

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET
POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET
DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE CONSTANTINE1



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

جامعة قسنطينة 1

N° de série :

.....

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie et Ecologie Végétale

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention

Du Diplôme de Master

Filière : Biologie et physiologie végétale

Option : Métabolisme secondaire et molécules bioactives

Thème :

Contribution à l'étude phytochimique des flavonoïdes

Chez l'espèce *Prunus cerasifera atropurpurea* L.

et évaluation de leur pouvoir antibactérien

**Présenté par : CHADI Djalel
ALLAL Omar**

Devant le jury :

Président : Mr. CHIBANI Salih

Promoteur : Mme. BOUCHOUKH Imane

Examinatrice : Mme BAAZIZ BOUCHIBI Nacera

M.C.B. Université Constantine1

M.A.A. Université Constantine1

M.C.B. Université Constantine1

2013/2014

Dédicace

*Nous dédions ce travail a nos parents qu'ils trouvent
ici toute notre gratitude pour leur soutien tous le long
de nos études*

A nos frères et sœurs

A nos familles et à nos amis

REMERCIEMENTS

Tous d'abord nous remercions dieu qui nous à donné de la force et du courage et de la volonté pour achever ce travail.

*Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements, notre vive reconnaissance et notre sincère gratitude à **Mme BOUCHOUKH Imane**. Maitre assistante à la faculté de la nature et de la vie, Université de Constantine I pour avoir accepté de nous encadrés et pour ses conseils et ses précieuses orientations qu'elle n'a cessé de nous apportez tout au long de ce travail.*

*Nous remercions **Mr CHIBANI, S.** Maitre de conférence à l'Université de Constantine I, pour nous avoir aidé et d'accepter d'être le président du jury.*

*Nous remercions **Mme BAAZIZ, N.** Maitre de conférence à l'Université de Constantine I, d'avoir accepté d'évaluer notre modeste travail et d'être parmi le jury.*

*Nous tenons à remercier **Melle ABD ELAZIZ, W.** Maitre assistante à l'Université de Constantine I, pour son aide a la réalisation de ce mémoire.*

Nous remercions toutes personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Un grand merci à tous

ملخص :

المركبات الثانوية أو الجزيئات النشطة بيولوجيا هي نواتج الأيض المصنعة من طرف النبات خلال عملية الأيض الثانوي. في هذه الدراسة ركزنا بشكل خاص على مركبات الفلافونويد.

قامت دراستنا على مستخلصات من نبات أصله من قارة آسيا (*Prunus cerasifera Atropurpurea (ou pissardii)*)

مزيج بعض الأساليب المعينة من التحليل الكيمائي الطيفي (UV)، الكروماتوغرافي (TLC) و البيولوجي مكنتنا من اجراء تقييم كمي و نوعي للفلافونويدات المستخرجة من أوراق النبات. في حين أن الاختبارات البيولوجية استخدمت لتقييم النشاط المضاد للبكتيريا.

وقد سمحت نتائج عملنا من تأكيد ثراء العينات المدروسة ل (*Prunus cerasifera Atropurpurea (ou pissardii)*)

بالفلافونويدات، و أظهرت كذلك قدرة معتبرة ضد البكتيريا.

الكلمات المفتاحية : *Prunus cerasifera Atropurpurea (ou pissardii)*، الفلافونويدات، التمثيل الغذائي الثانوي

النشاط المضاد للبكتيريا، TLC.

Résumé :

Les métabolites secondaires ou molécules bioactives sont des métabolites végétaux produits lors du métabolisme secondaire. Dans cette étude, nous nous sommes intéressés particulièrement aux flavonoïdes.

Nos travaux se sont portés sur les extraits d'une plante originaire d'Asie le prunier de pissard *Prunus cerasifera Atropurpurea (ou pissardii)*.

Une combinaison de certaines méthodes d'analyse chimique, spectrophotométrique (UV) chromatographie (CCM) et biologique, nous ont permis de faire une évaluation qualitative et quantitative des flavonoïdes extraits à partir des feuilles de cette plante. Tandis que des tests biologiques ont été utilisés pour l'évaluation du pouvoir antibactérien.

Les résultats des travaux nous ont permis d'affirmer la richesse des extraits étudiés de *Prunus cerasifera Atropurpurea (ou pissardii)* en flavonoïdes, et ces derniers ont montré un pouvoir antibactérien significatif.

Mots clés : *Prunus cerasifera Atropurpurea (ou pissardii)*, flavonoïdes, métabolisme secondaire, activité antibactérienne, CCM

Summary:

Secondary metabolites and bioactive molecules are metabolites produced by all the plants during the secondary metabolism. In this study, we focused particularly on flavonoids.

We focused our work on the extract of an Asian Cherry plum tree Pissard (*Prunus cerasifera Atropurpurea (or pissardii) plant*).

A combination of some methods of chemical analysis, spectrophotometry (UV) chromatography (TLC) and biological tests have enabled us to make a qualitative and quantitative assessment of flavonoids extracted from the leaves of this plant. While biological tests were used for the evaluation of antibacterial power.

The results of the work have allowed us to assert wealth extracts of the *prunus cerasifera atropurpurea (or pissardii)* flavonoids, and showed a significant antibacterial activity.

Keywords: *Prunus cerasifera Atropurpurea (or pissardii)*, flavonoids, secondary metabolism, antibacterial activity, CCM

Table des matières

PARTIE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Introduction générale	1
Chapitre I : Description de la plante	
I-1-La famille des Rosacées.....	2
I-2-Le Genre <i>Prunus</i>	4
I-3-Description de l'espèce <i>Prunus Cerasifera Atropurpurea</i> (ou <i>pissardii</i>).....	6
I-3-1-Histoire et Origine.....	6
I-3-2-taxonomie de l'espèce.....	6
I-3-3-Description botanique.....	7
I-3-4-Catégories et variétés.....	9
I-3-5-Culture.....	9
I-3-6-Utilisation.....	9
Chapitre II : Métabolisme secondaire	
II-1- Généralité.....	10
II-2- Relations entre métabolisme secondaire et métabolisme primaire.....	10
II-3- Rôle biologiques des Métabolites secondaires.....	11
II-4- Métabolites secondaires hydrophiliques.....	11
II-5- Métabolites secondaires lyophiliques.....	11
II-6- Principaux métabolites secondaires.....	12
II-6-1- Composés phénoliques.....	13
II-6-1-1- Définition.....	13
II-6-1-2- Biosynthèse.....	13
II-6-1-3- Principales classes des polyphénols.....	15
II-6-1-3-1- Les acides phénoliques simples.....	16
II-6-1-3-2- Les acides benzoïques.....	16
II-6-1-3-3- Les acides cinnamiques.....	16

II-6-2- Les coumarines.....	16
II-6-3- Les flavonoïdes.....	16
II-6-3-1- Généralités.....	16
II-6-3-2- Structure.....	17
II-6-3-3- La biosynthèse des flavonoïdes.....	17
II-6-3-4- Principales classes des flavonoïdes.....	19
II-6-3-5- Distribution et localisation des flavonoïdes.....	20
II-6-3-6- Rôle des flavonoïdes dans la plante.....	21
II-6-3-7- Activités biologiques des flavonoïdes.....	21

PARTIE II: MATERIEL ET METHODES

I-Matériel végétal.....	24
II-Criblage des flavonoïdes.....	24
III-Extraction des flavonoïdes.....	25
III-1-Macération et préparation des extraits éthanoliques et méthanoliques.....	25
III-2- Fractionnement des extraits bruts par extraction Liquide-Liquide (ELL).....	27
IV- Séparation des flavonoïdes par chromatographie sur couche mince (CCM).....	29
IV-1- Définition.....	29
IV-2- Principe.....	29
V- Etude de l'activité antibactérienne.....	30
V-1- Objectif.....	30
V-2- Principe.....	30
V-3- Préparation des souches bactériennes.....	31
V-4-Préparation du milieu de culture.....	31
V-5-Culture des bactéries.....	31
V-6- dépôt des extraits.....	31
V-6-1- La technique des disques.....	31

V-6-2- La technique des puits.....	31
V-7- Expression des résultats.....	33

PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSION

I-Criblage des flavonoïdes.....	34
I-1- Résultats.....	34
I-2-discussion.....	35
II- séparation des extraits bruts MeOh et EtOH par chromatographie sur couche mince (CCM).....	35
II-1-Résultats.....	35
II-2-Discussion.....	38
III- Activité antibactérienne des différentes fractions de l'extrait brut.....	38
III-1- Résultats.....	38
III-2- Discussion.....	41
CONCLUSION	42
PERSPECTIVES	43
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	44

Liste des Figures

Figure 1: Coupe longitudinal d'une fleur de la famille des Rosacées.....	2
Figure 2: Aspect général de <i>Prunus cerasifera pissardii</i>	7
Figure 3: Feuilles de <i>Prunus cerasifera pissardii</i>	7
Figure 4: Les fleurs de <i>Prunus cerasifera pissardii</i>	8
Figure 5: Fruit de <i>Prunus cerasifera pissardii</i>	8
Figure 6: Relations entre métabolisme secondaire et métabolisme primaire.....	10
Figure 7: La voie de shikimate.....	14
Figure 8: Structures de l'enchaînement benzo- γ -pyrone.....	17
Figure 9: La biosynthèse des flavonoïdes.....	18
Figure 10: <i>Prunus cerasifera 'Pissardii'</i>	24
Figure 11: protocole de screening phytochimique réalisé sur les feuilles.....	25
Figure 12: protocole de préparation des extraits éthanoliques et méthanoliques.....	26
Figure 13: Séparation des flavonoïdes par les partitions entre solvants (extrait éthanolique).....	27
Figure 14: Séparation des flavonoïdes par les partitions entre solvants (extrait méthanolique).....	28
Figure 15: Schéma de l'analyse CCM des flavonoides des extraits des feuilles de <i>Prunus cerasifera 'Pissardii'</i>	30
Figure 16: Protocole du test de l'activité antibactérienne des extraits (Techniques des disques).....	32
Figure 17: Protocole du test de l'activité antibactérienne des extraits (Techniques des puits).....	33
Figure 18: Résultats des tests du criblage des flavonoïdes dans l'extrait des feuilles.....	34

Figure 19: Détection visible du chromatogramme des différentes phases des extraits brutes des feuilles chez <i>Prunus cerasifera pissardii</i>	35
Figure 20: Chromatographie des différentes phases des extraits brutes des feuilles chez <i>Prunus cerasifera pissardii</i> révélé sous UV (254).....	36
Figure 21: Aspects d'inhibition des souches bactériennes par l'extrait brut des feuilles <i>P. pissardii</i> (Technique des disques).....	39
Figure 22: Aspects d'inhibition des souches bactériennes par l'extrait brut des feuilles de <i>P. pissardii</i> (Technique des puits).....	39
Figure 23: Diamètre de zone d'inhibition des fractions de l'extrait brute contre les différentes bactéries.....	40

Liste des Tableaux

Tableau 1:	Sous familles des Rosacées.....	3
Tableau 2:	Principaux produits du métabolisme secondaires.....	12
Tableau 3:	Principales classes de composés phénoliques.....	15
Tableau 4:	Principales classes des flavonoïdes.....	19
Tableau 5:	Quelques sources naturelles de flavonoïdes.....	20
Tableau 6:	les résultats du criblage des flavonoïdes dans les feuilles de <i>Prunus cerasifera</i> 'Pissardii'.....	34
Tableau 7:	Résultats de la séparation par CCM des différentes fractions des extraits EtOH et MeOH des feuilles du <i>Prunus cerasifera pissardii</i>	37
Tableau 8:	Diamètre de zone d'inhibition pour les différentes fractions séparées.....	40

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

PARTIE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Introduction générale :

Des les débuts de son histoire, l'homme est en contact très étroit avec le monde végétal. En tous premier lieu pour se nourrir, bien sur, mais également pour se loger se vêtir, fabriquer des armes. Par la suite, il apprend à utiliser les plantes pour se soigner faire des tentures (Reynaud, 2011).

Les plantes sont capables de produire une grande diversité de produits ne participant pas à leur métabolisme de base, mais représentant plutôt des produits du métabolisme secondaire.

Nous pouvons citer comme exemple les alcaloïdes, les terpènes, les stéroïdes, les polyphénols, les huiles essentielles etc.

Parmi ces composés, les polyphénols représentent l'un des groupes les plus importants du fait qu'ils aient une faible toxicité et de nombreux avantages biologiques, notamment thérapeutiques, pharmaceutiques, cosmétologiques et alimentaires

Ces dernières années, nous avons assisté à un grand regain des phytothérapeutes pour les produits riches en polyphénols, et principalement en flavonoïdes. Ces derniers ont d'ailleurs montré qu'ils avaient des propriétés biologiques très importantes et très vastes.

Une plante ornementale est une plante cultivée ses qualités ornementales comme la couleur des feuilles et des fleurs plutôt que pour sa valeur commerciale ou économique. Ces plantes fabriquent des substances protectrices qui filtrent les photons, absorbent une partie de la lumière - plus ou moins selon leur nature- et réfléchissent le reste du spectre, c'est lui que captent nos yeux et le décodent sous forme de couleur (Van bol, 2007).

L'objectif de notre travail vise à démontrer la richesse d'une plantes ornementale en flavonoïdes et à déterminer leurs propriétés biologiques. Pour cela notre étude englobe deux aspects, dont le premier est d'ordre phytochimique basé principalement sur l'extraction des flavonoïdes. Il porte également sur le diagnostic et la séparation des principaux flavonoïdes par l'utilisation de la technique de chromatographie sur couche mince (CCM).

Le second aspect est consacré à une évaluation de l'activité antibactérienne des flavonoïdes contre *Escherichia coli*, *Staphylococcus sp* et *Bacillus sp* pouvant être pathogènes pour l'homme.

Chapitre I- Description de la plante :

I-1-La famille des Rosacées :

Les *Rosaceae* (Rosacées) sont une famille botanique qui réunit environ 3 370 espèces réparties en plus d'une centaine de genres. Cette famille est répartie sur toute la surface du globe.

La famille Rosacées doit son nom au Rosier, les pétales de quelques espèces servent à préparer l'essence de rose. De nombreux genres ont des fruits comestibles : les Prunes, les Pêches, les Cerises et les Abricots les Framboises, les Fraises, les Amandes... (Jodra, 2008).

La famille des Rosacées, est une famille hétérogènes qui comprend des herbes (fraisier : *Fragaria vesca...*), des arbustes (rosier comme l'églantier :*Rosa caina...*) ou des arbres (cerisier : *Prunus vulgaris*, pommier : *Malus communis...*) (Mayer et al., 2008).

Les Rosacées montrent un feuillage possédant des stipules (petites excroissances en forme de feuilles à la base du pétiole), avec des feuilles alternées et pennées, simples ou composées.

L'inflorescence varie, Les fleurs sont isolées, réunit en grappes, en épis, en corymbes...

La fleur à une organisation assez constante, c'est une fleur cyclique, actinomorphe, pentamère, dialypétale, hypogyne (parfois péri- ou épigyne) d'une formule : $5S+5P+n \times 5E+ 5C$ (Dupont et Guignard, 2007).

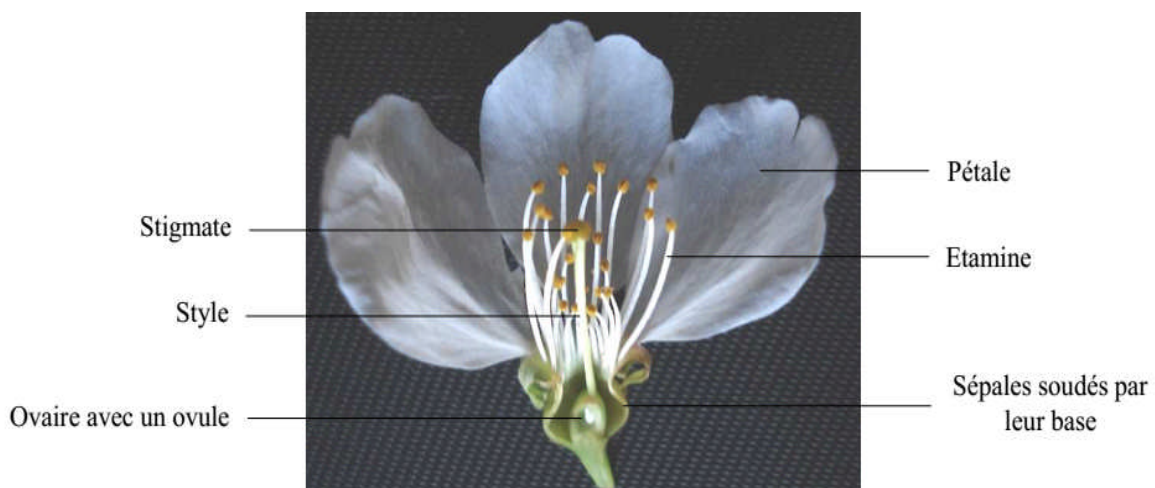


Figure 1 : Coupe longitudinale d'une fleur de la famille des Rosacées

La Fleur portée sur un réceptacle en forme de coupe; celle-ci se creuse tellement dans quelques genres, qu'elle ressemble à une bouteille. Dans d'autres genres ce réceptacle se relève au

centre en une sorte de bosse. Elle est composée d'un calice persistant à 5 sépales libres ou soudés en tubes dans une étendue variable. Ces sépales sont quelquefois accompagnés de stipules se soudant deux à deux et constituant un calicule dont les divisions alternent avec celles du calice. La corolle est composée de 5 pétales, plus rarement 4, et insérés sur un disque plus ou moins épais. A l'encontre du calice, les pièces de la corolle sont caduques. L'androcée compte un nombre indéfini d'étamines libres et implantées sur le même disque que la corolle. Leurs anthères sont biloculaires et introrsées et s'ouvrent par deux fentes longitudinales. Le gynécée est formé de carpelles libres en nombre variable ou de carpelles soudés donnant naissance à un ovaire à plusieurs loges (Jodra, 2008). L'embryon droit n'a pas d'albumen et sa radicule est dirigée vers le hile (Jodra, 2008).

Les fruits sont très divers : akènes (fraisier), drupes (cerise) ou follicules (reine des prés). Le réceptacle peut grossir et contribuer à la formation d'un fruit complexe (rosier : le cynorrhodon).

Dans la classification actuelle, dont on donne un tableau ci-dessous, les Rosacées forment une famille de l'ordre des Rosales. On y distingue des sous-familles, généralement subdivisées en tribus, rassemblant un peu plus d'une centaine de genres, entre lesquels se distribuent les espèces. C'est la disposition très variable du pistil et du fruit des différentes plantes de la famille des Rosacées qui sert de principal critère pour les subdivisions (Jodra, 2008).

Tableau 1 : Sous familles des Rosacées

<p>Rosoïdées Nombreux carpelles et nombreux akènes enfermés dans une masse rouge; ovaire libre.</p>	<p><i>Rosa</i> (ce genre, qui comprend les Rosiers proprement dits et l'églantier (rosier sauvage) rassemble plus d'une centaine d'espèces; feuilles composées); <i>Hulthemia</i> (ce genre se distingue du précédent seulement par ses feuilles simples)</p>
<p>Prunoïdées ou Amygdaloïdées Un carpelle biovulé; drupes.</p>	<p>Amygdaleae : <i>Amygdalus</i> (Amandier), <i>Maddenia</i>, <i>Padus</i>, <i>Prunus</i> (ce genre comprend plus de 200 espèces dont les Cerisiers et les Lauriers-cerises, les Abricotiers, les Pêchers et les Pruniers), <i>Pygeum</i>. Dans d'autres tribus : <i>Exochorda</i>, <i>Oemleria</i>, <i>Prinsepia</i></p>
<p>Potentilloïdées ou Fragaroidées Nombreux carpelles indépendants et uniovulés; ovaire libre; akènes ou drupes</p>	<p>Potentilleae (<i>Potentilla</i>, <i>Argentina</i>, <i>Chamaerhodos</i>, <i>Comarum</i>, <i>Duchesnea</i>, <i>Fragaria</i> (Fraisier), <i>Horkelia</i>, <i>Horkelliella</i>, <i>Ivesia</i>, <i>Sibbaldia</i>); Alchemilleae (<i>Alchemilla</i>, <i>Aphanes</i>); Dryadeae (<i>Dryas</i>, <i>Fallugia</i>); Geeae (<i>Geum</i> (= Benoîte), <i>Coluria</i>, <i>Novosieversia</i>, <i>Orthurus</i>, <i>Sieversia</i>, <i>Taihangia</i>, <i>Waldsteinia</i>); Purshieae (<i>Purshia</i>, <i>Chamaebatia</i>, <i>Cowania</i>); Sanguisorbeae (<i>Sanguisorba</i>, <i>Acaena</i>, <i>Agrimonia</i>, <i>Aremonia</i>, <i>Bencomia</i>,</p>

	<i>Cliffortia, Hagenia, Leucosidea, Margyricarpus, Polylophis, Sarcopoterium, Spenceria, Tetraglochin</i> Dans d'autres tribus : <i>Cercocarpus, Potaninia</i>
Maloïdées, Pyroïdées ou Pomoidées Cinq carpelles biovulés ; ovaire infère; pépins enfermés dans une masse charnue volumineuse.	Maleae (<i>Malus</i> (= Pommier), <i>Amelanchier, Aronia, Chaenomeles, Chamaemespilus, Cornus, Cydonia</i> (= Cognassier), <i>Docynia, Docyniopsis, Eriolobus, Eriobotrya, Heteromeles, Peraphyllum, Photinia, Pseudocydonia, Pyrus</i> (.= Poirier), <i>Rhaphiolepis, Sorbus</i> (= Sorbier), <i>Torminalis</i>); Crataegeae (<i>Crataegus</i> (Aubépine, Alisier), <i>Chamaemeles, Cotoneaster, Hesperomeles, Malacomeles, Mespilus</i> (= Néflier), <i>Osteomeles, Pyracantha</i> (= Buisson ardent)); Kagineckieae (<i>Kagineckia</i>); Lindleyieae (<i>Lindleya, Vauquelinia</i>)
Spiraéoïdées Petit nombre de carpelles indépendants et pluriovulés; ovaire libre; follicules	Spiraeae (<i>Spiraea</i> (= Spirée), <i>Aruncus, Kelseya, Luetkea, Pentactina, Petrophytum, Sibiraea</i>); Neillieae (<i>Neillia, Physocarpus, Stephanandra</i>); Sorbarieae (<i>Sorbaria, Chamaebatiaria</i>) Dans d'autres tribus : <i>Adenostoma, Gillenia, Spiraeanthus, Holodiscus</i> .
Dans d'autres sous-familles	<i>Coleogyne, Dichotomanthes, Filipendula, Lyonothamnus, Quillaja, Rubus</i> (Framboisiers); Kerrioïdées : Rhodotypeae (<i>Rhodotypos</i>); Kerrieae (<i>Kerria, Neviusia</i>).

I-2-Le Genre *Prunus* :

Les Pruniers sont connus de toute antiquité, l'écrivain, naturaliste Pline l'ancien (*C. Plinius Secundus*, de 23 à 79 ap. J.-C.) parle dans son livre *Histoire naturelle* de «*Ingens turba prunorum*». Le *P. domestica* a été trouvé à l'état sauvage dans toute l'Anatolie, la région au Sud du Caucase, l'Iran septentrional, en Crimée, en Grèce, et en quelques autres points du midi de l'Europe. Mais l'espèce n'y est que subspontanée, et cette demi naturalisation a commencé tout au plus en Europe depuis 2000 ans. Le *P. insititia*, (*insititia* veut dire étranger) croît à l'état spontané dans le midi de l'Europe, particulièrement dans la Turquie d'Europe, et peut-être aussi en Italie et en Espagne. On le trouve également au Sud du Caucase et dans la province de Talysch, vers la mer Caspienne. Oswald Heer géologue et naturaliste (1809-1893) a décrit des noyaux de *P. insititia* provenant des palafittes de Robenhausen (Jodra, 2008).

Le genre *Prunus* fait parties de la famille des *Rosaceae* et sous famille *Amygdaloideae* il recèle plus de 430 espèces principalement de l'hémisphère nord, le genre *Prunus* comprend aussi pêcher, cerisier, amandier, abricotier, cerisier à fleurs, merisier, bois de Sainte Lucie... Certaines espèces ont donné un grand nombre de cultivars, beaucoup se sont hybridées entre elles, engendrant des variétés presque innombrable (Choteau, 2008).

Leurs feuilles aux bords dentés ou parfois lisses, avec des stipules, sont disposées en mode alterne.

La fleur, solitaire ou géminée, ou encore en grappe pauciflore, a cinq sépales quinconciaux, s'insérant sur les bords d'un réceptacle plus ou moins concave, et une corolle imbriquée; ses étamines, au nombre de vingt en général, sont formées par un filet libre et une anthère biloculaire, introrse, à deux fentes longitudinales; l'ovaire est uniloculaire, et le placenta, dont la situation est indiquée par un sillon vertical, pariétal; les ovules, au nombre de deux, sont collatéraux, descendants, anatropes; leur micropyle est extérieur et ils sont munis d'un obturateur.

Le fruit enfin, est une drupe souvent comestible, on a distingué chez les *Prunus* deux ensembles selon que (a) le fruit est sillonné, d'aspect prumineux et les feuilles légèrement enroulées, ou (b) le fruit est non sillonné, non prumineux, glabre, globuleux, les feuilles sont pliées et le bourgeon terminal saillant. Le premier ensemble compte par exemple prunier, pêcher, amandier... et le second le merisier, le laurier cerise(Choteau, 2008). Les *Prunus* ont été répartis par les spécialistes en 6 sous- genres :

-Sous-genre *Amygdalus* , les amandes et les pêches : bourgeons axillaires en groupes de trois (bourgeon végétatif central , deux boutons de fleurs sur les côtés) ; fleurs au début du printemps , sessile ou presque, pas sur les pousses à feuilles ; fruit avec une rainure le long d'un côté ; noyau profondément rainuré ; espèce-type : *Prunus dulcis* (amande).

-Sous-genre *Prunus* , prunes et abricots: bourgeons axillaires solitaires ; fleurs au début du printemps pétiolées, pas sur les pousses feuillues ; fruit d'une rainure le long d'un côté , le noyau rugueux ; espèce type : *Prunus domestica* (prunier)

-Sous-genre *Cerasus* , cerises : bourgeons axillaires simples ; fleurs au début du printemps en corymbes , longuement pétiolées, pas sur les pousses à feuilles ; fruits non rainurée , noyau lisse; espèce- type: *Prunus cerasus*(griottes)

-Sous-genre : *Lithocerasus* bourgeons axillaires en groupes de trois ; fleurs au début du printemps en corymbes , longuement pétiolées , pas sur les pousses à feuilles ; fruits non rainurée , noyau lisse ; espèce-type : *Prunus pumila* (Le cerisier des sables).

-Sous-genre *Padus* , des cerises d'oiseau : bourgeons axillaires unique ; fleurs dans la fin du printemps en grappes sur des rameaux feuillus , à pétiole court ; fruits non rainurée , noyau lisse ; espèce-type : *Prunus padus* (Cerisier à grappes, merisier à grappes)

-Sous-genre *Laurocerasus* , cerise lauriers : la plupart à feuilles persistantes (tous les autres sous-genres sont à feuilles caduques) ; bourgeons axillaires simples , fleurs au début du printemps en grappes , pas sur les pousses à feuilles , à pétiole court ; fruits non rainurée , noyau lisse ; espèce type : *Prunus laurocerasus* (laurier-cerise).

I-3-Description de l'espèce *PrunusCerasifera Atropurpurea* (ou *pissardii*):

I-3-1-Histoire et Origine :

Surnommé le prunier d'ornement, prunier myrobolan, cerisier à fleur prunier de pissard, Le *Prunuscerasifera Atropurpurea* ou *pissardii* est une variété horticoletrès ancienne (1880) du a une mutation du prunier myrobolan en prévenance de Tabriz (capital de l'Azerbaïdjan iranien) qui aurais été diffusé par la pépinière Crous de châtenay- Malabry en Europe à la fin du 19ème siècle (boutaud, 2003).

Le nom du genre *Prunus* vient du latin ou il désigne le prunier. *Prunus domestica* et son nom spécifique *cerasifera* vient du latin 'cerasus' qui désigne la cerise et de 'ferre' signifiant porter donc un prunier portant des cerises et le nom spécifique 'pissardii' lui fut donné par le botaniste français Élie Abel Carrière (1818-1896) en souvenir de pissard qui œuvra dans les jardins impériaux du Shah de Perse en tant que jardinier en chef et qui adressa à des pépiniéristes français des herbier et des graines notamment celles des rosiers remontants de type 'Noisette' dont l'un d'entre eux lui fut dédié *Rosa pissardi carrière* (1891) (boutaud, 2003).

I-3-2-taxonomie de l'espèce :

Regne : Plantae

S/Regne : Viridiaeplantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

S/Classe : Rosidées

Ordre : Rosales

Famille : Rosacées

S/Famille : Prunoïdées

Genre : *Prunus*

Espèce : *Prunuscerasifera Atropurpurea* (ou *pissardii*)

I-3-3-Description botanique :

Prunus cerasifera pissardii existe sous trois formes: buisson, demi-tige et haute tige, à végétation touffue, aux branches érigées partant du sol, atteint 5 m de hauteur pour une largeur de 3 m. L'aspect du bois est de couleur rouge brun, marqué par des bandes luisantes.



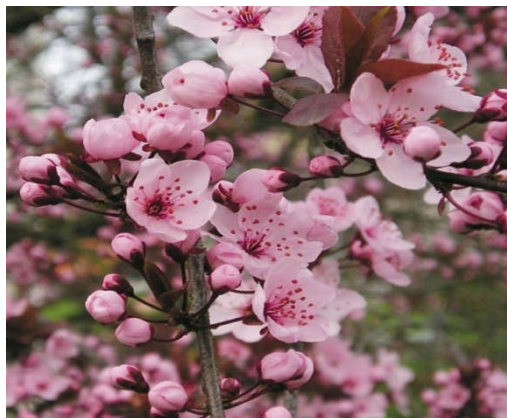
Figure2: Aspect général de *Prunus cerasifera pissardii*.

Le feuillage : caduc, alterne et de forme ovale au contour denticulé et nervure pennée. Il mesure 5 à 7 cm de long et est de couleur rouge au débourrement, puis brun rouge foncé, à pourpre foncé par la suite, qui ne se décolore pas en été.



Figure3 : Feuilles de *Prunus cerasifera pissardii*

La floraison est juste avant les feuilles de mars jusqu'à avril, sur le bois de l'année précédente nombreuses fleurs isolées ou en petits groupes, roses en bouton puis blanches de 2 à 3 cm de diamètre hermaphrodites à 5 pétales arrondis, nombreuse étamine et un style.



Début du débourrement



Fin du débourrement

Figure 4 : Les fleurs de *Prunus cerasifera pissardii*

La fructification se déroule en août, prunes globuleuses, de 3 cm de diamètre, couleur rouge sang. La fructification est variable selon les années, mais elle est généralement peu abondante. Les prunes sont comestibles, juteuses et de saveur assez acidulée. Elles sont assez attractives pour les oiseaux.



Figure 5 : Fruit de *Prunus cerasifera pissardii*

I-3-4-Catégories et variétés :

-*Prunus cerasifera* (Ehr) surnommé le Myrobolan est originaire d'Europe de Thessalie et du Caucase. L'arbre est grand et touffu, à écorces vertes est très florifère mais coulard. Ses petites fleurs blanc pur apparaissent début mars. Les fruits, en forme de cerise, sont jaunes verdâtres, pâle et luisants en été puis finalement vermeille parsemé de petits points blanchâtres où rouge selon la forme. Le Myrobolan qui mûrit dès la fin de juin, présente une chair moelleuse d'une agréable acidité. Vigoureux, il est utilisé comme porte greffe (Dupard, 2004).

-*Prunus cerasifera*'Nigra' est une variété très proche de 'Pissardii' qui se distingue de ce lui si par ses fleurs roses et son feuillage plus foncé et plus grand (Boutaud, 2003).

-*Prunus x blireana* est un hybride issu de 'Pissardii' et de *P. mume* 'Alphandii', moins vigoureux (3 à 4 m), port souple, feuilles rouges devenant vert sombre, fleurs roses doubles (Boutaud, 2003).

I-3-5-Culture :

Les *Prunus* peuvent être multipliés par semis, mais on a peu de chances d'obtenir la variété ayant fourni la graine, et particulièrement dans le cas de variétés fruitières, la seule méthode viable est le Greffage en tête qui se déroule courant mars.

Greffé sur l'espèce type (*Prunus cerasifera* Ehr), il a comme lui, la capacité de supporter tous les sols (superficiels, compacts, légers, acides, basiques, secs, frais et même gorgés d'eau de façon temporaire) (Boutaud, 2003).

I-3-6-Utilisation :

Le *Prunus Cerasifera pissardii* ou prunier d'ornement a une croissance rapide et peut vivre de 40 à 80 ans. Il est généralement déjà formé en pépinière. Il peut être planté en alignement, en isolé, en partie haute de massif ou de haie fleurie pour garnir les jardins ou les places publiques.

Chapitre II- Métabolisme secondaire

II-1-Généralité :

Une des particularités des végétaux est de former de nombreux composés dont le rôle au niveau de la plante n'est pas encore parfaitement élucidé.

Le fait que beaucoup de ces composés ne se rencontrent pas chez toutes les espèces montre qu'ils n'entre pas dans le métabolisme générale (primaire) : se sont des métabolites secondaire, qui n'exerce aucune fonction directe au niveau des activités fondamentale de l'organisme végétale (croissance, développement, reproduction...) mais peuvent jouer différent rôle pour la survie du végétale lui-même, rôle de défense, rôle de résistance. (Merghem , 2009)

Les composés du Métabolisme secondaire sont classés en 3 grandes classes :

- Les alcaloïdes et composés azotés
- Les composés phénoliques
- Les composés terpéniques

Ces molécules très diversifiées, illustrent l'extraordinaire richesse métabolique de plantes supérieures.

C'est richesses en molécules très diversifiées qui permet les tentatives d'une classification chimique des végétaux ou chimiotaxonomie. Cette classification consiste à établir les corrélations entre la présence de certains types de métabolite secondaire et les entités taxonomique. (Merghem , 2009).

II-2- Relations entre métabolisme secondaire et métabolisme primaire :

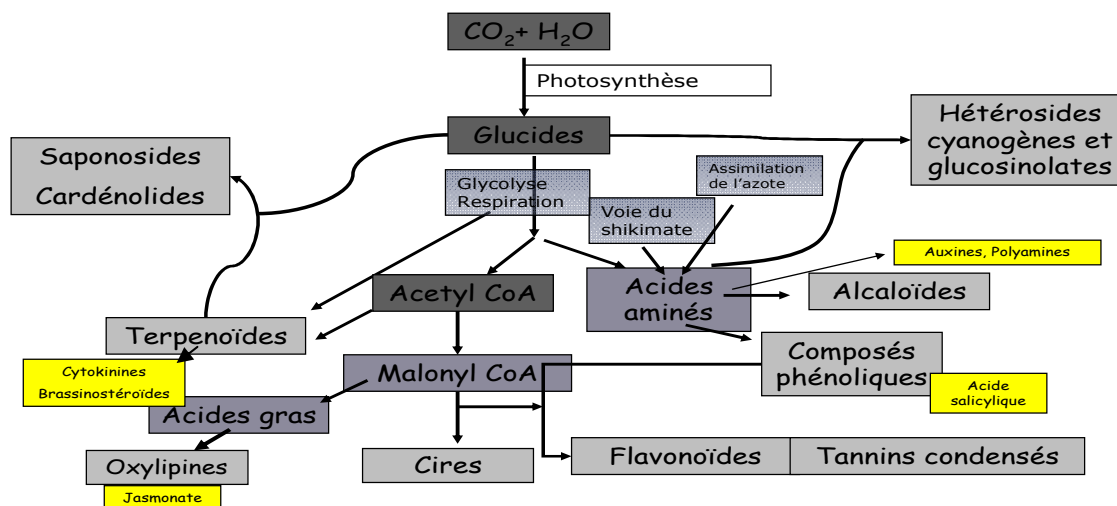


Figure 6: Relations entre métabolisme secondaire et métabolisme primaire (Gravot, 2009)

II-3-Rôle biologiques des Métabolites secondaires :

- a) Défense contre les herbivores (insectes, vertébrés...).
- b) Défense contre les moisissures et les bactéries.
- c) Défense contre les virus.
- d) Défense contre autres plantes qui rivalisent pour lumière, eau et éléments nutritifs (ex : allélopathie)
- e) composés du Signal attirer pollinisateur et les animaux disperser les graines (disséminateur).
- f) Signaux pour communication entre plantes et micro-organismes symbiotique (Rhizobium fixe N ou moisissures du mycorhize)
- g) la Protection contre les rayons UV ou autre stress physique
- h) a Sélectionné des fonctions physiologiques (Wink , 2010)

II-4-Métabolites secondaires hydrophyliques :

Se trouvent dans la vacuole (beaucoup alcaloïdes, NPAAAs, saponines, glycosides, flavonoïdes, anthocyanines, tannins, cyanogènes, glucosinolates, amines), les laticifères(quelques alcaloïdes (Lobelia, Papaver, Chelidonium), cyanogènes, NPAAAs, cardiac glycosides (Nerium), apoplaste et paroi cellulaire (tannins)

II-5- Métabolites secondaires lyophiliques : On les trouve dans la cuticule (cires, flavonoïdes lipophile, terpénoïdes), le trichome (monoterpènes, sesquiterpènes; quinones), les laticifères (Polyterpènes, diterpènes (phorbol esters), les huiles des cellules (Anthraquinone and naphthodianthrone (hypericin), terpénoïdes) et la membrane des plastide (ubiquinone, tetraterpènes) (Wink , 2010).

II-6- Principaux métabolites secondaires :

Le tableau ci-dessous résume les principaux métabolites secondaires et leur distribution chez les plantes

Tableau 2: Principaux produits du métabolisme secondaires (Merghem , 2009)

classe	Nombre de structure	Distribution
Composés azotés		
alcaloïde	5500	Angiosperme, feuille, fruit, racine
amine	100	Angiosperme, fleur
Aminoacide non protéique	400	graines
Glucoside cyanogénique	30	Feuille et fruit
glucosinate	75	crucifères
terpénoides		
monoterpènes	1000	Huiles essentielles
sesquiterpènes	600	Composées, angiosperme
diterpènes	1000	Latex, résines
saponine	500	Feuille, fleur, fruit
caroténoïdes	500	apoginacées
Composés phénoliques		
Phénols simples	200	Feuilles et tissus
flavonoïdes	1000	angiospermes
proanthocyanidines		gymnospermes
quinones	500	rhamnacées

II-6-1- Composés phénoliques :

II-6-1-1- Définition :

Les polyphénols sont des molécules synthétisées par les végétaux lors du métabolisme secondaire pour se défendre contre les agressions environnementales. Ils sont localisés dans différentes parties des plantes selon l'espèce végétale et le groupe polyphénolique considérés.

Comme définition, nous pouvons dire que les polyphénols sont des composés phénoliques hydrosolubles, de poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Dalton, et ayant, outre les propriétés habituelles des phénols, la capacité de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et autres protéines (Dangles *et al.*, 1992, Hagerman *et al.*, 1998, Sarni-Manchado et Cheynier, 2006 ; in Akroum, 2011) Les composés de ce groupe important de métabolisme secondaire végétaux se reconnaissent à la présence d'un ou plusieurs groupes hydroxyle, modifiés ou non, attachés à une structure aromatique. Souvent les composés phénoliques se présentent liés à des glucosides surtout lorsqu'ils sont en solution suc vacuolaire. (Gerhard, 1993)

II-6-1-2- Biosynthèse :

a-La voie de l'acide shikimique :

L'acide cinnamique se forme par l'intermédiaire de l'acide shikimique (nom provient de la plante japonaise shikimi-no-ki, l'anis étoilé, *illicium anisatum* d'où il a été isolé la première fois) autrement dit par la voie shikimate cette voie est responsable de la synthèse des acides aminés ; parmi ceux-ci la phénylalanine sert directement de précurseur à l'acide cinnamique. À partir du phosphoénolpyruvate et de l'érythrose 4-phosphate, une aldolcondensation, produisant un corps en C₇, donne naissance au 5-déshydroquinone respectivement au quinate, tous deux dérivés de cyclohexane. De là se détache une voie de synthèse vers les acides phénylcarboxyliques qui est plutôt caractéristique des micro-organismes. Déshydratation conduit au Déshydroshikimate, qui est réduit en shikimate à l'aide de NADPH+H⁺. Par phosphorylation et réaction avec du phosphoénolpyruvate en position 3, il se forme d'abord un énoéthère actif, chorismate. À cette étape, les aiguillages sont en place pour diverses voies : l'une d'entre elles conduit par l'intermédiaire de l'antranilate à l'acide aromatique tryptophane, à partir duquel se forme l'acide indoleacétique ; la deuxième voie qui nous intéresse ici produit l'acide cinnamique respectivement l'acide *p*-coumarique comme premier dérivé on voit sur le schéma que l'embranchement se situe au niveau du préphénate.

Actuellement, on considère la voie suivante comme prédominante chez les plantes vertes : préphénate est transmise en arognate, qui est ensuite transférée en phénylalanine sous l'action d'une arognate déshydratase (décarboxylante) ou en tyrosine sous l'action d'une NADP arognate déshydrogénase (décarboxylante). (Gerhard R, 1993)

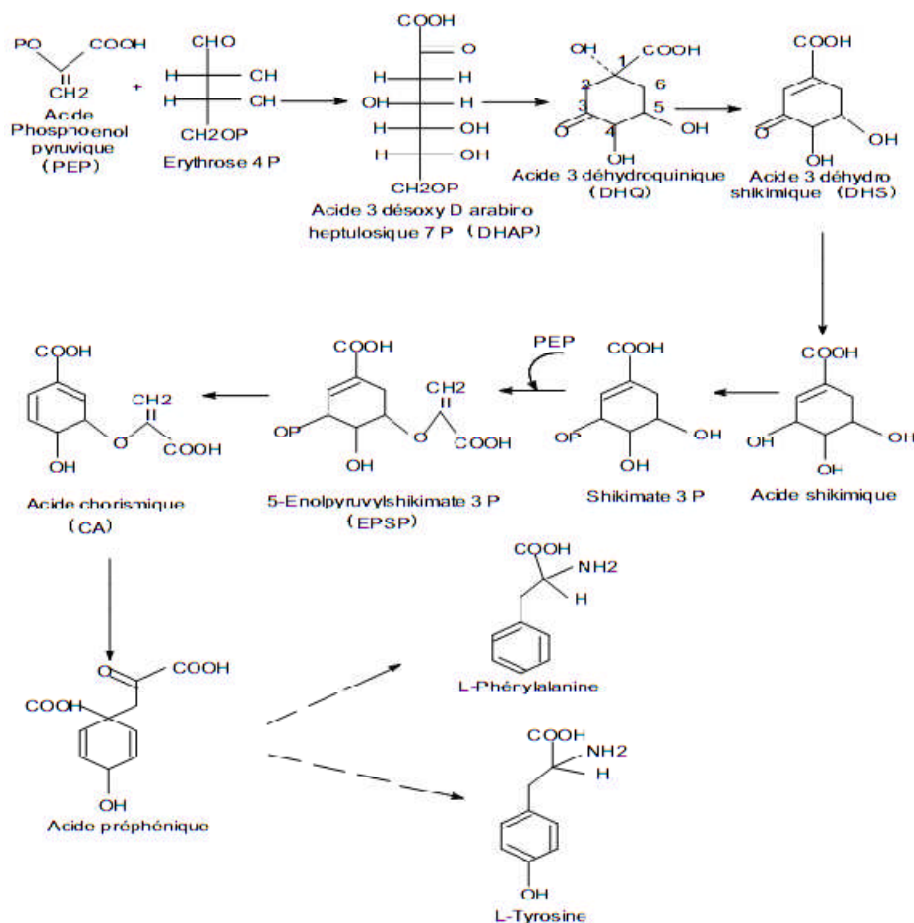


Figure 7: La voie de Shikimate (Floss, 1997 in Zeghad, 2009)

b-La voie de l'acétate malonate :

Les systèmes aromatiques sont aussi formés par condensation répétée d'unités acétate. L'hypothèse initiale de la voie acétate a surtout été confirmée chez les micro-organismes ; elle est à l'origine d'un large éventail de composés aromatiques.

L'autre dénomination voie acétate malonate rappelle que c'est la manolyl-CoA qui fournit, par décarboxylation, les unités en C₂ pour allonger le complexe acyl-CoA, comme dans la synthèse des acides gras, et ceci en trois étapes successive. L'acide polycétonique formé se referme en un cycle portant une chaîne latérale. Le cycle A de la structure de la flavane est construit sur ce principe ; il est ensuite complété, à l'aide de dérivés de l'aide cinnamique, par un hétérocycle central, puis un hétérocycle aromatique (cycle B). Ainsi, les deux voies responsables

de la biosynthèse des composés phénoliques se rejoignent, formant un nœud important dans les réseaux du métabolite secondaire des plantes supérieures. (Gerhard, 1993)

II-6-1-3- Principales classes des polyphénols :

Une classification de ces substances a été proposée par Harborne (1980). On peut distinguer les différentes classes des polyphénols en se basant d'une part, sur le nombre d'atomes constitutifs et d'autre part, sur la structure de squelette de base.

Deux principales classes sont largement répandues :

- Les acides phénoliques (acides hydroxybenzoïques, acides hydroxycinnamiques),
- Les flavonoïdes.
- Les tanins et lignines

Plus rares, les coumarines, les stilbènes ne seront pas décrits en détail ici. (Nkhili, 2009)

Tableau 3: Principales classes de composés phénoliques (Macheix et al, 2005).

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine
C6	Phénols simples	Catéchol	
C6-C1	Acides hydroxybenzoïques	p-hydroxybenzoïque	Epices, fraise
C6-C3	Acides hydroxycinnamiques	Acide caféïque, acide férulique	Pomme de terre, Pomme
	Coumarines	Scopolétine	citrus
C6-C4	Naphtoquinones	Juglone	Noix
C6-C2-C6	Stilbènes	Resvératrol	Vigne
C6-C3-C6	Flavonoïdes		
	flavonols	Kaempferol, Quercétine	Fruit, légumes, fleurs
	anthocyanes	Cyanidine, pélagonidine	Fleurs, Fruits rouges
	flavanols	Catéchine, épicatechine	Pomme, raisin
	flavanones	naringénine	citrus
	isoflavonoïdes	daidzéine	soja, pois
(C6-C3)2	Lignanes	Pinorésinol	Pin
(C6-C3)n	Lignines		Bois, noyau des fruits
(C ₁₅)n	Tanins		raisin, kaki

II-6-1-3-1- Les acides phénoliques simples :

Les acides phénoliques peuvent être divisés en deux groupes : acides benzoïques et acides cinnamiques et dérivés.

II-6-1-3-2- Les acides benzoïques :

Ont sept atomes du carbone (C6-C1) et il est les acides phénoliques les plus simples ont trouvé dans la nature.

II-6-1-3-3- Les acides cinnamiques :

Ont neuf atomes du carbone (C6-C3), mais le plus trouvé communément dans les légumes est avec sept.

Ces substances sont caractérisées en ayant un cycle du benzénique, un groupe carboxylique et un hydroxyle ou plus et/ou groupes du méthoxyl dans la molécule (Giada , 2013)

II-6-2- Les coumarines

Comme l'autre phenylpropanoïdes, les coumarines constituent une classe de métabolites secondaires des plantes dérivés d'acide cinnamique par cyclisation de la chaîne latérale de l'acide *o*-coumarique. (Giada, 2013)

Ce groupe peut être trouvé libre dans la nature ou à la forme combiné avec les sucres comme l'hétérosides et glycosides dans beaucoup de familles du dicotyledones, y compris l'Apiaceae, Asteraceae, Fabaceae, Moraceae, Rosaceae, Rubiaceae, et Solanacée. Les coumarines peuvent être classées en :

-hydroxycoumarins simple (umbelliférone, esculetin, et scopoletin)

-furanocoumarins (bergaptène)

-Le pyranocoumarins (calanolide B). (Lattanzio V, 2013)

II-6-3- Les flavonoïdes :

II-6-3-1- Généralités :

On dit d'un très grand nombre de substances naturelles qu'elles sont des flavonoïdes ; ce sont toutes des composés appartenant à la famille des polyphénols ; elles constituent les pigments de la plupart des végétaux et interviennent dans la coloration des feuilles, des fleurs, des fruits.

À l'état naturel on trouve très souvent les flavonoïdes sous forme d'hétérosides, une ou plusieurs de leurs fonctions phénols sont alors glycosylées (les oses étant le glucose, le galactose, le rhamnose ou l'arabinose). La partie autre que l'ose est appelée aglycone.

Les flavonoïdes constituent un groupe de plus de 6000 composés naturels qui sont quasiment universels chez les plantes vasculaires. Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux. (Ghedira , 2005)

A l'état naturel on trouve très souvent les flavonoïdes sous forme d'hétérosides, une ou plusieurs de leurs fonctions phénols sont alors glycosylées (les oses étant le glucose, le galactose, le rhamnose ou l'arabinose). La partie autre que l'ose est appelée aglycone. (Gomez , 2014)

Les flavonoïdes sont rencontrés dans les fruits (notamment du genre Citrus où ils Représentent jusqu'à 1% des fruits frais) et les légumes. Des boissons telles que le vin rouge, le thé, le café et la bière en contiennent également des quantités importantes. Les flavonoïdes sont retrouvés également dans plusieurs plantes médicinales. Des remèdes à base de plantes renfermant des flavonoïdes ont été (et sont) utilisés en médecine traditionnelle de par le monde.

Les travaux relatifs aux flavonoïdes se sont multipliés depuis la découverte du «French paradox», correspondant à un bas taux de mortalité cardiovasculaire observé chez des populations méditerranéennes associant une consommation de vin rouge à une prise importante de graisses saturées. (Ghedira , 2005)

II-6-3-2- Structure :

Tous les flavonoïdes dérivent de l'enchaînement benzo- γ -pyrone et peuvent être classés selon la nature des différents substituants présents sur les cycles de la molécule et du degré de saturation du squelette benzo- γ -pyrone. (Ghedira , 2005)

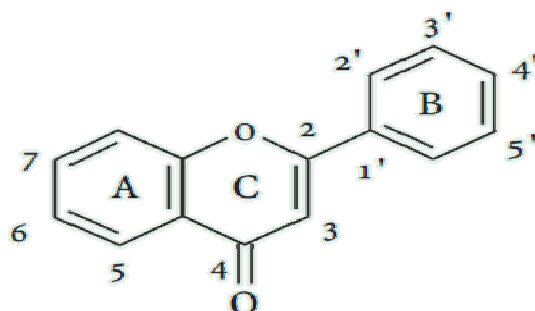


Figure 8: Structures de l'enchaînement benzo- γ -pyrone(Ghedira K, 2005)

Les flavonoïdes au sens strict sont des composés dont la substitution par un noyau benzénique se fait en position 2. Les composés présentant une substitution en position 3 sont désignés par le terme isoflavonoïdes. (Ghedira, 2005).

II-6-3-3- La biosynthèse des flavonoïdes

Leur biosynthèse se fait à partir d'un précurseur commun, la 4,2', 4', 6' - tétrahydroxychalcone. (figure 9)

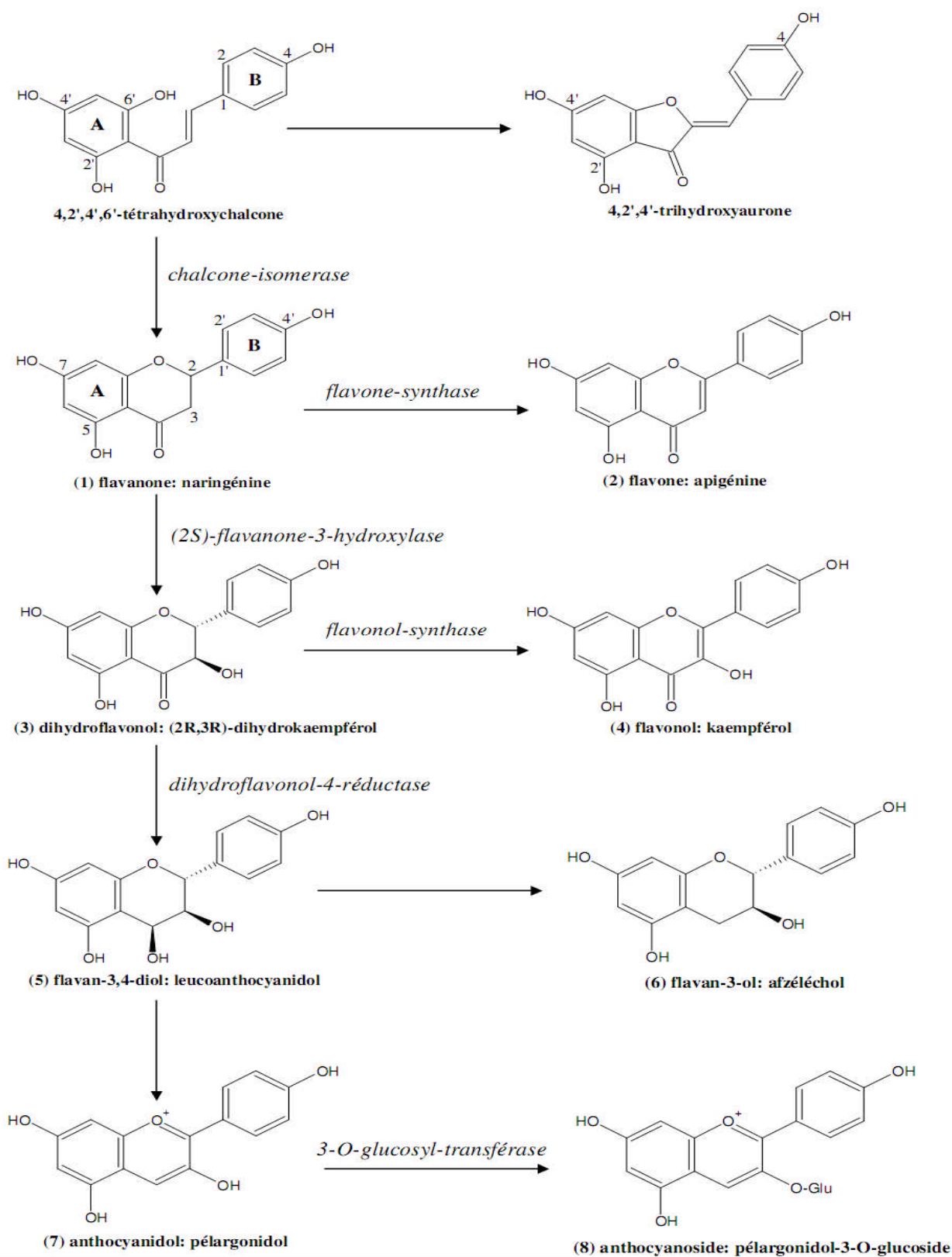
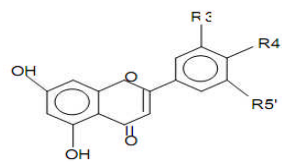
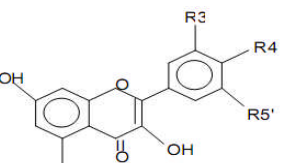
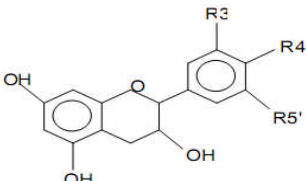
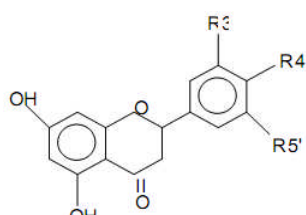
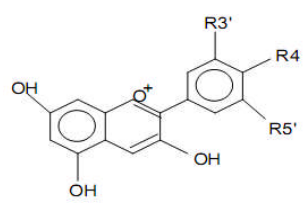
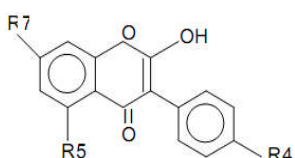


Figure 9 : La biosynthèse des flavonoïdes (Bruneton, 1999 in Marfak , 2003)

II-6-3-4- Principales classes des flavonoïdes :

Tableau 4: Principales classes des flavonoïdes (Narayana *et al.*, 2001 ; W- Erdman *et al.*, 2007 in Zeghad , 2009).

classes	Structures chimiques	R3'	R4'	R5'	exemple
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH3	H	Diosmétine
Flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myrecétine
Flavanols		OH	OH	H	Catéchine
Flavanones		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Anthocyanidines		H	OH	H	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine
Isoflavones		R5	R7	R4'	
		OH	OH	OH	Genisteine
		H	O-Glu	OH	Daidezine

II-6-3-5- Distribution et localisation des flavonoïdes :

Certaines classes de flavonoïdes sont présentes exclusivement chez certains végétaux, on trouvera par exemple, les flavanones dans les agrumes, les isoflavones dans le soja, les anthocyanes et les flavonols ont eux une large distribution dans les fruits et les légumes tandis que les chalcones se retrouvent plus fréquemment dans les pétales des fleurs, sont considérés comme des pigments naturels au même titre que les chlorophylles et les caroténoïdes (Lahouel, 2005, Piquemal, 2008 in Zeghad , 2009)

Tableau 5: Quelques sources naturelles de flavonoïdes (Ghedira , 2005)

Flavonoïde	Source : produits alimentaires et plantes médicinales
Flavones	
Apigénine	Apium graveolens, Passiflora incarnata, Petroselinum sativum
Flavones glycosylés	
Baicaline	Scutellaria baicalensis
Flavonols	
Quercétine	Allium cepa, Crataegus cuneata, Ginkgo biloba, Glycyrrhiza glabra, Morus alba, Olea europea, Solanum lycopersicum, Thea sinensis, Vaccinium macrocarpon, Vitis vinifera, Pueraria thumbergiana
Kaempférol	ichorea endivia, Ginkgo biloba, Raphanus sativus, Thea sinensis, Vitis vinifera
Myricétine	Thea sinensis, Vaccinium macrocarpon, Vitis vinifera
Flavonols glycosylés	
Rutine (rutoside)	Eucalyptus macrorrhyncha, Fagopyrum esculentum, Stellaria media, Sophora japonica
Flavan-3-ols	
Catéchine	Thea sinensis, Vitis vinifera
Flavanones	
Naringénine	fruits du genre Citrus (sp.aurantium, limon, etc.)
Isoflavones	
Génistéine	Soya hispida, Stellaria media, Pueraria lobata, Sophora japonica

II-6-3-6- Rôle des flavonoïdes dans la plante :

Les flavonoïdes pourraient jouer un rôle dans les chaînes d'oxydo-réduction et modifier certaines réactions concernant la croissance, la respiration, la morphogénèse, et la lignification.

Les flavonoïdes dont l'absorption UV est importante, protègent les plantes vis-à-vis des rayonnements nocifs.

Certains flavonoïdes ont des propriétés fongicides et insecticides.

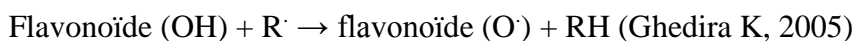
Au niveau des feuilles et fleurs, les flavonoïdes ont un rôle attractif pour les abeilles ou répulsif sur les insectes herbivores. (Merghem, 2009)

Les flavonoïdes aussi servent comme signaux pour les interactions de la plante avec les symbiotes. Flavones et les flavonols sont émis comme substances du signal de racines légumineuses dans l'ordonnée d'induire dans *Rhizobia* l'expression des gènes exigée pour la nodulation (Heldt, 2004)

II-6-3-7- Activités biologiques des flavonoïdes :

a- Propriétés antioxydantes et piègeurs de radicaux libres

La propriété des flavonoïdes la mieux décrite est leur activité antioxydante et leur capacité à piéger les radicaux libres : radicaux hydroxyles ($\text{OH}\cdot$), anions superoxydes (O_2^-) et radicaux peroxylipidiques, selon la réaction suivante:



b- Propriétés inhibitrices d'enzymes :

Les flavonoïdes sont des inhibiteurs enzymatiques à l'égard de l'aldose réductase, de la phospholipase A2 et des enzymes de l'inflammation : la cyclo-oxygénase et la lipo-oxygénase.

c- Effets protecteurs vasculaires :

Les flavonoïdes agissent sur les vaisseaux sanguins sous forme d'activité vitaminique «P». Cette activité intervient dans le maintien d'une perméabilité vasculaire normale. Ils sont, de ce fait, utilisés dans certains états pathologiques caractérisés par un défaut affectant la perméabilité vasculaire. Les effets de l'O- β -hydroxyéthyl rutoside (HR) ont été étudiés chez des patients présentant une insuffisance veineuse chronique : un traitement à base de HR a permis de restaurer les paramètres hémo-rhéologiques altérés. D'autres flavonoïdes sont responsables d'une augmentation de la résistance des capillaires. Cette activité serait en rapport avec les effets de certains flavonoïdes sur les plaquettes, les leucocytes et sur les enzymes intervenant dans la coagulation sanguine.

d- Propriétés antihépatotoxiques :

Des flavonoïdes issus de *Silybum marianum* (chardon marie) ont été utilisés depuis des siècles en médecine traditionnelle dans le traitement des affections hépatiques. Les principes actifs de l'extrait sont constitués d'un mélange complexe (constitué de composés de type flavolignane et flavanone) appelé silymarine. Testée sur un modèle expérimental animal, la silymarine a montré qu'elle exerce un effet positif sur les hépatocytes intacts et sur les cellules hépatiques endommagées irréversiblement, agissant sur la membrane cellulaire, prévenant l'entrée des substances toxiques, et qu'elle stimule la capacité régénérative des cellules hépatiques après hépatectomie partielle. L'activité hépatoprotectrice de la silybine, principale flavolignane rencontrée dans la silymarine, a été évaluée chez des souris intoxiquées par des doses non thérapeutiques d'acétaminophène. Ce flavonoïde s'est révélé hépatoprotecteur, mais le mécanisme d'action de cette protection n'est pas encore bien élucidé. La quercétine, issue d'*Artemisia scoparia*, a été décrite¹⁶⁶ comme possédant une activité protectrice vis-à-vis de l'hépa-totoxicité du paracétamol chez le rat et la souris.

e- Propriétés antiallergiques :

Les flavonoïdes sont également connus pour leurs effets antiallergiques. Ils agissent par inhibition des enzymes qui favorisent la libération d'histamine à partir des mastocytes et des basophiles : l'AMPC phosphodiesterase et la Ca⁺⁺ ATPase.

En outre, la quercétine exerce un puissant effet inhibiteur de la libération d'histamine à partir des mastocytes

f- Activité anti-inflammatoire :

In vitro, plusieurs flavonoïdes sont capables de modifier le métabolisme de l'acide arachidonique plaquettaire. C'est ainsi que la

myricétine et la quercétine bloquent l'action des cyclo-oxygénase et lipoxygénase à des concentrations relativement élevées. À faibles concentrations, c'est la lipoxygénase qui est inhibée préférentiellement. Certains travaux suggèrent qu'ils posséderaient une bonne activité anti-inflammatoire sans les effets indésirables de type ulcérogène. L'héspéridine, administrée par voie sous-cutanée (car inactive per os), présente une activité anti-inflammatoire significative chez le rat dont l'œdème a été induit aussi bien par la carragénine que par le dextran.

g- Activité anti-ulcérogène :

Les flavonoïdes sont capables de protéger la muqueuse gastrique contre divers agents ulcérogènes. L'hypolaétine-8- glucose, flavonoïde présent dans diverses espèces du genre *Sideritis*, présente une activité anti-ulcérogène significative. La naringine et la quercétine exercent également une activité anti-ulcérogène mise en évidence chez le rat dont l'ulcère gastrique a été

induit par l'éthanol. Il a été suggéré que la quercétine exerce ses effets cytoprotecteurs grâce à un complexe impliquant la stimulation de la prostaglandine et l'inhibition de la production de leucotriènes via la production de mucus et ses propriétés antioxydantes. Par ailleurs, il a été établi que la quercétine inhibe la croissance d'*Helicobacter pylorii* ainsi que la formation d'acide par les cellules pariétales en réponse à une stimulation par l'histamine et l'AMPc dibutyrique.

MATERIEL ET METHODES

PARTIE II: MATERIEL ET METHODES

I-Matériel végétal :

Le matériel végétal est constitué des parties aériennes (les feuilles) de *Prunus cerasifera* 'Pissardii'. Les feuilles du *Prunus cerasifera* ont été cueillies en mai 2014 à la région de Hama Bouziane. Après séchage à une température ambiante et à l'abri de la lumière solaire, afin de préserver au maximum l'intégrité des molécules, le matériel végétal de l'espèce est broyé grossièrement dans un mortier.



Figure 10:*Prunus cerasifera* 'Pissardii'

II-Criblage des flavonoïdes :

La mise en évidence des flavonoïdes peut être effectuée par des tests simples et rapides « réactions à la cyanidine » (Karumi et al. 2004, in Amirech, 2013).

Dans un premier temps on prépare l'extrait hydroalcoolique de notre matériel végétal.

10 ml d'un mélange méthanol/eau (7/3) et on l'ajoute à 1g de feuilles séchées et broyées précédemment, le rapport matériel végétal/solvant est de 10/1 (ml/g).

Après 24 h on filtre le broyat à l'aide d'un papier filtre, après on ajoute 10 ml de cyclohexane à notre filtrat pour éliminer la chlorophylle pendant 24 h, et l'extrait dépigmenté sera réparti sur 4 tubes :

Tube 1 sera comme témoin.

Dans le deuxième tube on ajoute quelques gouttes d'HCl concentré à 50% et quelques tournures de Mg (environ 0.5g) et on laisse agir pendant 5 minutes.

La coloration rouge induit la présence des flavones, coloration rouge pourpre induit la présence des flavonols et la coloration rouge violacée induit la présence des flavanones et flavanols.

Dans le troisième tube on ajoute quelques gouttes d'HCl et 1ml d'eau distillé et 1ml d'alcool isoamérique, c'est la coloration de la phase supérieure qui est prise en compte.

Dans le quatrième tubes on ajoute 0.5 ml d'HCl puis on le met dans le bain marie pendant 30 minutes. La coloration rouge implique la présence de leucoanthocyanes.

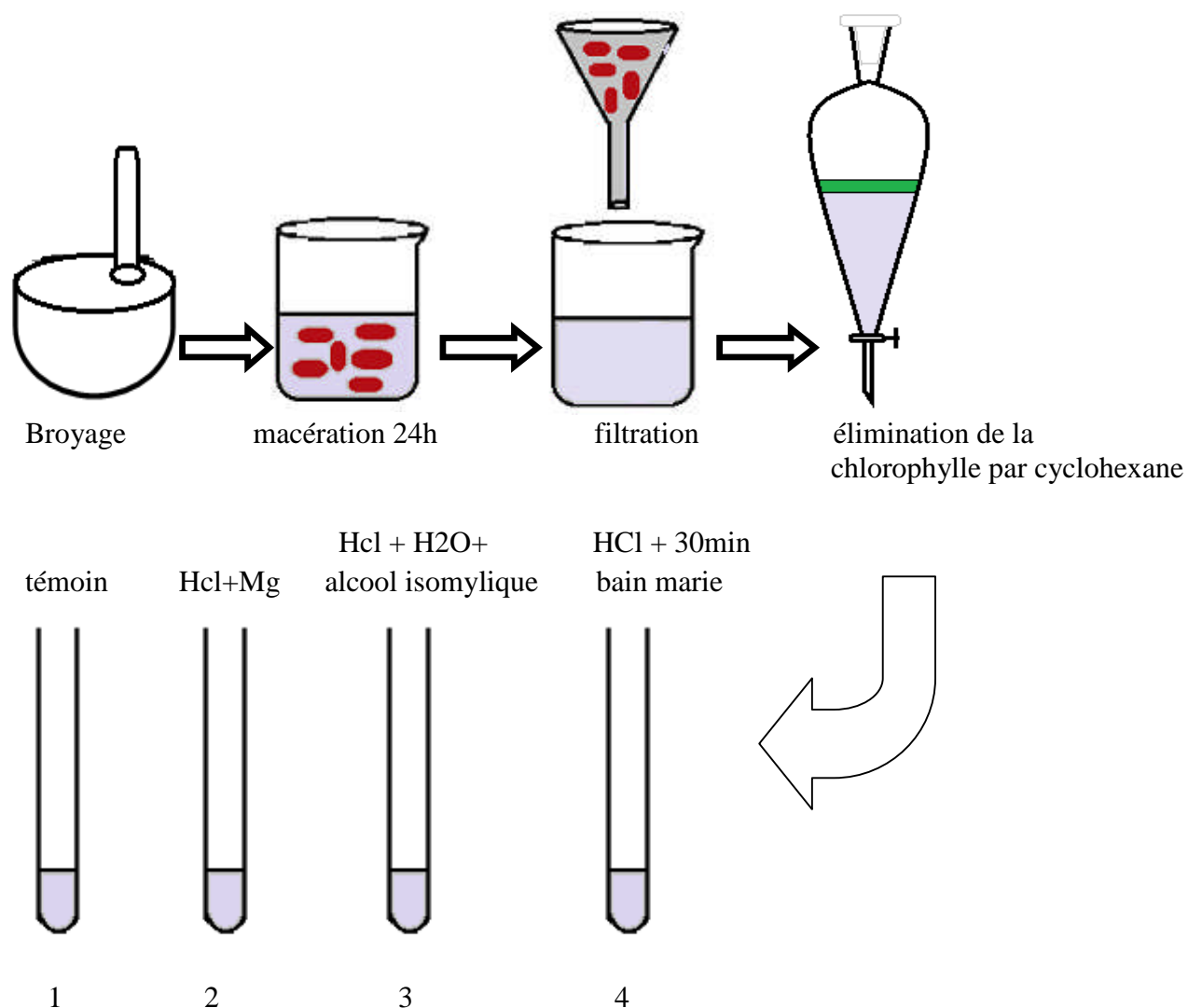


Figure 11 : protocole de screening phytochimique réalisé sur les feuilles.

III-Extraction des flavonoïdes :

III-1-Macération et préparation des extraits éthanoliques et méthanoliques :

Suivant le protocole d'extraction décrit par (Marston et Hostettmann ,2006 in Akroum, 2011), le matériel végétal broyé est soumis à une extraction par macération pendant 72 heures avec renouvellement de solvant chaque 24 heures et agitation de temps en temps dans un mélange méthanol / eau (7/3 : v/v) ou éthanol/eau (8/2 : v/v). le rapport solvant / matériel végétal utilisé était de 10 / 1 (ml / g).

- Pour 30 g le mélange EtOH/eau : 240/60 V/V
- Pour 8 g le mélange MeOH/eau : 56/24 V/V

Les macéras sont réunis puis filtrés à l'aide d'un papier filtre.

La chlorophylle est éliminée par cyclohexane. Puis l'extrait est évaporés presque à sec au moyen d'un évaporateur rotatif à 50°C. Le résidu sec est repris dans 100 ml d'eau distillée bouillante (l'intérêt de l'utilisation de l'eau distillée bouillante c'est pour assurer la récupération des composés restés accolés à la paroi du ballon de l'évaporateur), après l'extrait va subir à des affrontements par des solvants à polarité croissante.

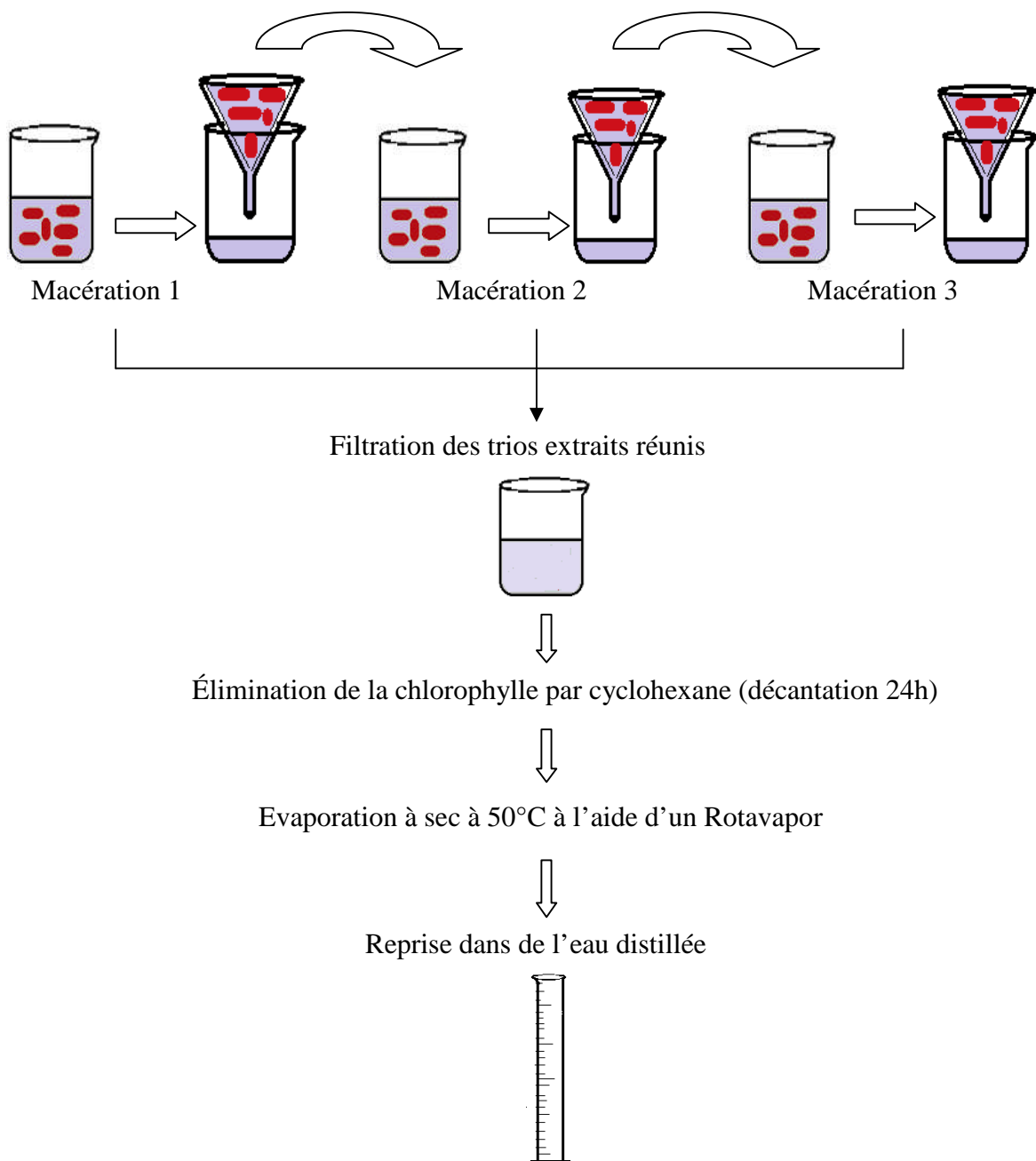


Figure 12: protocole de préparation des extraits éthanoliques et méthanoliques.

III-2- Fractionnement des extraits bruts par extraction Liquide-Liquide (ELL) :

Les extraits éthanoliques ont été ramenés à un volume de 100 ml dans de l'eau distillée. Pour chaque partition, la même quantité du solvant a été utilisée (rapport 1 / 1 : V / V). Cette étape a permis la séparation des flavonoïdes présents dans les extraits éthanoliques bruts selon leurs substitutions (figure12). L'affrontement avec l'éther de pétrole enlevait les composés non phénoliques (cette phase était ensuite rejetée). L'affrontement avec l'éther diéthylique soutirait les aglycones et avec l'acétate d'éthyle soutirait les flavonoïdes mono-glycosylés. La phase aqueuse restante contenait alors les flavonoïdes bi-glycosylés et les autres non soutirés (Markham, 1982 in Akroum, 2011). Les phases éther diéthylique, acétate d'éthyle et la phase aqueuse ont été évaporées à sec dans un rotavapor, puis reprises dans 4 à 5 ml de méthanol.

Concernant les extraits méthanoliques, l'affrontement La phase aqueuse est affrontée successivement par l'éther de pétrole, le chloroforme, le Butanol et l'acétate d'éthyle. (figure 13)

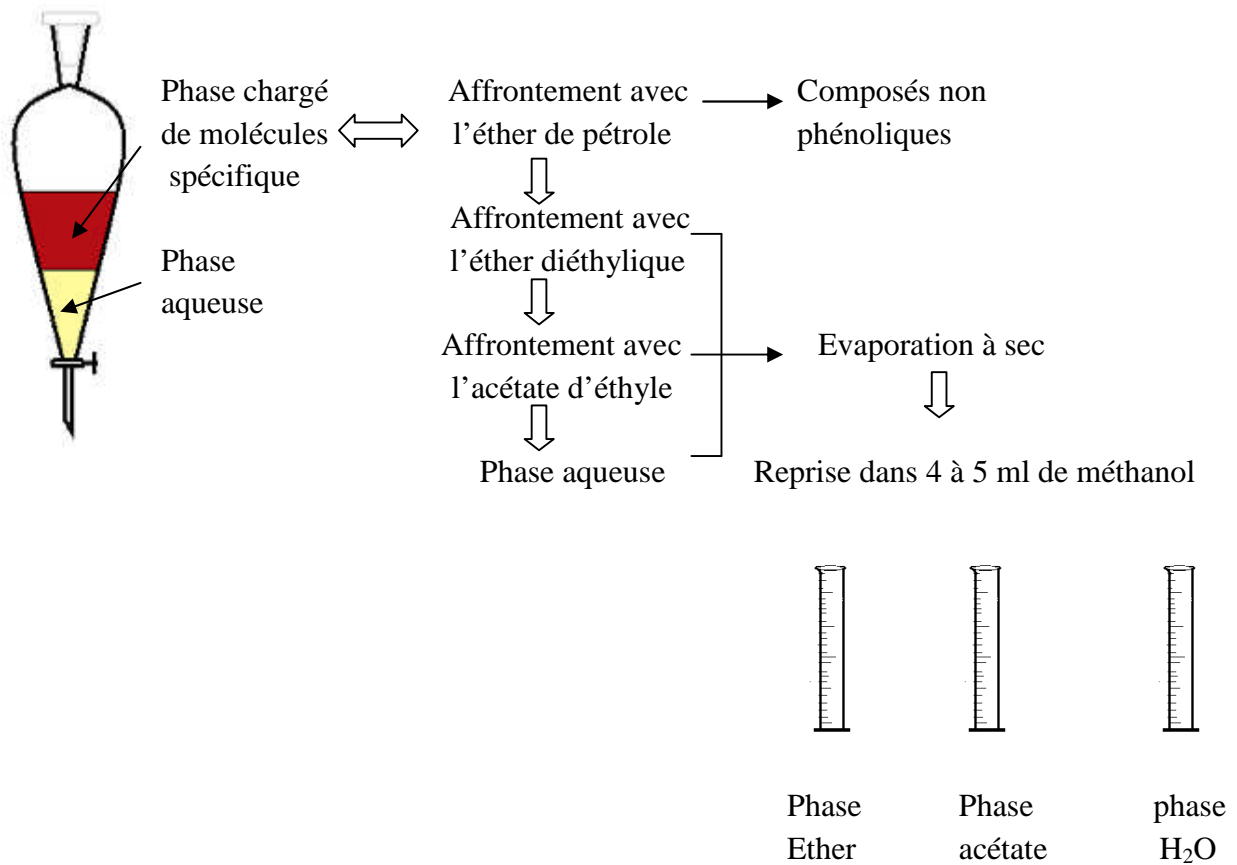


Figure 13: Séparation des flavonoïdes par les partitions entre solvants (extrait éthanolique) (Markham, 1982 in Akroum, 2011).

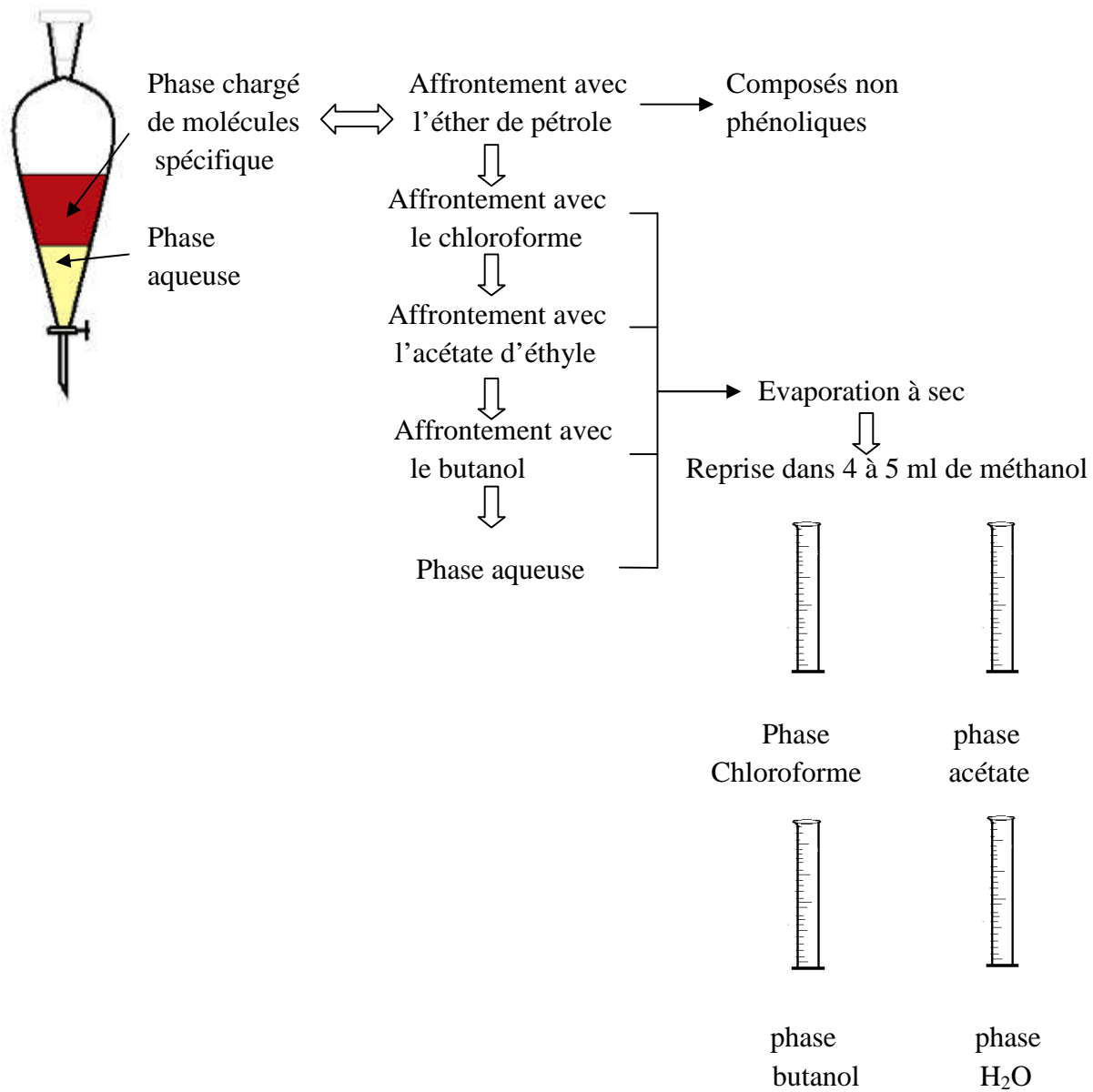


Figure14: Séparation des flavonoïdes par les partitions entre solvants (extrait méthanolique).

IV-Séparation des flavonoïdes par chromatographie sur couche mince (CCM) :

IV-1- Définition :

La chromatographie sur Couche Mince (CCM) est une technique analytique rapide, simple et peu coûteuse, utilisée au cours de la séparation et de l'identification des métabolites.

IV-2- Principe :

Elle repose principalement sur le phénomène d'adsorption sélective des composants, La migration (verticale) est fonction de la polarité des substances, de la polarité de l'éluant (phase mobile) et du pouvoir d'adsorption de la phase stationnaire.

La mise en œuvre d'une CCM nécessite plusieurs matériels tel que :

- **Une cuve chromatographique :** c'est un récipient en verre, fermé par un couvercle maintenu étanche.

- **Une phase stationnaire :** c'est une couche d'absorbant étalé uniformément sur un support en aluminium ou en verre de dimensions variables (généralement 20 x 20 cm) avec une épaisseur comprise entre 0.5 et 2 mm. L'absorbant que nous avons utilisé est le gel de silice.

- **La phase mobile :** c'est l'éluant. Il est composé d'un mélange de solvant qui migre lentement le long de la plaque en entraînant les composants de l'échantillon déposé. Pour cette phase nous avons employés deux systèmes de solvants :

*butanol/ acide acétique / H₂O (v/v/v ; 4/1/5) (Marston et Hostettmann 2006 ; in Akroum, 2011).

* Acétate d'éthyle/MeOH/H₂O (v/v/v ; 100/13,5/10) (Maleš et al, 1998; in Zeghad, 2009).

Les échantillons sont des extraits brut éthanoliques (phase éther, phase acetate, phase aqueuse) et méthanoliques (phase chloroforme, phase acétate, phase butanol, phase aqueuse) solubilisés dans 5ml de méthanol, puis déposés en petits spots sous forme de points sur l'absorbant (gel de silice) par une pipette pasteur. La plaque est déposée verticalement dans la phase mobile constituée, comme on a préalablement indiqué, par plusieurs solvants organiques. Pour une bonne élution, la cuve contenant le solvant d'élution doit être saturée, une fois le développement du chromatogramme effectué, la plaque est séchée à température ambiante puis examinée à l'UV (longueurs d'ondes $\lambda = 254\text{nm}$ et 365 nm).

On détermine alors, pour chaque constituant, le Rapport frontal :

$$R_f = \frac{\text{Distance parcourue par l'échantillon}}{\text{Distance parcourue par le front solvant}}$$

La distance de migration des substances dépend essentiellement de leur polarité :

- Les polyhydroxyflavones ont des faibles valeurs de Rf (0,00-0,25).
- Les oligohydroxy et les oligométhoxyflavones ont des valeurs de Rf comprises entre (0,3-0,5).
- Les flavanones, les flavonols, méthoxyflavones ont les valeurs les plus élevées de Rf (0,5-0,75). (Bandyukova et Shinkarenko, 1973 ; in Zeghad, 2009)

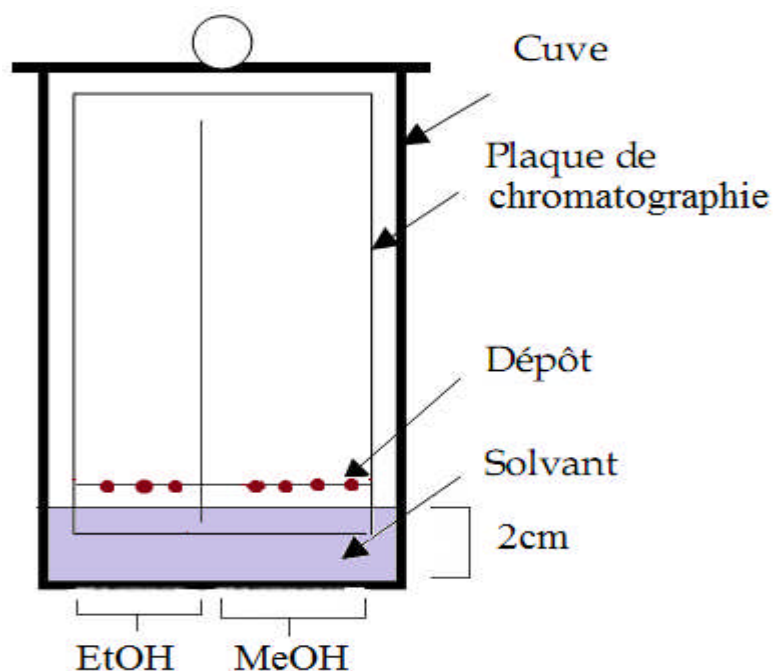


Figure 15: Schéma de l'analyse CCM des flavonoides des extraits des feuilles de *Prunus cerasifera* 'Pissardii'.

V-Etude de l'activité antibactérienne :

V-1- Objectif :

Déterminer parmi les extraits préparés ceux qui avaient la plus grande activité inhibitrice des bactéries à Gram-positif, des bactéries à Gram-négatif.

V-2- Principe :

L'évaluation de l'activité antibactérienne a été réalisée par la méthode de diffusion en gélose dite méthode de Diffusion de disques (Rahal *et al.*, 2005 ; in Daas Amieur, 2009) .

Cette méthode a exactement le même principe que celui des tests d'antibiogramme. C'est-à-dire, L'application de patches imprégnés de principes actifs ou de puits remplie par le produit à tester sur des milieux de cultureensemencés de microorganismes.

L'activité inhibitrice du produit se manifeste par la formation d'une auréole d'inhibition autour du puits. Elle est considérée comme positive pour tout produit donnant un diamètre d'inhibition Supérieur à 8 mm (kabouss *et al.*, 2000).

V-3- Préparation des souches bactériennes :

Les souches bactériennes proviennent du laboratoire de microbiologie à l'université Constantine 1, il s'agit des espèces suivantes :

- Escherichia coli* (Gram négatif)
- *Staphylococcus sp.* (Gram positif)
- *Bacillus sp.*(Gram positif)

Les bactéries sont préalablement ensemencées dans le milieu nutritive liquide est incubées à 37°C.

V-4-Préparation du milieu de culture :

Le milieu de culture a été préparé préalablement au niveaux du laboratoire de microbiologie (milieu de Mueller Hinton – MH). Le milieu de culture solide est mit dan le bain marie pour devenir liquide, puis il sera couler dans de boite de pétries stérile de 9 cm de diamètre. L'épaisseur du milieu de culture est d'environ de 2mm, puis on les laisse sécher a température ambiante prés du bec benzène pour éviter leurs contamination avec les bactéries de l'aire.

V-5-Culture des bactéries :

L'ensemencement a été réalisé à l'aide d'un écouvillon, on étale la bactérie sur la surface du milieu de culture de façon a avoir une dispersion homogène de la bactérie sur toute la surface du milieu.

V-6- dépôt des extraits :

Le dépôt a été réalisé selon deux techniques :

V-6-1- La technique des disques :

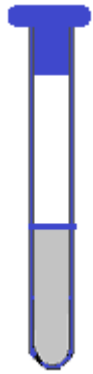
Cette technique a été utilisée pour tester les quatre phases (phase chloroforme, phase acétate, phase butanol, phase aqueuse) obtenue après l'affrontement précédant.

On a préparé des disques de papier filtres de 5mm de diamètres puis on les a stérilisés à 120°C pendant 20 minutes dans une autoclave. A l'aide d'une seringue stérile on a injecté 0.1 ml de l'extrait sur les disques puis on les a laissé sécher pendant 15min, ensuite on les a déposés sur la surface de la gélose préalablement inoculée avec la souche bactérienne (figure15)

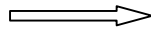
V-6-2- La technique des puits : Pour cette technique on a créé des puits dans la gélose à l'aide d'une pipette pasteur, et dans chacun on a déposé 1ml d'extrait. (figure 16)

Pour cette technique on a créé des puits dans la gélose à l'aide d'une pipette pasteur, et dans chacun on a déposé 1ml d'extrait. (figure 16)

Souche bactérienne ensemencée
dans un bouillon Nutritif

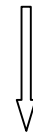
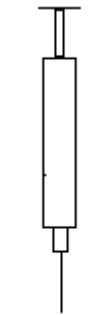


Incubation 24h
à 37°C



Boîte de Pétri contenant de la gélose
ensemencées de bactéries

Injection de l'extrait



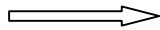
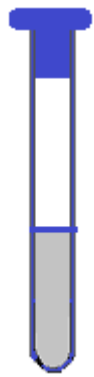
Application des disques



Incubation pendant 24h à 37°C

Figure 16: Protocole du test de l'activité antibactérienne des extraits
(Techniques des disques)

Souche bactérienne ensemencée
dans un bouillon Nutritif



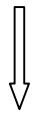
Boite de pétrie contenant de la gélose



Inoculation des boites de pétri par des bactéries



Application des puits



Incubation pendant 24h à 37°C

Incubation 24h à 37°C

Figure 17: Protocole du test de l'activité antibactérienne des extraits
(Techniques des puits)

V-7- Expression des résultats : L'activité antibactérienne a été déterminée en mesurant à l'aide d'une règle le diamètre de la zone d'inhibition (mm) autour des disques et des puits.

RESULTATS ET DISCUSSION

PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSION

I-Criblage des flavonoïdes :

I-1- Résultats :

Les Résultats de criblage des flavonoïdes sont classés selon l'apparition en :

- * Réaction franchement positive : ++++
- * Réaction positive : +++
- * Réaction moyennement positive : ++
- * Réaction louche : ±
- * Réaction négative : -

Tableau 6: les résultats du criblage des flavonoïdes dans les feuilles de *Prunus cerasifera 'Pissardii'*.

Test	Feuilles
Témoin (T ₀)	-
Test 1 (flavonoïdes libres)	+++
Test2 (anthocyanes)	+++
Test 3 (leucoanthocyanes)	+++

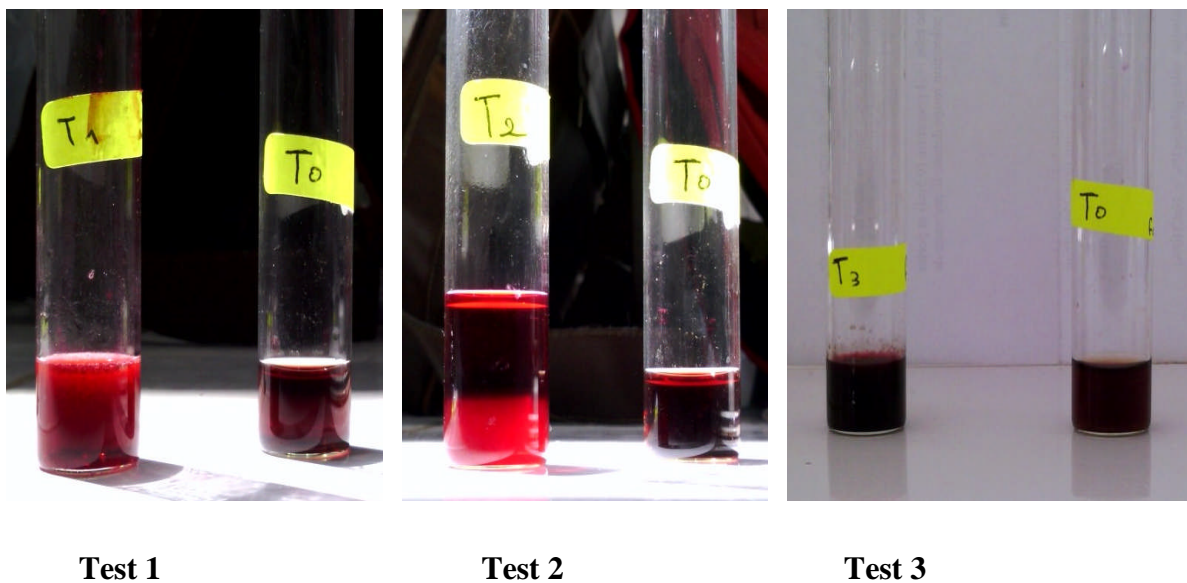


Figure 18: les résultats du criblage des flavonoïdes dans les feuilles de *Prunus cerasifera 'Pissardii'*

I-2-discussion :

L'HCl réduit les flavonoïdes en Anthocyanidine se qui donne la couleur rouge est celle si est due a l'élimination d'une molécule d'H₂O, selon les résultats obtenu du criblage phytochimique les tests révèlent la préséance des flavonoïdes dans les feuilles du *Prunus cerasifear pissardii*.

Dans notre travail les feuilles de *P.pissardii* contiennent les différents types de molécules du métabolisme secondaire, les flavonoïdes, les anthocyanes et les leucoanthocyanes

II- séparation des extraits bruts MeOH et EtOH par chromatographie sur couche mince (CCM) :

II-1-Résultats :

Le développement de la chromatographie sur couche mince dépend du choix de la phase mobile ainsi que la phase stationnaire, notre CCM a été réalisé en utilisant le système solvant suivant : Acétate d'éthyle/méthanol/eau (v/v/v ; 100/13,5/10), les chromatogrammes résultants comporte une série de spots qui apparaissent sous UV à 254 nm.

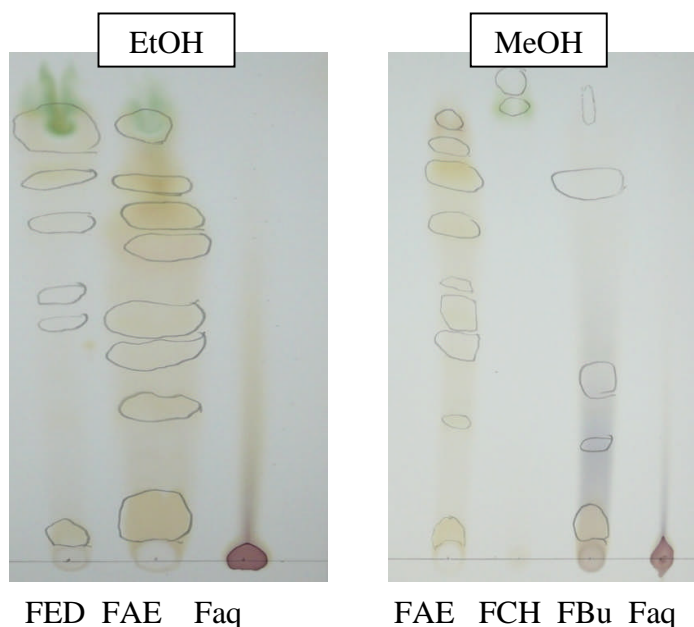


Figure19 : Détection visible du chromatogramme des différentes phases des extraits brutes des feuilles chez *Prunus cerasifera pissardii*

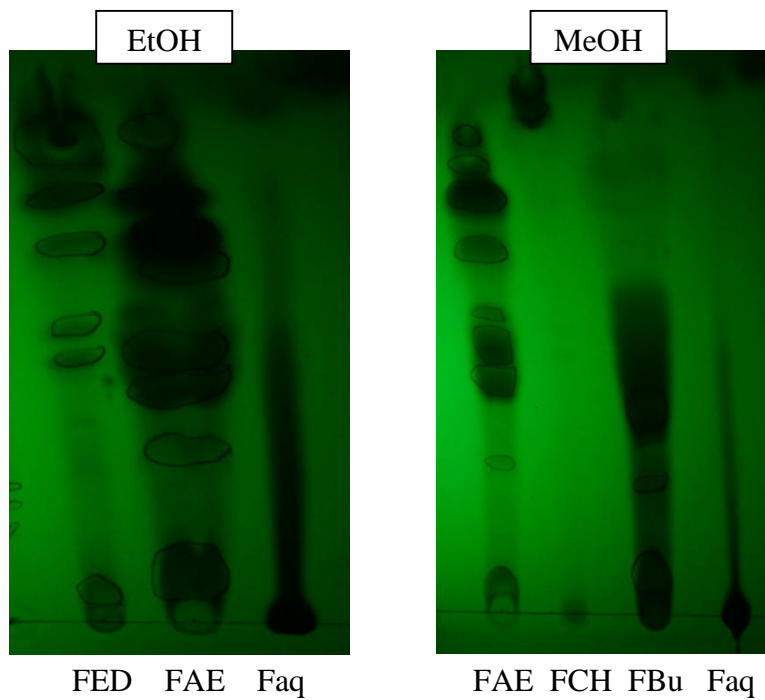


Figure 20 : Chromatographie des différentes phases des extraits brutes des feuilles chez *Prunus cerasifera pissardii* révélé sous UV (254)

FED : fraction ether Diethelique, **FAE :** Fraction Acetate d'Ethyle, **Faq :** Fraction aqueuse, **FCH :** fraction Chloroforme, **FBu :** fraction Butanol.

Le tableau ci-dessous comporte les rapports frontaux (Rf) des Différents spots apparus avec le système solvant utilisé.

Tableau 7: Résultats de la séparation par CCM des différentes fractions des extraits EtOH et MeOH des feuilles du *Prunus cerasifera pissardii*.

Spots révélés	Rapport frontal (Rf)						
	Extrait EtOH			Extrait MeOH			
	FED	FAE	Faq	FCH	FAE	FBu	Faq
Spot 1	0.052	0.085		0.852	0.051	0.064	
Spot 2	0.467	0.302		0.903	0.256	0.211	
Spot 3	0.519	0.401			0.397	0.339	
Spot 4	0.657	0.473			0.461	0.711	
Spot 5	0.750	0.611			0.512	0.865	
Spot 6	0.828	0.671			0.628		
Spot 7		0.736			0.717		
Spot 8		0.842			0.769		
Spot 9					0.820		

FED : Fraction Ether Diethelique, **FAE** : Fraction Acetate d'Ethyle, **Faq** : Fraction aqueuse, **FCH** : Fraction Chlorophorme, **FBu** : Fraction Butanol.

Le chromatogramme résultant de l'analyse de l'extrait EtOH des feuilles montre quatorze spots appartenant a différentes classe poly phénolique, et seize spots de l'extrait MeOH du même organe (feuilles).

Selon le tableau précédant, on remarque que la fraction acétate d'éthyle à donner les mêmes spots pour les deux extraits EtOH et MeOH car les spots on les mêmes Rf ce la veut dire qu'ils contiennent les mêmes composants.

De plus les composés flavonoidiques majoritaire prestant dans l'extrait brut des feuilles se trouvent dans les Fractions acétate d'éthyle éther di éthylique et butanol.

II-2-Discussion :

En comparant nos résultats avec ceux d'une étude réalisée par Akroum (2011) sur les flavonoïdes naturels, a décelé des Rf pour la phase acétate d'éthyle, proche à ceux trouvés dans notre travail.

D'après les résultats selon (Markham, 1982 in Kanoun, 2011), le screening chimique réalisé dans notre travail confirme la richesse des feuilles de *P. pissardii* en flavonoïdes et sous différentes formes, anthocyanidines, flavones et flavonols et qui peuvent être sous forme aglycone, monoglycosylée, bi- et triglycosylée.

Le chromatogramme obtenu dans notre travail montre des diminutions et augmentations des valeurs du Rf pour les différentes fractions : Ether diéthylique, butanol, chloroforme, acétate d'éthyle, avec des Rf compris entre 0.5 et 0.75, ces composés sont des méthoxyflavones, flavanones et flavonols selon (Bandyukova et Shinkarenko, 1973 in Zeghad, 2009), due à une méthylation des groupements (OH) et l'acétylation. Par contre la diminution des Rf entre (0,00-0,25) et (0,3-0,5) est expliquée, selon le même auteur, par l'augmentation des groupements (OH) dus principalement à l'introduction de nouveaux groupements de ces derniers (glycolation) ,ces composés sont contenus dans les Fbu et FAE de l'extrait MeOH et FED et FAE de l'extrait EtOH ces composés sont préalablement des polyhydroxyflavones, oligohydroxy et les oligométhoxyflavones.

III- Activité antibactérienne des différentes fractions de l'extrait brut :

III-1- Résultats :

On utilise cette technique pour tester le pouvoir antibactérien des différentes phases issues des affrontements de l'extrait méthanolique des feuilles de *P.pissardii*.

La technique des puits était celle qui a donné des résultats significatifs. Celle des disques ne présentait pas des zones d'inhibitions. (Figures 20 et 21)

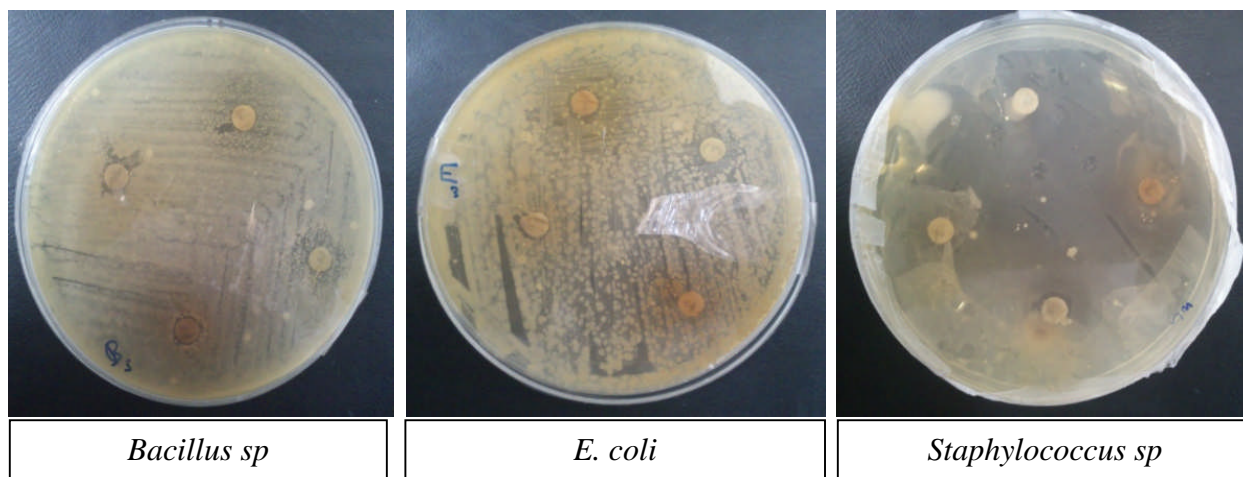


Figure 21: Aspects d'inhibition des souches bactériennes par l'extrait brut des feuilles de *P. pissardii* (Technique des disques)

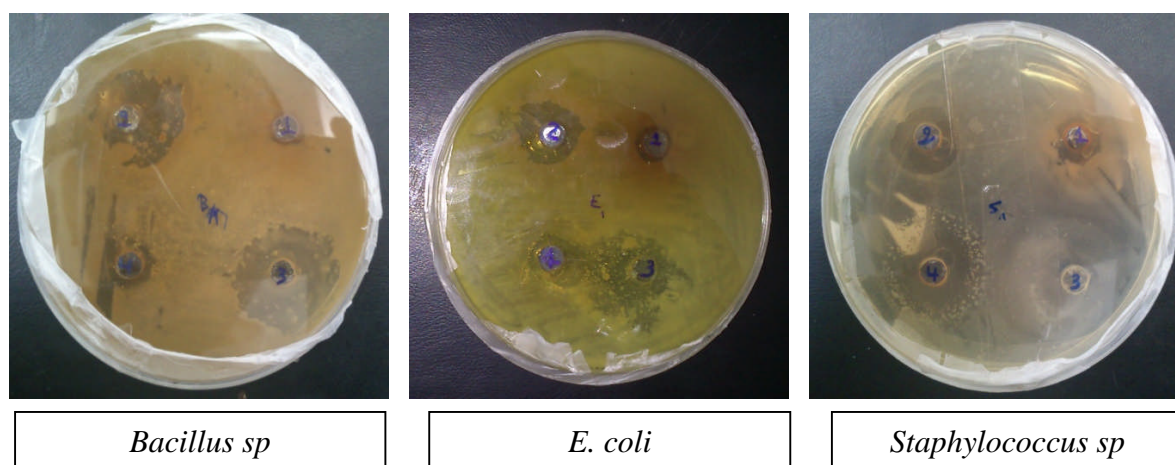


Figure 22: Aspects d'inhibition des souches bactériennes par l'extrait brut des feuilles de *P. pissardii* (Technique des puits)

Le tableau suivant montre les résultats de l'activité antibactérienne des fractions de l'extrait brut, obtenus par la technique des puits.

Tableau 8: Diamètre de zone d'inhibition pour les différentes fractions séparées

Fraction \ Bactérie	Faq (mm)	Fbu (mm)	FCH (mm)	FAE (mm)
<i>E. coli</i>	0	15.5	14.5	13
<i>Bacillus sp.</i>	0	21	24.5	15.5
<i>Staphylococcus sp.</i>	11	14.5	12	21

FAE : Fraction Acétate d'Ethyle, **Faq :** Fraction aqueuse, **FCH :** Fraction Chlorophorme, **Fbu :** Fraction Butanol.

Pour mieux élucider le pouvoir antibactérien des différentes fractions de l'extrait méthalonique de la plante, les diamètres de la zone d'inhibition sont représentés graphiquement sur des histogrammes (figures 22).

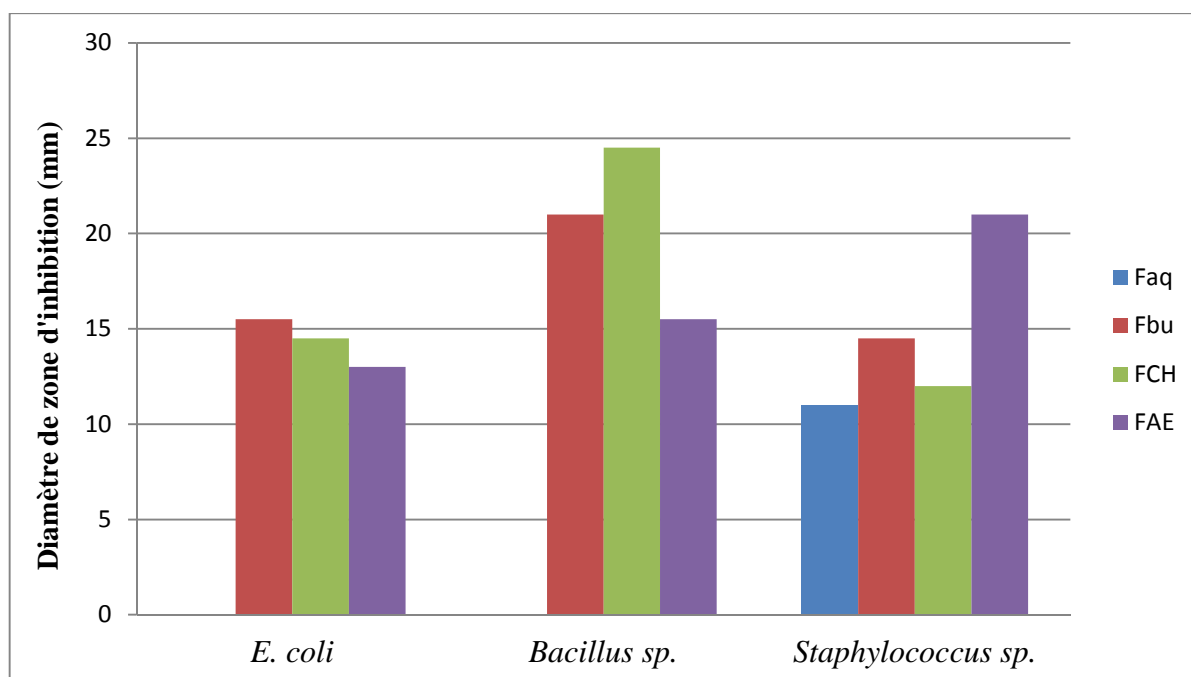


Figure 23: Diamètre de zone d'inhibition des fractions de l'extrait brute contre les différentes bactéries

FAE : Fraction Acétate d'Ethyle, **Faq :** Fraction aqueuse, **FCH :** Fraction Chloroforme, **Fbu :** Fraction Butanol.

III-2- Discussion :

Pour la méthode des disques il y'a aucun résultat, ce qui peut être expliqué par le fait que l'action des fractions doit être direct avec les bactéries.

La plupart des travaux soutiennent que le principal site d'action des substances phénoliques est la membrane plasmique bactérienne (Shunying et al., 2005) qu'il s'agit de mesures de désintégration (Ultee et al., 1999). Cette membrane se déstructure devenant plus perméable aux ions (Lambert et al., 2001 in Taous, 2009).

Les phases acétate d'éthyle, chloroforme et butanol ont donné un grand pouvoir antibactérien. Les bactéries à Gram négatif possèdent une enveloppe cellulaire constituée d'une membrane cytoplasmique (ou membrane interne), d'un périplasme contenant une paroi fine, et d'une membrane externe ; ces bactéries ayant deux membranes biologiques sont plus précisément qualifiées de didermes, où l'on distingue les bactéries monodermes-LPS, des bactéries didermes-mycolates. Classiquement, les bactéries à Gram positif possèdent une enveloppe cellulaire constituée d'une membrane cytoplasmique et d'une épaisse paroi ; puisqu'elles n'ont qu'une membrane biologique, elles sont aussi appelées bactéries monodermes.

La sensibilité des bactéries à Gram-positif traduit l'action antibactérienne des flavonoïdes. En effet, cette sensibilité est en relation avec le nombre des hydroxyles libres c'est-à-dire que les flavonoïdes les moins hydroxylés sont les plus actifs, car dans les travaux de (Cowan, 1990 in Amireche, 2013) a démontré que les flavonoïdes dépourvus de groupement hydroxyle libre ont plus d'activité antibactérienne, ce qui conduit à une augmentation de leur affinité aux lipides membranaires. Selon ces données on peut supposer que les flavonoïdes testés visent la membrane cytoplasmique des microorganismes c'est pour ça que les zones d'inhibitions pour les bactéries à Gram-positif (*Bacillus sp* et *Staphylococcus sp*) est plus grande que celles des bactéries à Gram-négatif (*E. coli*) car ils ont qu'une seule membrane biologique ce qui les rend vulnérables.

L'activité antibactérienne des flavonoïdes peut être expliquée par le mécanisme de toxicité vis-à-vis des microorganismes qui se fait soit par des interactions non spécifiques telles que l'établissement des ponts hydrogènes avec les protéines des parois cellulaires ou les enzymes, la chélation des ions métalliques, inhibition du métabolisme bactérien, la séquestration de substances nécessaires à la croissance des bactéries (Karou et al, 2005 in Zeghad, 2009).

CONCLUSION

Notre étude a concerné l'espèce *Prunus cerasifera Atropurpurea (ou pissardii)* qui appartient à la famille rosacées. On utilise cette plante originaire d'Asie à des fins ornementales.

Notre espèce a été très peu étudiée en Algérie. Notre recherche a pour but de déterminer la richesse de *Prunus cerasifera Atropurpurea (ou pissardii)* en métabolites secondaires et plus précisément en flavonoïdes qui ont montré un potentiel antibactérien intéressant.

Cette étude a été réalisée à partir des feuilles de *Prunus cerasifera Atropurpurea (ou pissardii)*, après avoir soumis cette organe à des tests de criblages des flavonoïdes les résultats ont été positifs.

Les résultats de la chromatographie sur couche mince montrent que les extraits éthanolique et méthanolique des feuilles de *Prunus cerasifera Atropurpurea (ou pissardii)* renferment une multitude de types de ces composés dont flavonols, flavones.

Les résultats du screening phytochimique montrent que les feuilles de *Prunus cerasifera Atropurpurea (ou pissardii)* sont riches en flavonoïdes, l'étude du pouvoir antibactérien des différentes fractions, obtenues par extraction liquide-liquide, a permis de mettre en évidence que les différentes fractions qui comportent les différentes classes de flavonoïdes ont un pouvoir antibactérien.

On conclut de tous nos résultats obtenus que l'espèce *Prunus cerasifera Atropurpurea (ou pissardii)* renferme dans ces feuilles une richesse en flavonoïdes, et que ces flavonoïdes présentent un pouvoir antibactérien important.

PERSPECTIVES

Comme perspective il serait intéressant de mener une étude approfondie sur le *Prunus cerasifera Atropurpurea (ou pissardii)*, à fin d'isoler et identifier les principes actifs de cette plantes en utilisant des technique plus modernes comme la chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC), ou chromatographie en phase gazeuse (CPG) coupler à spectrophotomètre de masse.

La plante *Prunus cerasifera Atropurpurea (ou pissardii)*, est riche en autre composée du métabolisme secondaire notamment les anthocyanes responsable de la couleur rouge pourpre de ces feuilles, les anthocyanes ont une action antioxydante et antimicrobienne, c'est pour cela qu'il serait important d'élaborer des études approfondit et complémentaire pour identifier de nouvelles substances bioactives.

Les plantes et les arbres d'ornement se distinguent des plantes destinées à une production économique, qui sont l'objet de l'agriculture ou de la sylviculture. Cela n'empêche pas toutefois qu'une espèce particulière puisse être à la fois l'objet d'une culture économique et appréciée dans un jardin pour ses qualités ornementales. Ainsi, la lavande est typiquement une plante ornementale dans les jardins, mais peut aussi être cultivée pour la production d'huile essentielle de lavande alors, notre plante *Prunus cerasifera Atropurpurea (ou pissardii)* a un feuillage riche en flavonoïdes et ces derniers ont des vertus thérapeutiques, pharmaceutiques, cosmétologiques et alimentaires. Alors Pourquoi n'envisagerons pas une culture du *Prunus cerasifera Atropurpurea (or pissardii)* à des fins économiques aussi.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Akroum, S. (2011)** Etude analytique et biologique des flavonoïdes naturels. Thèse doctorat de l'université de Constantine. p : 4, 29-30, 35, 37.
2. **Amirech, Y. (2013)** Contribution a l'étude des flavonoïdes de l'espèce *Rosa damascena* et évaluation de leur activité antibactérienne. Mémoire de master de l'université de Constantine. p : 41.
3. **Boutaud, Jac. (2003)** « Prunus-cerasifera pissardii ». *Arboretum de la Petite Loiterie*. P : 281,282.
4. **Choteau, Benoît. (2008)** *Le cerisier du Japon*. P: 27-41.
5. **Daas Amiour, S. (2009)** Etude quantitatives des composés phénoliques des extraits de trois variétés de dattes *Phoenix dactylifera L.* et évaluation in vitro de leur activité biologique. Mémoire de magister de l'université de Batna. P : 67.
6. **Dupard, Sylvie. (2004)** « Pomologie □: A la découverte des prunes ». *Fruits oubliés*. P : 1-3.
7. **El kaboussa,A., Charrouf, Z., Oumzil, H., Faid, M., Lamnaouer, D., Miyata, Y. et Miyahara, K. (2000)** Caractérisation des flavonoïdes des feuilles d'Arganier(*Argania spinosa (L.) Skeels, Sapotaceae*) et étude de leur activité antimicrobienne. Actes édition Rabat. P : 159.
8. **Gerhard, R. (1993)** métabolisme des végétaux. Physiologie et biochimie. Presses polytechnique et universitaire lausane. P : 292, 317-319, 321.
9. **Ghedira, K. (2005)** Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*. p : 162-169.
10. **Giada, R. (2013)** Food Phenolic Compounds: Main Classes, Sources and Their Antioxidant Power. P : 93-95.
11. **Gomez, G (2014)** – Le titre de l'article <http://webpeda.ac-montpellier.fr/wspc/ABCDORGA>.
12. **Gravot, A. (2009)** Introduction au métabolisme secondaire chez les végétaux. Université de Rennes 1 P: 15.
13. **Heldt, H. (2005)** Plant Biochemistry. Elsevier Academic Press. P : 449.
14. **Jodra, Serge. (2008)** « Les Prunier (Prunus) ». *Imago Mundi*.
15. **Jodra, Serge. (2008)** « les rosacées ». *Imago Mundi*.

- 16. Marfak A. (2003)** Radiolyse gamma des flavonoides. Etude de leur réactivité avec les radicaux libres issus des alcools : formation de depsides. Thèse de doctorat de l'université de Limoges. P : 25.
- 17. Merghem, R. (2009)** élément de biochimie végétales. Bahaeddine edition. p : 95, 103, 120-121.
- 18. Nkhili, E. (2009)** Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. Thèse de doctorat de l'université CADI AYYAD. Marrakech. P : 1.
- 19. Ramawat, K. G., Mérillon J. M (2013)** Natural Products. P : 1549-1552.
- 20. Wink, M. (2010)** Biochemistry of plant secondary metabolism. Annual plant reviews .Blackwell Publishing Ltd. P: 11-15.
- 21. Zeghad, N. (2009)** Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (Thymus vulgaris, Rosmarinus officinalis) et évaluation de leur activité antibactérienne. Mémoire de magister de l'université de Constantine. p : 12, 18-19, 36-37.

Sites internet :

- http://nature.jardin.free.fr/arbre/ft_prunierornement.html.
- <http://www.cosmovisions.com/pruniers.htm>.
- <http://www.cosmovisions.com/rosacees.htm>.
- http://fr.wikipedia.org/wiki/Paroi_bact%C3%A9rienne.
- http://fr.wikipedia.org/wiki/Plante_ornementale.
- <http://en.wikipedia.org/wiki/Prunus>