lebanese herbs for neurological activities. J Ethnopharmacol, **97**: 145–149.*

[24] ***Huang J. et Price R.A., (2003).*** *Estimation of the Age of Extant Ephedra Using Chloroplast rbcL Sequence Data. Mol. Biol. Evol; **20** (3): pp 435–440.*

[25] ***Evans W.C., (2009).*** *Trease and Evans' Pharmacognosy. Saunders (16eme Ed).*

[26] ***Ozenda, P. (1991).*** *Flore et végétation du Sahara. Centre National De La Recherche Scientifique, Paris (3éme Ed.). 662*

[27] ***AL-Qarawi, A.A., Abd_Allah, E.F. et Abeer, H. (2011).*** *Ephedra alata as biologically-based strategy inhibit aflatoxigenic seedborne mold. African Journal of Microbiology Research;**5** (16):pp. 2297-2303.*

[28] ***Aghdasi M, Bojnoordia MM, Mianabadia M et Nadafb M (2015).*** *Chemical components of the Ephedra major from Iran. Natural Product Research, 3p.* ***Fleming RM (2008).*** *Safety of ephedra and related anorexic medications. Expert Opin, 7:749-759*

[29] ***Abourashed EA, El-Alfy A T, Khan IA et Walker L (2003).*** *Ephedra in Perspective – a Current Review.Phytotherapy Research, 17: 703–712.*

[30] ***Soni, M.G., Carabin, I.G., Griffiths, J.C., et Burdock, G.A. (2004).*** *Safety of ephedra: lessons learned. Toxicology Lettersn; **150**: 97–110.*

[31] ***Ma, G., Bavadekar, S.A., Davis, Y.M., Lalchandani, S.G. Nagmani, R., Schaneberg, B.T.,Khan, I.A., et Feller, D.R. (2007).*** *Pharmacological Effects of Ephedrine Alkaloids on Human a1- and a2 Adrenergic Receptor Subtypes. The Journal Of Pharmacology And Experimental Therapeutics; **322**(1): pp. 214- 221.*

[32] ***Caveny, S., Charlet, D.A., Freitqg, H., Maier-Stolete, M. et Starratt, A. N. (2001).*** *New observations on the secondary chemistry of world Ephedra (Ephedraceae). American Journal of Botany; **88** (7):pp. 1199–1208.*

[33] ***Yahaya Gavamukulya, F.W., Hany A. El-Shemy****, Annona muricata: is the natural therapy to most disease conditions including cancer growing in our backyard? . Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, **2017**.*

[34] ***Max W and R. A****, Plantes therapeutiques 2eme edition.*

[35] ***Beloued A. (2001)*** *Plantes medicinales d'Algerie. Office des publications universitaires.Alger. Pp : 124*

[36] ***Couplan F., 2013*** *- Remèdes et recettes à l'ortie, les bonnes plantes de nos grands mères. Ed. Sang de la terre. 300 P.*

[37] ***Bertrand B., 2008*** *– Les secrets de l'ortie. Ed. Terran. p. 30.*

[38] ***Apgil.(2003).*** *An update of the Angiosperm Phylogeny Group Classification for the orders and families of flowering plants: APGII. Bot. J Linn. Soc., 2003, 141,4,399-436*

[39] ***Quenzel P. & Santa S., 1963*** *- Nouvelle flore d'Algérie. Ed. Centre national de la recherche scientifique. Tome II.*

[40] ***Handa S.S,*** *An overview of extraction technique for medicinal and aromatic plants.in:* ***Handa S.S, Khanuja S.P.S, Longo G., Rakesh D.D.*** *(Eds) extraction technologies for medicinal and aromatic plants. International centrefor science and high technology, Trieste, Italy.(2008),p21-54.*

[41] ***Goetz P,*** *plaidoyer pour la tisane medicinal, phytothérapie****,(2004)*** *1,8-15.*

[42] ***Lybros,J. and P, "Extraction solide-liquide. Frémeaux (1990).***

[43] ***Baba-Aissa F,*** *encyclopédie des plantes utiles,Flore d'Algérie et du Maghreb, Substances Végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. EDAS Algérie,* ***(2000).***

[44] ***Penchev P.I****, Étude des procédés d'extraction et de purification de produitsbioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions. Thèse de Doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse, France.* ***(2010)***

[45] ***Goula A.M,*** Ultrasound-Assisted Extraction of Pomegranate Seed Oil – Kinetic Modeling, Journal of Food Engineering**, (2013),** 117, 492-498.

[46] ***Lancaster M,*** *Green Chemistry: An Introductory Text. The Royal Society of Chemistry.****(2002****), p225, 226.*

[47] ***Kaufmann, B., P****. Christen, "Parameters affecting microwave-assisted extraction of withanolides." Phytochemical Analysis,* ***(2001****), 12: 327-331.*

[48] ***BOUHADDOUDA Nabila****, Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local : Origanum vulgare et Mentha pulegium. Thèse de Doctorat del'université BADJI MOKHTAR Annaba****,(2016).****p.31.*

[49] ***Evans W.C****, Trease and Evans Pharmacognosy. Saunders, Edinburgh,* ***(2002),*** *UK. p137,138.*

[50] ***E. BENETEAU****, les technique d'éxtraction , comité francais du parfum* ***2011****.*

[51] ***Azmir J., Zaidul I.S.M.,*** *Rahman M.M., Sharif K.M., Mohamed A.,Techniques for Extraction of Bioactive Compounds from Plant Materials: A Review,Journal of Food Engineering,* ***(2013),*** *117,p.426-436.*

[52] ***Clifford A.A****, Extraction of Natural Products with Superheated Water. In:* ***Clark J., Macquarrie D****. (Eds) Handbook of Green Chemistry and Technology.Blackwell Science Ltd****. (2002),*** *p. 524-531.*

[53] ***Camille delarras.2014.****Pratiqueen microbiologiede laboratoire recherché de bactéries et levures-moisissures.edition célinepoiteaux. Lavoisier.Paris,p1-567*

[54] **Diallo A.,** *Etude de la phytochimie et des activités biologiques de Syzygium guine e nse Willd (Myrtacées), Thèse de Doctorat en Pharmacie université de banmako,* ***(2005),****p.11,13*

[55] ***Persidis A.,*** *Antibacterial and antifugal drug discovery. Nature Biote ch nology,****(1999)****,17:1141-1142*

[56] ***Rhayour K.,*** *Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur Esherichia coli, Bacillussubtilis et sur Mycobacterium phlei et Mycobacterium fortuitum, Thèse de Doctorat de Biologie Cellulaire université de Fès,* ***2002****, p.2.*

[57] ***Hahn M. W., Lunsdorf H., Schauer M., Hofle M. G., Boenigk J., and Stadtler P.,*** *Isolation of novel ultra-micro-bacteria classified as actinobacteria from five freshwater habitats in Europe and Asia. Applied Environmental of Microbiology****,(2003),*** *69:1442-1451.*

[58] **Leclerc H., Gaillard J-L**, Simonet M., Microbiologie générale, la bactérie et monde bactérien, Doin Editeur, Paris, **(1995**), p.506.

[59] ***Madigan M.T., Martinko J.M., Parker J.,*** *Brock Biology of Microorganisms,Prentice Hall International Ed.,* ***(1997****).*

[60] ***Philippon A.1995*** *Quelques bacilli a gram négatif aérobies stricts non frementaire et sensible aux antibiotique. Lett. Infectiol.10 :619-630*

[61] ***J. Hadj-Salem,*** *Thèse « Extraction, identification, caractérisation des activités biologiques de flavonoïdes de Nitraria retusa et synthèse de dérivés acyles de ces molécules par voie enzymatique », Institut national polytechnique de lorraine,* ***(2009).***

[62] ***X. Han, T. Shen ET H. Lou, article****« Dietary polyphénols and their biological significance», International journal of molecular science,* ***(2007).*** *Int J Mol Sci. (Sep2007):950–988, Published online 12 Sep2007.*

[63] **K.SAFFIDINE,** Thèse « Etude analytique et biologique des flavonoïdes extraits de *Carthamus caeruleus L.* et de *Plantago major L»,* **10/12/2015.**

[64] ***I. TALEB,*** *Thèse « Apport de la spectroscopie vibrationnelle, infrarouge et Raman, appliquée au sérum pour le diagnostic du carcinome hépatocellulaire chez les patients atteints de cirrhose », Le 18 Décembre* ***2013.***

[65] ***Ch. Wojciechowski,*** *thèse « apports de la chimiométrie a l'interprétation des données de la spectroscopie infrarouge: caractérisation des matières premiers et matériaux d'emballage en agro- alimentaire »,* ***27 mai 1998.***

[66] ***L. Mouni,*** *« cours de spectroscopie infrarouge».*

[67] ***Bensalem M, Hadji S,*** *2020, Etude comparative de quelques propriétés chimiques et biologiques d'extraits de plantes****,*** *Memoire de Master de l'université YAHIA Fares de MEDEA.*

[68] ***LEHOUT ROUMEISSA, LAIB MAYA****, Comparaison de trois méthodes d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir de la plante médicinale : Artemisia herba alba Asso, Mémoire de Master de l'Université des Frères Mentouri Constantine, 2015.*

[69] ***Amari Sihem,*** Étude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienneet antioxydante de deux extraits de la plante *Zingiber officinale, Mémoire de Master de l'université* ABOU BEKR BELKAID-Tlemcen, 2016.

[70] ***BECHAMI Sofiane****, 2015, Les polyphénols de Teucrium fruticans et leurs activités antioxydantes et antimicrobiennes, Mémoire de Magister de l'université Abderrahmane Mira de Bejaia.*

[71] ***N. BELBOUKHARI, Z. MERZOUG, A. CHERITI, K. SEKKOUM , M. YAKOUBI, 2013,*** *Etude de la caractérisation et la composition qualitative des huiles essentielles de six plantes médicinales par spectroscopie IR, PhytoChem & BioSub Journal Vol. 7(1) ISSN 2170-1768.*