



لجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



التعليم  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسنطينة  
كلية الطبيعة الحياة

**Département : Biologie et Ecologie végétale**

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master**

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**

**Filière : Sciences Biologiques**

**Spécialité : métabolisme secondaire et moléculaire bioactives**

Intitulé :

---

***Extraction et mise en évidence du pouvoir antibactériens chez  
SLVADORA PERSICA ou SIWEK***

---

**Présenté et soutenu par :**

**Le :25 /06/2015**

Douib imene

Slimani saadya

**Jury d'évaluation :**

**Président du jury :** Mr .Chibani Salih (MCB- UFM Constantine)

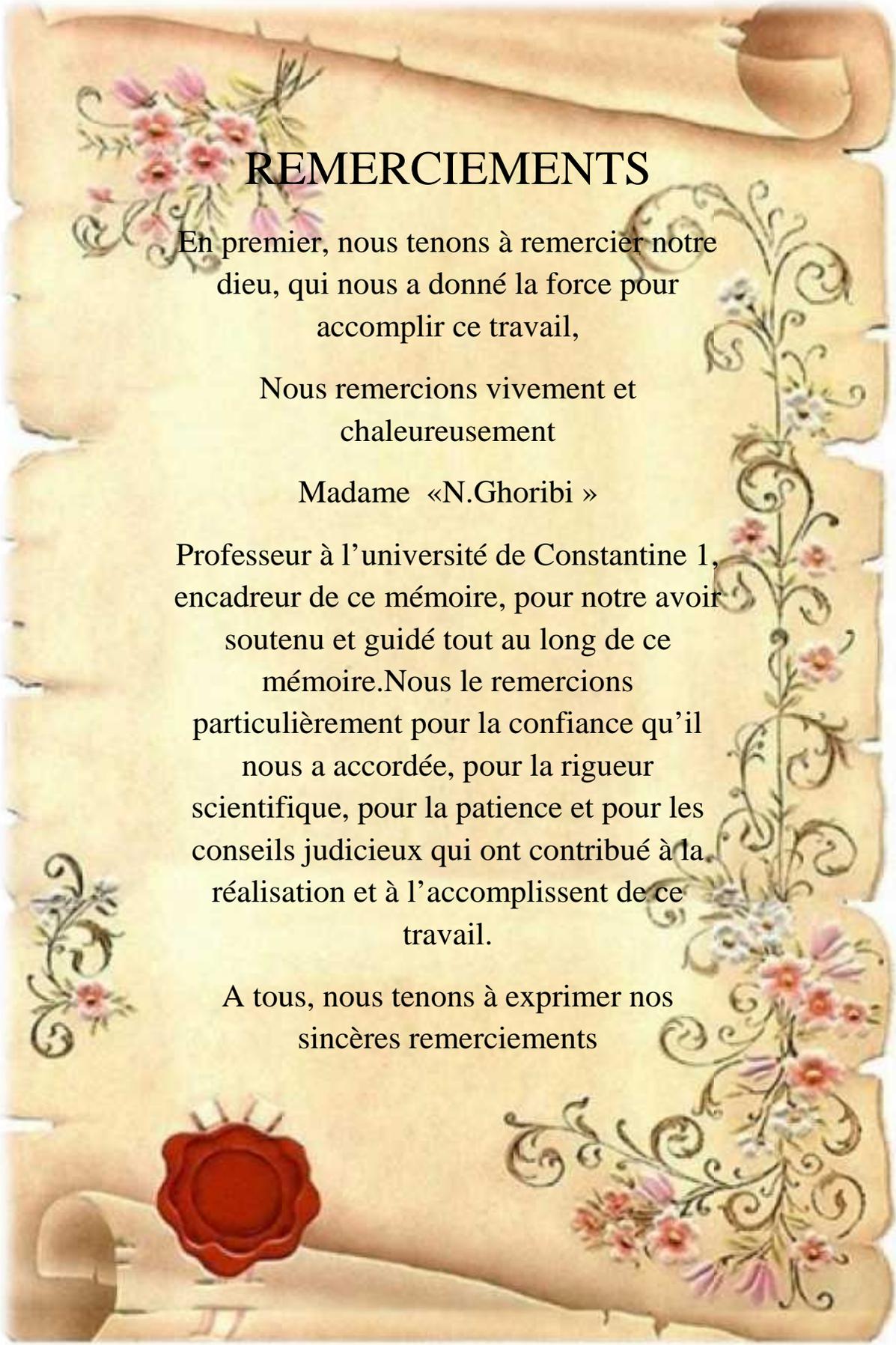
**Rapporteur :** Mme .Ghorib Nedjois (MAA- UFM Constantine).

**Examineurs :** Mme .Bouchoukh Imane (MAA- UFM Constantine).

***Année universitaire  
2014 – 2015***

---

---



# REMERCIEMENTS

En premier, nous tenons à remercier notre dieu, qui nous a donné la force pour accomplir ce travail,

Nous remercions vivement et chaleureusement

Madame «N.Ghoribi »

Professeur à l'université de Constantine 1, encadreur de ce mémoire, pour notre avoir soutenu et guidé tout au long de ce mémoire. Nous le remercions particulièrement pour la confiance qu'il nous a accordée, pour la rigueur scientifique, pour la patience et pour les conseils judicieux qui ont contribué à la réalisation et à l'accomplissement de ce travail.

A tous, nous tenons à exprimer nos sincères remerciements

## DEDICACE

A mon père ET MA Très chère  
maman, qui m'ont éclairés le  
chemin en me donnant la main  
tout au long de mes années  
d'étude

« Que dieu me les garde »

A mes sœurs

A tous mes amis sans exception

A tous ceux qui me sont chers

IMEN



# Dédicace

**Je** remercie Dieu tout puissant qui ma permet d'arriver à ce but.

**Je** dédié ce modeste travail à deux personnes les plus chers à mon cœur :

**A** mes très chers parents qui ont sacrifié de leur existante pour bâtir la mienne  
Qui par leur précieux conseils et contient ont sa me guider ver la voix  
de la réussite.

**A** mes chers frères: *Hamza, Zaki, Adam, Mohamed Habib(Zinou)*

**A** mon très chère amie Dalila pour leur aidée et encouragée pendant cette

**A** tous mes amies

**A** toute promotion biologie physiologie végétal 2015.

**A** tous ceux que j'aime et que je respecte.

# Sommaire

## Introduction

### Chapitre : Description de la plante

1. Historique .....	03
2. Localisation géographiques.....	03
3. Classification systématique de <i>salvadora persica</i> .....	04
4. Caractéristiques botaniques de la plante.....	04
5. Usages de <i>Salvadora persica</i> .....	06
5.1. Importance médicinale.....	06
5.2. Utilisation contre les bactéries.....	07
5.3. Utilisation contre les insectes.....	07
5.4. Autres utilisations.....	07
6. Utilisation à travers le monde .....	08
7. Mode d'emploi.....	09

### Chapitre 2 : Le Métabolisme secondaire

Généralités .....	10
1. Les composés phénoliques .....	10
1.1 Définition .....	10
2. Les flavonoïdes .....	11
2.1. Définition .....	11
2.2. Structure chimique et classification.....	11
2.3. Propriétés et caractéristiques physicochimiques et localisation.....	12
2.3.1. Propriétés biologiques des flavonoïdes .....	12
2.3.2. Caractéristiques physico-chimiques.....	13
2.3.3. Localisation.....	13
2.4. Extraction et purification.....	14
2.5. Utilisation thérapeutique.....	14
3. Alcaloïdes.....	14
3.1. Définition.....	14
3.2. Propriétés physico-chimiques.....	15
4. Les coumarines .....	16
5. Les terpènes .....	15
6. Présentation des souches bactériennes utilisées .....	16

### Chapitre 3 : Matériels et méthodes

1. Matériel végétal utilisé .....	19
2. Criblages des flavonoïdes.....	19

3. Extraction des flavonoïdes .....	20
3.1. Macération et préparation des extraits méthanoliques bruts .....	20
3.2. Fractionnement des extraits bruts par extraction Liquide-Liquide.....	21
3.3. Fractionnement de l'extrait méthanolique (MeOH) .....	21
4. La chromatographie analytique sur couche mince (CCM).....	22
4.1. Principe.....	22
4.2. Mode opératoire .....	23
a / la phase stationnaire.....	23
b/ la phase mobile ou éluant.....	23
c/Préparation de la cuve .....	23
d / préparation des plaques et dépôts des échantillon.....	23
e / Développement des plaques.....	23
f / Révélation .....	24
g / Identification des flavonoïdes : Relation : Structure –Rf.....	24
5. Etude de l'Activité antibactérienne .....	25
5.1. Les Objectif .....	25
5.2. Principe.....	25
5.3. Stérilisation du matériel.....	25
5.4. Préparation des souches bactériennes .....	25
5.5. Extrait testé.....	25
5.6. Milieu de culture.....	26
5.7. Culture des bactéries.....	26
5.8. Dépôt des l'extraits.....	26
5.8.1 Dépôt des disques.....	26
5.8.2. Méthode des puits .....	26
5.8.3 Expression des résultats .....	26

#### **Chapitre 4 : Résultats et discussion**

4.1. Criblage des flavonoïdes.....	28
4.2. Séparation des extraits bruts MeOH par chromatographie sur couche mince (CCM).....	29
4.3. Evaluation de l'activité antibactérienne des flavonoïdes.....	34

#### **Conclusion Générale**

#### **Références Bibliographiques**

#### **Annexes**

## INTRODUCTION

A travers les âges, l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base: nourriture, abris, vêtements et également pour ses besoins liés à sa santé. L'utilisation thérapeutique des extraordinaires vertus des plantes pour le traitement de toutes les maladies de l'homme est très ancienne et évolue avec l'histoire de l'humanité. Bien qu'une partie du XXème siècle ait été consacrée à la mise au point de molécules de synthèse, la recherche de nouveaux agents pharmacologiques actifs via le screening de sources naturelles a résulté dans la découverte d'un grand nombre de médicaments utiles qui commencent à jouer un rôle majeur dans le traitement de nombreuses maladies humaines

Dans le monde, 80% des populations ont recours à des plantes médicinales pour se soigner, par manque d'accès aux médicaments prescrits par la médecine moderne mais aussi parce que ces plantes ont souvent une réelle efficacité. De nos jours, le savoir des tradipraticiens est de moins en moins transmis et tend à disparaître. C'est pour cela que l'ethnobotanique et l'ethnopharmacologie s'emploient à recenser, partout dans le monde, des plantes réputées actives, et donc il appartient à la recherche moderne de préciser les Propriétés et valider les usages.

L'utilisation d'extraits de plantes pour l'activité antimicrobienne a montré que les plantes représentent une source potentielle de nouveaux agents anti-infection et face à ce constat, il est jugé utile de contribuer à l'étude de cette l'activité.

L'objectif de notre travail vise à démontrer la richesse de l'espèce (*salvadorapersica*) en flavonoïdes et à déterminer leurs éventuelles propriétés biologiques.

Dans la première partie, nous aborderons les différentes connaissances bibliographiques sur la plante sur les flavonoïdes et sur les souches microbiennes testées.

Dans la deuxième partie nous développerons la méthode expérimentale, le matériel végétal utilisé et les méthodes analytiques adoptées pour l'extraction des flavonoïdes, l'analyse par CCM des flavonoïdes et finalement l'activité antimicrobienne mais également il y aura une partie consacré aux résultats obtenus dans notre étude.

## I. 1. Historique

La *salvadorapersica* (Miswak ou Arak) existe depuis les temps anciens. Elle est utilisée par les Babyloniens, il y a quelques 7000 ans, par la suite son usage s'est rependu chez les Grecs et les Romains, les Egyptiens et les musulmans. Aujourd'hui, se retrouve encore le miswak en Afrique, en Amérique du sud, en Asie, au Moyen-Orient, notamment en Arabie Saoudite et partout dans les pays musulmans (**Khalid et al, 2002**). Le Miswak était connu bien avant l'avènement de l'Islam, l'Islam a donné à son usage une dimension religieuse.



**Fig.1** Bâton de *salvadorapersica*

## I. 2. Localisation géographiques :

*Salvadorapersica* se trouve surtout sur les roches un peu humides et les berges des ravins (Ozenda, 1983).

Elle se trouve dans tout le Sahara central: Hoggar et Tibesti, en Arabie, en Iran et en Inde, se rencontre en Mauritanie dans toute la vallée du fleuve où elle parseme le paysage de tâches de verdure pendant la période de sécheresse (Abdellahi, 2001).

Dans la région de Tamanghasset, *Salvadorapersica* se retrouve dans les ravins des montagnes, lits sablonneux, limoneux des oueds; dans l'étage tropical ; Mouyddir: gorges d'Arak, 700m, ; Ahnet: oued Talohaq (chaude eau), Hoggar: oued silet; sud de Tamanghasset, oued tit, oued Ighighi (chaude eau); oued Terroumout, 1500-1600m, ; Tassili-n-Ajjer: oued Issadilen (Dr Rone) oued Miheroi, oued Irerer (Bary), Afara - nouecheran (Duveyrier); oued Tidjoudjelt (Guiard) (Renie, 1933) .



**Fig. 02** Localisation géographiques *desalvadorapersica*

### **I. 3. classification Systématique de *salvadorapersica***

Le nom scientifique est *Salvadorapersica*(**Lindl**). Elle est connue sous plusieurs noms vernaculaires: nom arabe: arak, siwak; nom Anglais: toothbrush tree ; nom français: arbre à cure-dents ; nom indien: jhak.

**Embranchement** : *Spermatophyta*

**Sous embranchement**: *Angiospermae*

**Classe** : *Monocotyledoneae*

**Famille** : *Salvadoraceae*

**Genre** : *Salvadora*

**Espèce**: *Salvadorapersica*(*Ozenda, 1983*)

### **4. caractéristiques botaniques de la plante**

Arbuste ou petit arbre à feuilles opposées, à inflorescences en longues grappes plus ou moins rameuses ; fleurs tétramère, à calice cupuliforme, à pétales courts vert jaunâtre, à étamines alternant avec des staminodes en forme de courtes dents ; drupe ovoïde à endocarpe, crustacé et à une seule graine (Ozenda, 1983). Arbuste plus ou moins, sarmenteux ou petit arbre à fût mal conformé, à cime étalée et assez dense, de 4-5(-9) m de haut.

Ecorce lisse à peu rugueuse puis plus ou moins écaillée, blanc verdâtre

devenant gris clair, à tranche jaunâtre à rose pâle. Les rameaux sont glabres, portant des cicatrices entre les feuilles, gris verdâtre, striés dans la longueur (**fig. 3**).

Les feuilles sont opposées, presque charnues ; glabres, vert glauque, ovales lancéolées à elliptiques, de (3-12x1, 5-7)cm à sommet, acuminées ou obtus, parfois mucron, à base aigüe ou arrondie (**fig. 4**).

La nervation est pennée, irrégulière, peu saillante sur les deux faces, à (6-8) paires de nervures secondaires devenant plus ou moins parallèles au bord du limbe. Le fruit est une baie globuleuse, glabre, portant le reste de stylet au sommet et le calice persistant à la based' environ 6mm de diamètre, rouge à maturité (**fig. 5**) (Arbonnier, 2002).

La *Salvadorapersicase* présente en gros buissons touffus tranchant sur le reste de la végétation par sa belle couleur d'un vert tendre. Il est sarmenteux, enchevêtrant ses branches dans un fouillis inextricable. L'écorce a une tonalité blanche et ses feuilles sont toutes glabres ; les feuilles sont vert clair et deviennent plus foncées en vieillissant, ce qui fait distinguer deux formes par les habitants (Carvalho et Gillet 1960).



**Fig.4** Feuilles de *Salvadorapersica* **Fig.3** Rameaux de *Salvadorapersica*



**Fig. 5**Fruits de *S. persica*

## I. 5. Usages de *Salvadora persica*

### 5.1. Importance médicinale

La *salvadora persica* est utilisé dans différents traitements de maux. Les branches servent à confectionner des cures dents. Les feuilles bouillies dans du leben (lait aigri) et additionnées de poivre sont employées pour le traitement des coryzas et des rhumes (Renie, 1933). Elles sont utilisées pour les traitements pour la toux, la bronchite, l’asthme, les flatulences et la dyspepsie. Les racines sont efficaces comme une vermifuges et utilisé contre la fièvre, les céphalées, le rhumatisme. Le décocte des rameaux et feuilles serait efficace contre la dysurie. La poudre d’écorce des racines est utilisée dans le traitement de l’ictère, le fruit pour la fertilité féminine (Arbonnier, 2002).

La *salvadora persica* est également efficace pour l’anémie post paludique, inflammation des voies respiratoire et maladies hépatiques (Abdellahi. 2001).

La plante a encore des utilisations médicinales selon Ibn-Elkaiem dans son livre Al-TibAlnabaoi (1983):

- Élimine la mauvaise odeur et améliore le sens du goût ;
- Aiguise la mémoire ;
- Aiguise l'intelligence ;
- Élimine la glaire ;
- Empêche la carie dentaire ;
- Est une cure pour les maux de tête ;
- Élimine les maux de dents ;
- Enlève la couleur jaunâtre de la dent ;
- Facilite la digestion ;
- Éclaircie la voix ;
- Facilite l'appétit.

## **5.2. Utilisation contre les bactéries :**

D'après les travaux des scientifiques Akinrimisi et Askpata (1977), Fadulu(1975), Taiwo et al. (1990), Wolinsky et Sote (1983) sur *Salvadorapersica* prouvent que l'extrait a un effet sur les bactéries de la cavité buccale qui provoquent la carie dentaire, principalement *Streptococcus sobrinus* et *Streptococcus mutans*. Ces effets empêchent les bactéries à produire les acides et les enzymes nuisibles (Al-Aetbi, 2006). D'autres travaux sur les huiles essentielles de *Salvadorapersica* montrent qu'elle a une activité antimicrobienne (Alalli et al, 2005).

## **5.3. Utilisation contre les insectes :**

Selon Mamadou (2007), certaines plantes, telles que la *Salvadorapersica*, sont toxiques au criquet pèlerin.

#### 5.4. Autres utilisations

Les rameaux feuilles sont mangés par les chameaux, les chèvres et les moutons; et les indigènes recherchent les fruits qui sont comestibles (Renie, 1933). Et selon Bronnier (2002) :

- Les feuilles et les grains fournissent une graisse utilisée pour l'éclairage;
- Le bois est blanc et tendre sert à fabriquer des selles et des bâts pour ânes et chameaux ;
- Les feuilles ont un goût acidulé sert à la fabrication des condiments et aromates ;
- Les racines : ajoutées au tabac à priser ;
- Les écorces : vésicantes, vernis ;
- Les graines séchées de *Salvadorapersica* contiennent 30 à 40% de pétrole qui est d'une grande importance économique.

L'huile purifiée est utilisée dans la fabrication de savon et de détergents industriels comme un substitut à l'huile de noix de coco. Elle est exploitée par diverses entreprises comme Godrej savon Ltd, Tata pétrole Mills, et Hindustan Lever Ltd etc., (Zodape et Indusekhar, 1997). *Salvadorapersica* contribue à la formation de biomasse sur pied, donc la création d'une réserve de la fécondité dans les sols sablonneux des lacunes en la matière organique et en élément nutritifs. La régénération végétative à partir de la racine de drageons crée des arbres dans de grands résultats taillis de l'espèce dans le paysage. La densité de la canopée et le sens latéral et vertical extension du système racinaire de protéger le sol de l'érosion éolienne et d'air comme

un brise-vent dans le désert (Tomar et al, 1998). *Salvadorapersica* peut être cultivé pour la restauration des sols très salins (Kapoor, 1998). Elle est donc suggérée pour des plantations dans les zones touchées pour leur remise en état (Tewari et al, 1997).

## **6. Utilisation à travers le monde :**

Des recherches scientifiques spécifiques pour la santé buccale confirment que la *Salvadorapersica* est d'une large utilisation dans le monde :

- 90% des nigériens et les habitants des campagnes de Tanzanie et Zanzibar ;
- 50% des saoudiens;
- 65% dans les Indes;
- Plus de 50% des pakistanais (Al-Aetbi, 2006).

## **7. Mode d'emploi :**

*De nos jours Salvadorapersica, existe en différentes formes :*

- Bâtonnet : petit morceau de la tige utilisé comme une brosse à dents, préparé par recouvrement de l'écorce de 1 à 1,5 cm à l'un des deux côtés ;
- Bâtonnet comprimé par un tissu transparent et arôme;
- Dentifrice : sous le nom EPIDENT TOOTH PASTE (Egypte), NEEM (Pakistan);
- Poudre: Elle est préparée en Pakistan dans l'entreprise (HAMDAR) (Al-kdaa,1996).



## **CHAPITRE 2 : Le Métabolisme secondaire**

### **1- Généralités**

La majorité des molécules synthétisées par les plantes d'intérêt pharmaceutiques sont extraites directement de la plante entière. Ces molécules, appelées métabolites secondaires, ne constituent pas des espèces chimiques impliquées dans la croissance, aucun rôle spécifique pour la plante ne leur a été assigné (Braz-Filho, 1999 in Eloutassi, 2004).

Le métabolisme secondaire des plantes est lié au métabolisme primaire par cinq voies métaboliques principales: la voie de l'acide shikimique, de l'acide malonique, de l'acide mevalonique, des acides aminés (Taiz et Zeiger, 1998 in Eloutassi, 2004) et du glycéraldéhyde-3-phosphate (G3P) via la voie des pentoses phosphates (Continet *al.*, 1998 in Eloutassi, Les interactions entre métabolismes primaire et secondaire.

Les précurseurs principaux de la plupart des métabolites secondaires sont l'acétyl-CoenzymeA, l'erythrose-4-phosphate, le phosphoénolpyruvate, les acides aminés, le pyruvate et le 3- phosphoglycérate. A l'inverse des métabolites primaires, les métabolites secondaires ne sont pas synthétisés de manière uniforme dans le règne végétal. Un métabolite secondaire particulier est souvent spécifique à quelques espèces.

Ces métabolites secondaires sont classés selon leur structure chimique; on les résume en trois grandes catégories : les composés phénoliques, les isoprénoides et les composés azotés.

### **II. Les composés phénoliques :**

#### **II. 1. Définition :**

Les composés phénoliques ou les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des plantes, largement distribués possédant plusieurs groupements phénoliques, avec ou non d'autres fonctions et comportant au moins 8000 structures connues différentes (Bahorun, 1997 in Athamna, 2008), allant de molécules phénoliques simples de bas poids moléculaire tels que les acides phénoliques à des composés hautement polymérisés comme les tannins. Ils font partie intégrante de l'alimentation humaine et animale (Martin et Andriantsitohaina, 2002 in Athamna , 2008).

### **III. Les flavonoïdes :**

#### **III. 1. Définition :**

Les flavonoïdes représentent une classe de métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. On attribue à ces flavonoïdes des propriétés variées : veinotonique, antitumorale, anti-radicalaire, antiinflammatoire, analgésique, antiallergique, antispasmodique, antibactérienne, hépatoprotectrice, oestrogénique et/ou anti-oestrogénique, anti-virale etc...

Ils sont également connus pour moduler l'activité de plusieurs enzymes ou de récepteurs cellulaires. Le terme flavonoïde regroupe une très large gamme de composés naturels polyphénoliques. On distingue différents types de noyaux : flavones, flavonols, flavanones, flavanonols, flavanes, flavan-3-ols, flavylum, chalcones, auronnes, isoflavones, isoflavonols, isoflavanes, ptérocarpanes, coumaronochromones, 3-arylcoumarines, coumestanes, roténoïdes, etc...

### III. 2. Structure chimique et classification :

Structuralement, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules (Harbone, 1988) dont les plus importantes sont : les flavones, les flavonols, les flavanones, les isoflavones et les anthocyanidines. Ces diverses substances se rencontrent à la fois sous la forme libre (génine) ou sous la forme de glycoside (C ou O glycosylés). On les retrouve dans toutes les plantes vasculaires où elles peuvent être localisées dans divers organes : racines, tiges, feuilles et fruits (Bruneton, 1999).

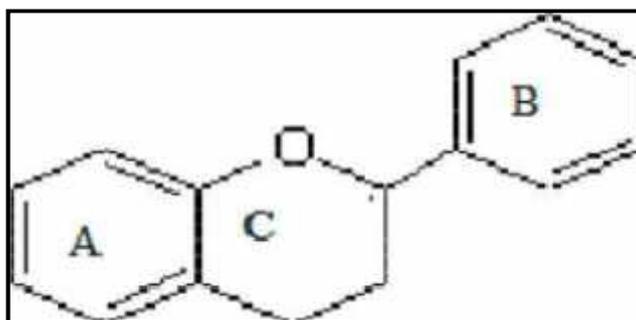


Fig.6 : Structure de base des flavonoïdes (Moufouk,2008)

### III. 3. Propriétés et caractéristiques physicochimiques et localisation des flavonoïdes :

#### III.3.1. Propriétés biologiques des flavonoïdes :

Les flavonoïdes ont suscité l'intérêt scientifique depuis plusieurs décennies. D'abord à cause de leur importance dans la physiologie des plantes et de leurs rôles dans la pigmentation, mais aussi parce qu'ils sont impliqués dans la croissance et la reproduction des plantes.

Ils ont également pour fonction de protéger ces dernières contre les pathogènes d'origine virale ou bactérienne, les prédateurs comme les insectes (Bravo, 1998, Manach *et al.*, 2004 in Bougandoura, 2010 ???).

Plus particulièrement, les flavonoïdes sont impliqués, chez les plantes, dans le transport d'électrons lors de la photosynthèse et ils jouent un rôle de protection contre les effets néfastes des rayons ultraviolets en agissant comme antioxydant. Les flavonoïdes parviennent à capturer les espèces réactives de l'oxygène associées au stress oxydatif, les empêchant ainsi de créer des dommages cellulaires.

En effet, ils sont capables d'inactiver et de stabiliser les radicaux libres grâce à leur groupement hydroxyle fortement réactif. Ils inhibent aussi l'oxydation des LDL et, de ce fait, peuvent prévenir l'athérosclérose et diminuer les risques de maladies cardiovasculaires.

Les flavonoïdes sont capables d'exercer en plus des propriétés antioxydantes, des propriétés anti-inflammatoires, antiallergiques et antiulcérogènes. Certains flavonoïdes ont également démontré un potentiel d'agent vasodilatateur Ils ont été surnommés les « modificateurs naturels des réponses biologiques» (Di Carlo *et al.*, 1999 ; Middleton *et al.*, 2000 ; Woodman et Chan, 2004 in Bougandoura, 2010).

### **III.3.2. Caractéristiques physico-chimiques :**

Les flavonoïdes possèdent plusieurs caractéristiques On citera les suivants :

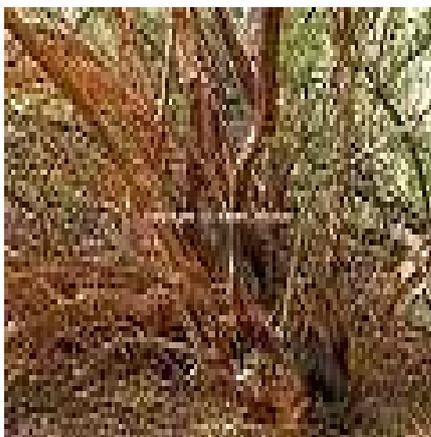
- Les flavonoïdes sont des solides cristallisés (Harborne, 1964) ;
- Les anthocyanes, sont les seules molécules du règne végétal capables de produire une vaste gamme de couleurs, susceptibles de donner des teintes allant du jaune-orangé au bleu, en passant par le pourpre et le rouge ;
- Les flavones, aurones et chalcones donnent plutôt des couleurs jaunes, beiges voire blanches, ou participent aux nuances produites par les anthocyanes et les caroténoïdes ;
- Ils possèdent un spectre d'absorption dans l'ultraviolet avec généralement deux maximums caractéristiques variant avec chaque type flavonique et permettant leur identification.

- Les flavonoïdes sont solubles dans l'eau surtout à chaud, l'alcool et dans les autres solvants organiques polaires, insolubles dans des solvants apolaires.
- Les flavonoïdes sont solubles dans les solutions alcalines (ammoniaque ou potasse) en donnant une coloration jaune qui disparaît par addition d'acide (Bruneton, 1999).

### **III.3.3. Localisation :**

Les flavonoïdes peuvent être présents dans toutes les parties des plantes. Dans la majorité des cas, les flavonoïdes sont présents sous forme glycosylée dans les plantes car la glycosylation a pour effet de les rendre moins réactifs et plus hydrosolubles permettant alors le stockage dans les vacuoles des cellules épidermiques des fleurs, de l'épiderme et de mésophylle des feuilles, des parenchymes des tiges et racines (Bruneton, 1999).

Procédés d'extraction des Flavonoïdes (Exp des méthodes et terminer avec celle qui sera utilisée dans votre travail)



**Fig.06 : racine de salvadora persica**

### **III.3.4. Extraction et purification**

L'extraction des flavonoïdes est basée sur leur solubilité dans l'eau et dans l'alcool à chaud. On obtient parfois la cristallisation des hétérosides par simple refroidissement des solutions extractives. Le plus souvent, l'extraction est effectuée par l'alcool, les solutions

alcooliques obtenues sont évaporées. Le résidu est repris par l'eau chaude et épuisé par l'acétate d'éthyle puis le butanol. Si cela est nécessaire, on purifie par chromatographie sur colonne. Les flavonoïdes isolés à l'état pur sont souvent transformés en dérivés plus hydrosolubles pour l'utilisation en thérapeutique (Bruneton, 1999).

### **III.3.5. Utilisations thérapeutiques :**

De nos jours plusieurs activités sont attribuées aux flavonoïdes dans le domaine thérapeutique, dont on peut trouver des activités anti oxydantes, anti-inflammatoires, antiallergiques, et anticancéreuses. Des études récentes ont montré l'effet bactéricide des flavonoïdes sur un *staphylococcus aureus* (Remdane, 2009).

## **VI- Les Alcaloïdes**

### **VI.1. Définition**

Le terme d'alcaloïde a été introduit par W. Meisner au début du XIXe siècle pour désigner des substances naturelles réagissant comme des bases, comme des *alcalis*. Il n'existe pas de définition simple et précise des alcaloïdes et il est parfois difficile de situer les frontières qui séparent les alcaloïdes des autres métabolites azotés naturels.

Initialement définis comme des substances azotées, basiques, d'origine naturelle et de distribution restreinte, les alcaloïdes ont une structure complexe. Leur atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique.

Ils possèdent une activité pharmacologique significative; pour certains auteurs, ils sont issus du seul règne végétal. Ils existent à l'état de sels et l'on peut rajouter qu'ils sont biosynthétiquement formés à partir d'un acide aminé (Bruneton, 1999).

### **VI- 2. Propriétés physico-chimiques :**

Les Alcaloïdes possèdent également plusieurs caractéristiques d'ordre physique et chimique parmi eux on a :

- La Masse moléculaire varie de 100 à 900 ;
- Presque toujours capables de dévier la lumière polarisée ;
- En règle générale, les alcaloïdes bases sont insolubles ou très peu solubles dans l'eau, solubles dans les solvants organiques apolaires ou peu solubles dans les alcools de titre élevé ;

- La basicité des alcaloïdes est très variable, cette propriété étant étroitement fonction de la disponibilité du doublet libre de l'azote ;
- La basicité des alcaloïdes permet de former des sels avec des acides minéraux (chlorhydrates, sulfates, nitrates) ou organiques (tartres, sulfamates, maliates);
- La basicité des alcaloïdes est un facteur d'instabilité pour ces molécules qui, à l'état de base et en solution, sont sensibles à la chaleur, à la lumière, à l'oxygène ;
- Les sels cristallisés se conservent plutôt bien, ils consistent la forme commerciale habituelle pour ces molécules (Bruneton, 1999).

#### VI- 4. Les coumarines :

Pour la première fois, la coumarine fut isolée de la fève tonka (*Coumarounaodorata*) à laquelle elle confère son odeur caractéristique de foin coupé (Garnero, 2000 in Makhloufi, 2010). Les coumarines, de différents types, se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses. Elles sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes (Igor, 2002 in Makhloufi, 2010)

#### VI- 5. Les terpènes :

La très grande majorité des terpènes sont spécifiques du règne végétal mais on peut en rencontrer chez les animaux. Tous les terpènes et les stéroïdes peuvent être considérés comme formés par l'assemblage d'un nombre entier d'unités pentacarbonées ramifiées dérivées du IPP.

Selon le nombre d'entités isoprène qui sont incorporées dans leurs structures, les terpènes sont subdivisés en : monoterpènes ( $C_{10}H_{16}$ ), sesquiterpènes ( $C_{15}H_{24}$ ), diterpènes ( $C_{20}H_{32}$ ), triterpènes ( $C_{30}H_{48}$ ), tetraterpènes ( $C_{40}H_{64}$ ) et polyterpènes ( $C_{50}H_{80}$ ) (Belguidoum, 2011)

#### II. 6. Présentation des souches bactériennes utilisées:

- *Staphylococcus sp*:

Les *staphylocoques* sont des cocci à gram positif qui tendent à se grouper en amas (Nauciel, 2000, in Athamna) irrégulier à la façon d'une grappe de raisin (Avril ???, 2000, in Athamna). *Staphylococcus aureus* est un germe aérobie - anaérobie facultatif (Avril, 2000, in Athamna), doit son nom d'espèce à l'aspect pigmenté de ses colonies. Il tient une place très importante dans les infections communautaires et nosocomiales, possède une coagulase, ce qui le distingue de la plupart des autres espèces de *staphylocoques*.

La bactérie est très répandue chez l'homme et dans de nombreuses espèces animales. Chez l'homme, environ un tiers des sujets sont des porteurs sains qui hébergent la bactérie au niveau des muqueuses et des zones cutanées humides. Il développe rapidement des résistances aux antibiotiques et les souches hospitalières ne sont souvent sensibles qu'aux glycopeptides (Nauciel, 2000). fig.07.



**Fig.07 :** *Staphylococcus sp*

- ***Escherichia coli* :**

C'est l'espèce dominante de la flore aérobie du tube digestif. *Escherichia coli* (685.686) fig .(08.09) est habituellement une bactérie commensale. Elle peut devenir pathogène si les défenses de l'hôte se trouvent affaiblies ou si elle acquiert des facteurs de virulence particuliers (Nauciel, 2000, in Athamna 2010).fig.10..



**Fig.08 :** *Escherichia coli*(685)



**Fig.09 :** *Escherichia coli*(686)



**Fig.10: *Escherichia coli***

## Chapitre 3 Matériels et méthodes

### 1-Matériel végétal utilisé :

Pour la présente étude il est utilisé comme matériel végétal *Salvador persica*. Les échantillons sont séchés à l'abri de la lumière et d'humidité, à la température ambiante du labo(02).

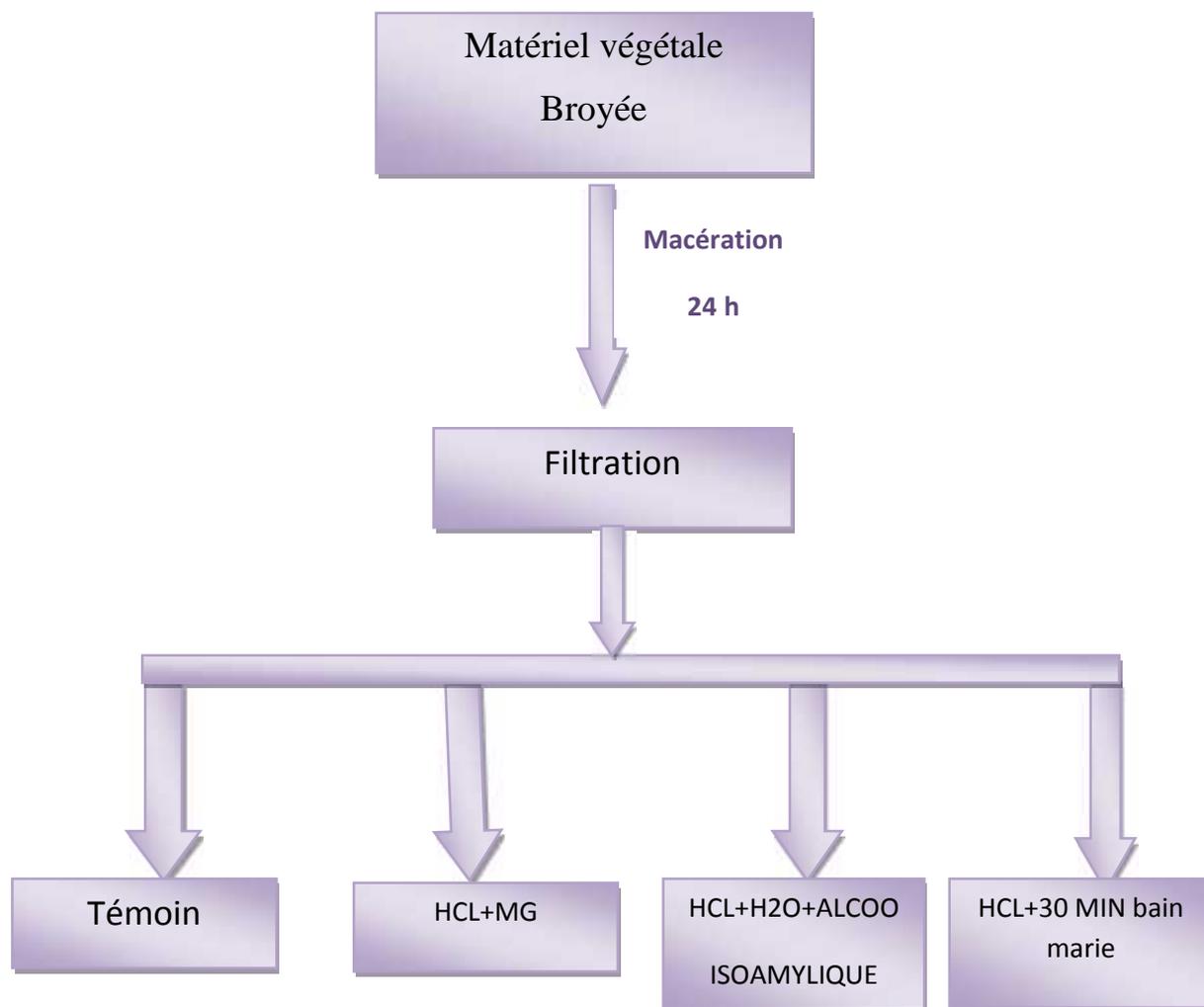
### 2-Criblages des flavonoïdes Criblages des flavonoïdes

Nous avons broyé 10g de matérielle végétale(les racine de la plante), dans un bécher nous avons introduit le broyat et en rajoute 10ml de mélange de solvant (méthanol/eau) :(7/3) après 24 h en filtre le broyat sur papier filtre .Chaque extrais est **repartir dans quatre tubes :**

Le tube 1 sert du témoin.

Dans la deuxièmes tube on ajoute quelque goutte de HCl concentrés a 50 % et quelques cristaux de Mg (5 environ 0.5 g), on laisse agir 5 min. la présence d'un coloration rouge (flavone , ou rouge pourpre (flavonol) et la coloration rouge violacé (flavanone et flavonal) . dans la troisièmes tube en ajoute 1 ml d'eau distillée et 1 ml d'alcool isoamylique. En remarque deux phases, la coloration de la phase supérieure qui est prise en considération.

Dans le quatrième tube en ajoute 0.5 ml de HCl concentré et mettre au bain marie 30 minutes. La coloration rouge dénote la présence de leucoanthocyane.



**Fig. 11: Protocole de criblage des flavonoïdes.**

### **3- Extraction des flavonoïdes :**

#### **3-1 Macération et préparation des extraits méthanoliques bruts**

Suivant le protocole d'extraction décrit par (Marston et Hostettmann, 2006 ; in Akroum ,2011). Le matériel végétal broyé (100 g) est soumis à une extraction par macération dans le mélange solvant / eau pendant 24 heures avec renouvellement de solvant toutes les 24 heures et agitation de temps en temps.

Le rapport matériel végétal /solvant utilisé était de (1 /10 g/ml)

Le mélange méthanol/eau 7/3 :( v/v)

### **3-2 Fractionnement des extraits bruts par extraction Liquide**

#### **Liquide:**

Cette étape permet de séparer les flavonoïdes selon leur structure et leur degré de polymérisation en les affrontant avec plusieurs solvants allant du moins polaire au plus polaire.

### **3-3 Fractionnement de l'extrait méthanolique (MeOH) :**

La phase aqueuse est affrontée successivement par les solvants suivant :

- L'éther de pétrole.
- Le Butanol.
- L'acétate d'éthyle.

Ces affrontements se font dans les ampoules à décanter, la phase aqueuse et les solvants sont mélangés énergiquement en laissant s'échapper à chaque fois les gazes. Après un repos de 24h en récupère séparément d'une part, et la phase aqueuse d'autre part, le solvant utilisé se charge des composés spécifiques.

La phase d'éther de pétrole ne referme pas des composés phénoliques et elle est rejetée, quant aux autres phases, elles sont évaporées à sec avec le rota vapo à 50°C puis récupérées à 10 ml du méthanol.

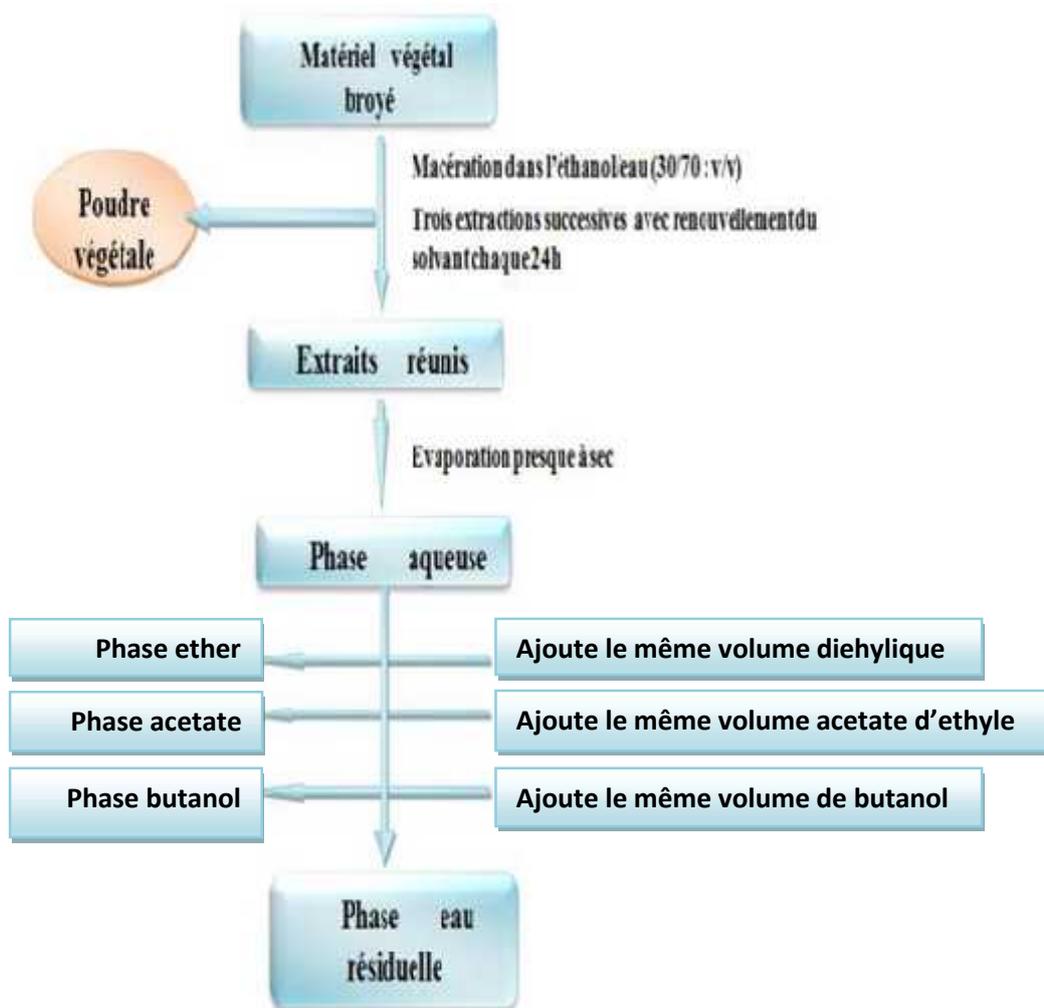


Fig. 12: Protocole d'extraction des flavonoïdes (Merghem et al, 1995)

#### 4- La chromatographie analytique sur couche mince (CCM) :

La chromatographie est un outil analytique utilisé pour la séparation, l'identification, et la quantification de composés chimiques dans des mélanges complexes comme des extraits de plantes.

##### 4-1 Principe :

Le principe de la chromatographie repose sur l'entraînement d'un échantillon dissous par une phase mobile à travers une phase stationnaire (Wikipédia, 2008).

##### 4-2 Mode opératoire :

- **a / la phase stationnaire** : une couche mince de matériel adsorbant (gel de silice).
- **b / la phase mobile ou éluant** : La phase mobile est constituée par un mélange de solvants organiques.

- **c/Préparation de la cuve** : le système d'élution correspondant est Préparé (tableau 1) puis versé au fond de la cuve. Celle-ci est ensuite fermée pour permettre la saturation en vapeur de l'éluant pendant 60min. Cette préparation est faite sous la hotte.

	Systèmes solvants	Proportions (v/v/v)
Système Choisi	Butanol/acide acétique/H <sub>2</sub> O	((5-1-4))

**Tableau 1** :Le système solvants utilisé pour la CCM.

- **d / préparation des plaques et dépôts des échantillons** : Des plaques au gel de silice, sur un support d'aluminium (merck) ont été utilisées.les dépôts sont faits avec précaution, sous forme de tirets à l'aide d'une pipette pasteur. Il est nécessaire de sécher entre chaque dépôt.
- **e / Développement des plaques** : chaque plaque est déposée verticalement et doucement dans la cuve contenant le système d'élution. La cuve est fermée et on n'est plus déplacés jusqu'à la fin du développement (fig.III.3).la plaque est retirée lorsque le front de l'éluant atteint 1cm de son bord supérieur. Elle est posée a plat pour la faire sécher et à l'aide d'un crayon, on marque la position du front de l'éluant.

➤



**Fig. 13:** développement d'une plaque CCM

- **f / Révélation** : la plaque est placée sous une lampe UV entre 254 nm et 365 nm pour visualiser les taches sombre (figIII.4).



**Fig. 14: lampe à UV.**

- **g / Identification des flavonoïdes** : le comportement d'une molécule particulière dans un système donné est exprimé par sa fluorescence sous UV et par son Rf (le rapport de la front du solvant) qui est compris entre 0 et 1.
- **Relation : Structure - Rf**

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).

## **5-Etude de l'Activité antibactérienne :**

### **5-1 Objectif :**

Pour évaluer l'activité antibactérienne des composés flavonoïques, la méthode de contact direct en milieu solide a été utilisée.

On a choisi de travailler sur 3 souches bactériennes (*E. coli*, 658 et *E. coli* 686, *Staphilococcus sp* ) qui sont identifiées par laboratoire de microbiologie du CHU de Constantine.

## 5-2Principe :

L'activité antibactérienne des extraits est testée in vitro par la méthode de diffusion sur gélose dite méthode de diffusion de disque (*Rahal et al.*)

Le but est de prédire la sensibilité d'un germe à un ou plusieurs antibiotiques dans une optique essentiellement thérapeutique (Burnichon et Texier, 2003 in Amireche, 2013).

## 5-3 Stérilisation du matériel

On stérilise à l'autoclave à 121°C pendant 20 minutes :

- L'eau distillée et les tubes à essai utilisées dans la préparation des solutions bactériennes, ainsi que dans la préparation des dilutions de nos échantillons
- Les disques en papier **whatman**

## 5-4 Préparation des souches bactériennes :

Les souches bactériennes proviennent du laboratoire de microbiologie de la CHU Constantine.

## 5-5Extrait testé :

On s'est intéressé à l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique obtenu à partir de la racine. On a testé :

- La Phase butanol.
- La Phase aqueuse.
- La Phase éther
- La Phase acétate

Ces phases ont été obtenues suivant la méthode d'extraction décrite précédemment

## 5-6 Milieu de culture :

Nous avons utilisé comme milieu de culture le milieu Mueller Hinton pour *E.coli*, milieu Chapman pour *Staphilococcus*

Les milieux de culture solide mis en bain marie pour une heure pour devenir liquide, coulé dans des boîtes de pétri, puis laissé à température ambiante du laboratoire près du bec benzène jusqu'à ce qu'il devienne complètement solide.

## 5-7Culture des bactéries :

On a trempé un écouvillon dans la suspension bactérienne et on a étalé sur la surface entière de la gélose (Gélose Mueller Hinton et Chapman) à trois reprises, en tournant la boîte à environ 60° après chaque application dont le but d'avoir une distribution égale des bactéries. Enfin, on les a déposés sur la surface de la gélose préalablement inoculée avec la souche bactérienne.

### **5-8 Dépôts des extraits :**

#### **5-8-1 Dépôt des disques :**

Les disques de papier Watman sont imprégnés ensuite d'une petite quantité des extraits et déposés sur la surface de la gélose inoculée. Les disques trempés dans le solvant servant de témoin négatif, sont aussi déposés sur la surface de la gélose inoculée.

Les boîtes de pétri ont été incubées à 37°C pendant 18 à 24 h

#### **5-8-2 Méthode 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 1 ml d'extrait

#### **5-8-3 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

1. Les Résultats de criblage des flavonoïdes :

Les résultats de criblage phytochimique des flavonoïdes sont classés en fonction des différents critères d'observations.

Entre autres :

Test \ Organe	Racine
<b>Témoin</b>	- -
<b>Test 1 (anthocyanes)</b>	-
<b>Test 2 (flavonoïdes libres)</b>	+
<b>Test 3 (leucoanthocyanes)</b>	++

Réaction positive : ++ ; Réaction douteuse : + ; - Réaction négatif : -

**Tableau 2 :** Résultats du criblage des flavonoïdes dans les racines de *salvadora .persica*



**Fig .11 :** Résultat des tste du criblage des flavonoides dans l'extrait des racine de *Salvadora persica*

Pour les détermination des flavonoïdes nous avoir réaliser le criblage photochimique au niveau racine du plant, ces tests révèlent la présence des flavonoïdes dans le plant *salvadora persica*.

Les flavonoïdes par le traitement acide HCl, sont réduits en anthocyane qui sont responsable a la couleur rouge par élimination d'une molécule d H<sub>2</sub>o , selon les travaux de lock et la ,(2006) et boumaza (2010) .

Nos résultat montrent également l'absence de la couleur rouge .donc l'absence de anthocyane au niveaux de racine.

Les flavonoïdes par le traitement acide HCl +H<sub>2</sub>o+alcoole isomylique sont réduits en flavonoïdes libre apparaissant sous la forme d'une coloration de la phase supérieure en rouge. Les flavonoïdes par le traitement acide HCl dans 30 min de bien marie, sont réduits en **leucoanthocyanes** qui sont responsable de la couleur rouge.

Nos résultat montrent également l'absences des anthocyanes ou niveaux des racines, alors chez notre espèce *Salvadora persica* ; les flavonoïdes sont présents dans les racines sous deux formes :

-flavonoïdes liber (flavanol -apparition de la couleur rouge propre ).

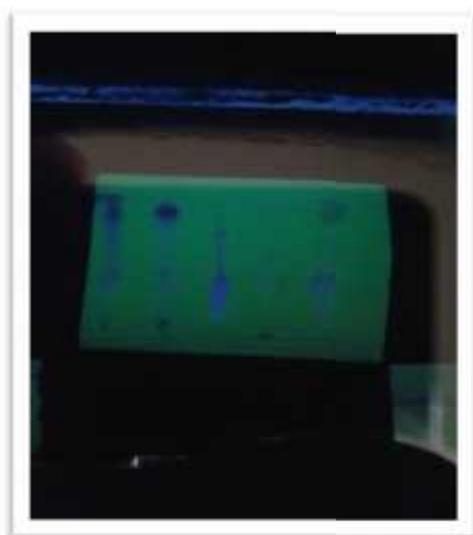
-les leucoanthocyanes.

## **2. Résulta Séparation des extraits bruts Meoh Par Chromatographie Sur Couche Mince (CCM)**

Le développement de la technique de la chromatographie sur couche mince commence non seulement par le choix de la phase mobile de séparation mais aussi le choix de la phase stationnaire.

Pour avoir les empreintes flavoniques de nos extraits, et avoir une idée sur leurs compositions chimiques, une chromatographie analytique sur couche mince a été réalisée en utilisant le système solvant (Acétate d'éthyle/MeOH/H<sub>2</sub>O).

Sous lumière UV à 254 nm et les différentes tâches qui se présentent sur les chromatogrammes ont été délimitées au crayon. (Fig.13)



**Plaque CCM n :1**



**plaqueCCM n :2**

**Fig .12 : Révélation par UV (254)**



**Fig .13 : Chromatogramme sur couche mince des différentes phases de l'extrait méthanolique des racines chez *salvadora persica***

Nous avons réaliser des répétitions afin de mettre en évidence le pouvoir de cette plante :

**Tableau 3 :** Rapports frontaux des différents spots séparés après **CCM n°1** des différentes fractions des extraits et MeOH des racines de *Salvadora persica*

Spot Révélés	Rapports frontales (Rf)				
	Racine				
	FED	FAE	Faq	FBu	Fex
Spot 1	0.53	0.33	0.28	0.59	0.45
Spot 2	0.88	0.84	0.36	0.95	0.46
Spot 3	/	0.97	0.70	/	0.90
Spot 4	/	/	/	/	0.96

**FED** : Fraction Ether Diéthylique, **FAE** : Fraction Acétate d'Ethyle, **Faq** : Fraction aqueuse, **FBu**: Fraction butanol, **fex** : Fraction extraire

**Tableau 4 :** Rapports frontaux des différents spots séparés après **CCM n°2** des différentes fractions des extraits et MeOH des racines de *Salvadora. persica*

Spot Révélés	Rapports frontaux (Rf)				
	Racine				
	FED	FAE	Faq	FBu	Fex
Spot 1	0.81	0.68	0.34	0.32	0.44
Spot 2		0.81	0.65		0.78
Spot 3					0.91

En comparant nos résultats avec ceux d'une étude (Douib, 2014) sur les flavonoïdes naturels à acétate, les Rf pour la phase acétate d'éthyle sont proche de ceux trouver dans notre travail .

Le chromatogramme obtenu dans notre travail montres des diminutions et augmentation des valeurs des RF pour les différentes fractions, Entre dithylique , butanol ,Acétate d'Ethyle ,aqueuse, présentent des Rf compris enter (0.5-0.75) ,ces composés sont des méthoxyflavones , des flavonones et flavonolset Anthocyanidine selon (Bandycova et shinkarenko,1973 en 2014 ).

Cette augmentation est due à une méthylation des groupement (OH) et l'acétylation, par contre, la diminution du RF entre (0.28-.033),(0.38-0.5) est expliqué par les mêmes auteurs que l'augmentation de (OH) est due principalement de l'introduction de nouveaux groupements, ces groupements sont des glycosylation, ces composés sont contenus dans les Fbu ,et FAE de l'extrait MoHO et sont préalablement des comparant nos RF avec ceux des étalons appliqués dans les mêmes conditions expérimentales (mohammedi, 2005), et d après notre résultat ,la plante est riche en flavonoïde qui sont présents sous différentes formes ,Flavonols , flavone.

### **3. Evaluation de l'activité antibactérienne des flavonoïdes :**

Nous avons étudié in vitro le pouvoir antibactérien des flavonoïdes de *salvadora persica par* la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé solide.

L'activité antibactérienne de nos extraits est estimée en terme de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les produits à tester vis-à-vis des trois germes pathogènes d'origine hospitalière (*Escherichia coli* 685, *Escherichia coli* 586 *Staphylococcus* ) après 24 heures d'incubation à une température adéquate de 37°C.

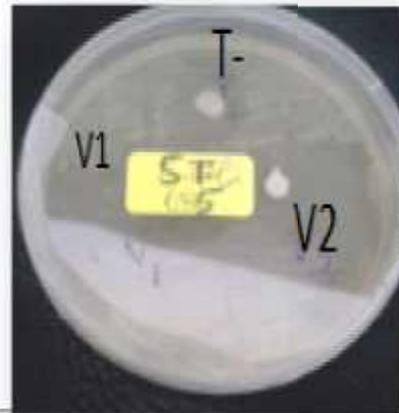
Lors de cette étude, nous avons testé l'action de deux volumes de l'extrait de la plante vis-à-vis de quelques souches bactériennes.

Les résultats de l'évaluation antibactérienne des extraits sont repris ci-dessous :

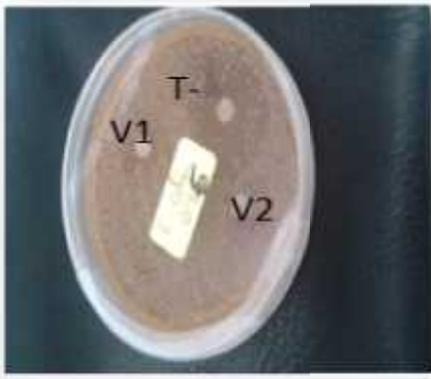
**RESULTATS ET DISCUSSIONS**



**E. Coli 685  
R1**



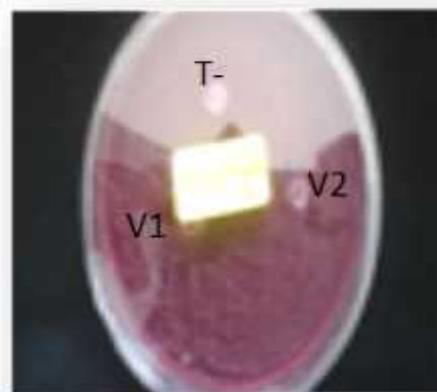
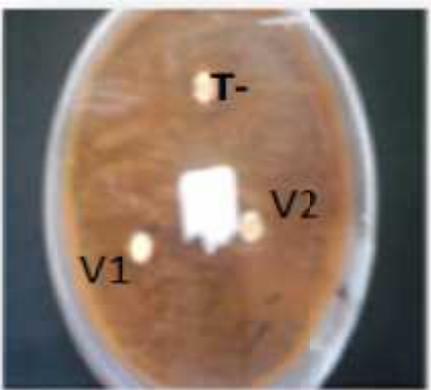
**E. Coli 685  
R2**



**E. Coli 686  
R1**



**E. Coli 686  
R2**



<b>Staphylococcus R1</b>	<b>Staphylococcus R2</b>
------------------------------	------------------------------

**Figure .14 :** Résultat de L'Activité antibactérienne des différents volumes de l'extrait des racines de *salvadora .persica*

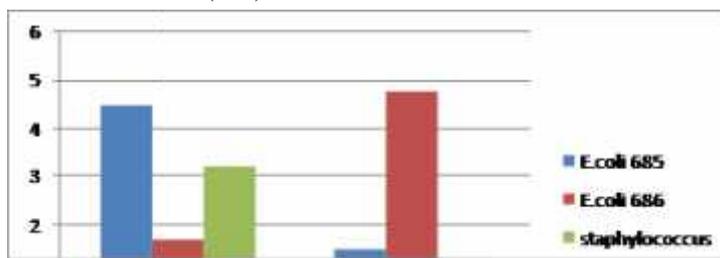
Ce tableau présent les résultats de l'Activité antibactérienne des fractions obtenues après séparation par différents volumes de l'extrait des racines de *salvadora persica*

**Tableau 5 :** Diamètres d'inhibition des différents Volumes de l'extrait de *salvadora persica*

Fraction Bactérie	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)			
	Racine			
Répétition	R1		R2	
<i>E. coli</i> (685)	V1	V2	V1	V2
		4.5	2.5	1.5
<i>E. coli</i> (686)	1.7	1.5	4.8	3.6
<i>Staphylococcus .sp</i>	3.2	2.0	1.0	1.3

Le tableau 5 montre que l'extrait a une bonne activité dans le volume 1 que le volume 2 dilué vis-à-vis de *E.coli 685* et *staphylococcus sp*.

Dont les diamètres des zones d'inhibition (4.5) mm pour *E.coli685* et (3.2) mm *Staphylococcus sp* et un diamètre très faible (1.5) mm pour *E.coli686* dans le volume 1 et un diamètre de (4.8) mm volume 2 .



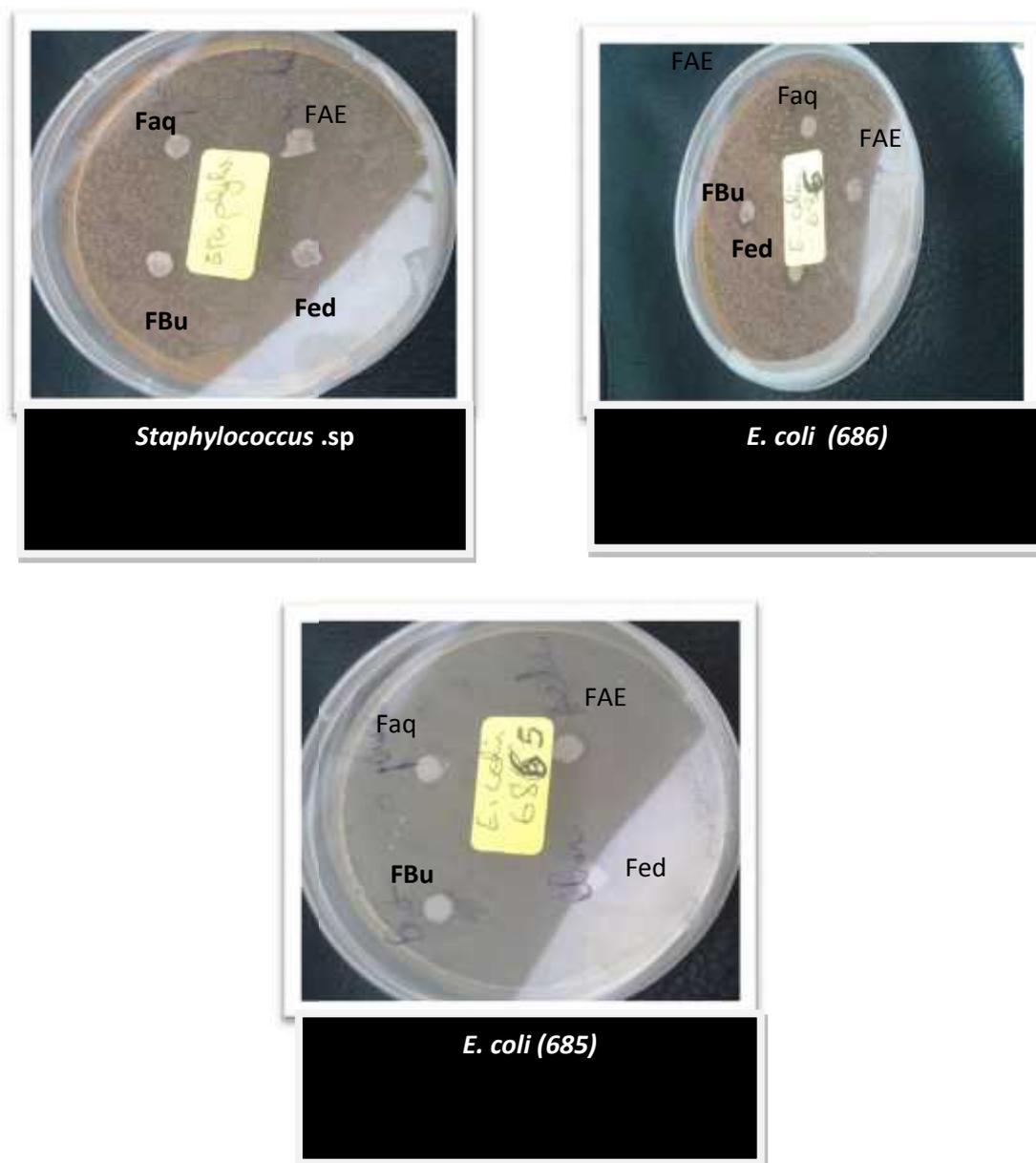
**Fig. 15** : Histogramme qui représente les diamètres des zones d'inhibition des deux volumes de l'extrait

Le tableau ci-dessous montre les résultats obtenus par les différentes phases de l'extrait méthanolique

Fraction Bactérie		Ph AE	PhBu	Ph aq	Ph ed
<i>E. coli</i> (685)	Gélose	8.15	4.25	3.13	1.26
<i>E. coli</i> (686)	Chapman	13	9.36	7.60	3.55
<i>Staphylococcus sp</i>	Chapman	11.5	5.60	2.75	0.90

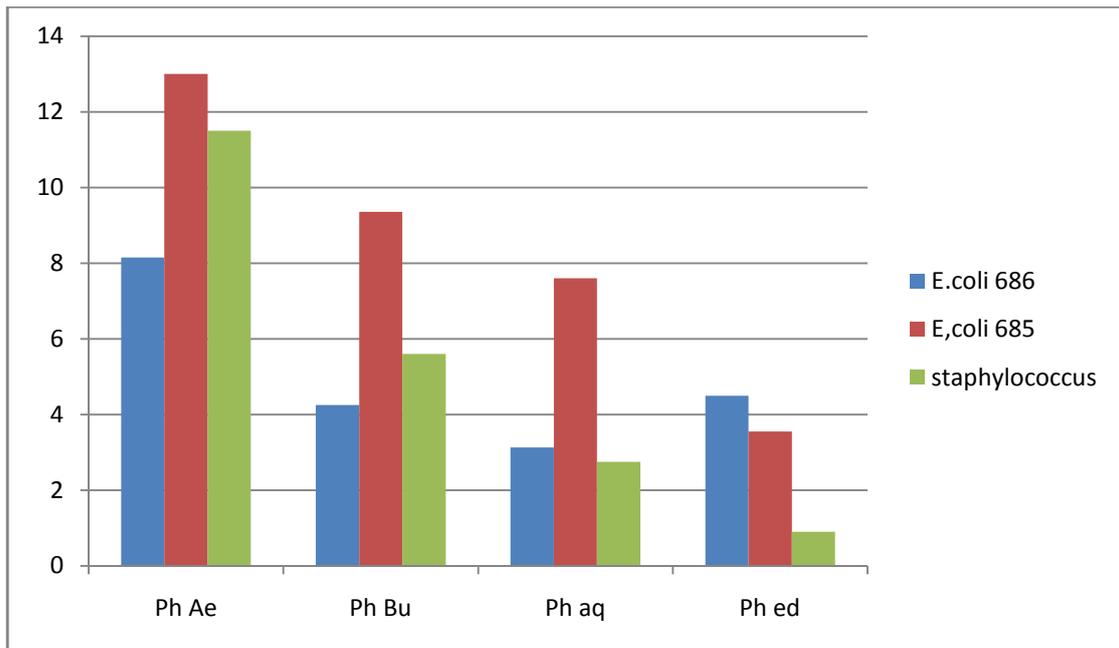
**Phed.** Ether D'éthylique, **PhBu**: phase butanol ; **PhAE** : phase acetate d'Ethyle, **phaq** : phase aqueuse

**Tableau 6** : diamètres d'inhibition des différentes fractions de l'extrait de *salvadora. persica*



**Fig. 16** : Résultat de l'activité antibactérienne des différentes fractions de l'extrait des racines de *salvadora persica*

**D après le tableau 6** on a observé une bonne activité avec l'extrait methanolyque vis-à-vis à *E.coli* 686 , *E.coli* 685 et *Staphylococcus* dont les diamètres des zones d'inhibition de mm



les abréviations du dessin ???

**Fig. 16** : Histogramme représenté les diamètres des zones mm d'inhibition des différent phases.

Pour ces différent phases , nous remarquons que l'extrait d'acétate d'éthyle montre une activité plus élevée que les autres l'extrait.

## **Conclusion général**

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Dans ce travail nous avons entrepris une étude phytochimique et biologique sur les flavonoïdes dans l'espèce *salvadora persica*.

L'espèce *salvadora persica* qui appartient de la famille des Lamiacées très fréquemment employées en Algérie. Notre recherche a pour but, la détermination de la richesse de *salvadora persica* en flavonoïdes qui ont montré un potentiel antibactérien Intéressant.

Cette étude a été réalisée à partir des extraits racines de *salvadora persica* après avoir soumis à des tests de criblage des flavonoïdes et en ayant des résultats positifs pour les flavonoïdes libres et leucoanthocyanes, et en ayant des résultats négatives pour les anthocyanes

Les résultats de l'analyse effectuée par la chromatographie sur couche mince, Montrent que les extraits méthanolique de organes (racin) renferment une multitude de type de ces composés dont les flavonols, flavones En raison de la richesse en flavonoïdes, l'étude du pouvoir antibactérien des différentes fractions, obtenues par extraction liquide-liquide, Les extraits du romarin ont témoigné d'une activité antibactérienne intéressante contre les bactéries, *Staphilococcus sp*, et *E.coli*(685.686).

On conclue de tous nos résultats obtenus que l'espèce *salvadora persica* est très riches en flavonoïdes, particulièrement au niveau des racines. Ces flavonoïdes présentent un pouvoir antibactérien important.

Une prolongation de ce travail à l'avenir est souhaitable pour étudier les composants Présents dans l'extrait méthanoïque du *salvadora* et pour évaluer leur activité antibactérienne.

Il serait donc intéressant de mener une étude plus approfondis sur *salvadora persica* afin d' identifier et étudier les flavonoïdes de cette plante utilisant des méthodes plus précise telles que CCM .en ce qui concerne activité antibactérienne il

serait intéressant de définir le mécanisme d'action de cette substance végétale sur le microorganisme

Au cours de cette étude nous avons conclu que L'espèce salvadora persica est riche en flavonoïdes et huiles essentielles, Sachant que notre pays possède une biodiversité immense dont chaque plante se caractérise par un réservoir assez important des métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques particulières qui demandent d'être exploitées par les recherches, de cet effet, et comme perspectives on propose de :

1. Déterminer de nouvelles substances bioactives naturelles pourront répondre aux différents problèmes de la santé et d'être un alternatif des médicaments synthétiques.
2. Développer des médicaments antibactériens à base des plantes.

Orienter les recherches scientifiques vers la réalisation des études approfondies et complémentaires de l'activité antibactérienne des composés polyphénoliques en général et des flavonoïdes en particulier.

## **Résumé :**

Ce travail a porté sur l'étude quantitative et qualitative des extraits de *salvadora persica* et en particulier les flavonoïdes. Les caractéristiques chimiques, notamment le taux des principaux constituants ne s'éloignent pas des résultats d'études antérieures. Le criblage de *salvadora persica* montre la richesse de *salvadora persica* en composés phénoliques et plus particulièrement en flavonoïdes.

L'analyse chromatographique de ces extraits met en évidence la présence d'un certain nombre de composés phénoliques.

On complète notre étude par une évaluation du pouvoir antibactérien de l'extrait flavonoïque de notre plante contre trois souches. Les résultats montrent une inhibition importante de l'activité des bactéries.

Mots clés : plante médicinale-*salvadora persica*-flavonoïdes-métabolisme secondaire-CCM-activité antibactérienne.

## Summary :

This work has focused on the quantitative and qualitative study of extracts, especially flavonoids of *salvadora persica*. chemical characteristics, including the rate of main components is not away from the results previous studies. however, the criblage of *salvadora persica* show the richness of *salvadora persica* on phenolic comounds and more particularly on flavonoids.

Chromatographic analusis of these extracts reveals the presence of a number of phenolic compounds.

We finished our study with an evaluation of the anti-bacterial power effect of the flavonoid extraction of our plant on three strains. the results show an important inhibition of the bacterial activities.

:

هذا العمل يتضمن الدراسة الكمية و الكيفية لمستخلص *salvadora persica* وتحديد الفلافونويدات و خصائصها الكيميائية لاهم المكونات قريبة من الدراسة السابقة. في حين المستخلص اظهر غنى هذه النبتة بالمركبات الفينولية واهمها الفلافونويدات.

التحليل الكروماتوغرافي لهذا المستخلص يثبت ايضا وجود هذه المركبات .

استكنا دراستنا باجراء تقييم للقوة المضادة للبكتيريا التي يتمتع بها المستخلص على ثلاثة سلالات بكتيرية بينت قدرة كبيرة لتثبيط النشاط البكتيري

كلمات مفتاحيه: نباتات طبية-*salvadora persica*-فلافونويدات-تقنية الفصل الصبغي – المضاد للبكتيريا

## Liste des figures

<b>Figure N°1</b> : bâton de salvadora persica.....	03
<b>Figure N°2</b> : Localisation géographiques de salvadora persica.....	04
<b>Figure N°3</b> : Feuilles de <i>S. persica</i> .....	06
<b>Figure N°4</b> : Rameaux de <i>S. persica</i> .....	06
<b>Figure N°5</b> : Rameaux de <i>S. persica</i> .....	06
<b>Figure N°6</b> : Structure de base des flavonoïdes( <b>Moufouk,2008</b> ) .....	13
<b>Figure N°7</b> : Protocole de criblage des flavonoïdes.....	20
<b>Figure N°8</b> : Protocole d'extraction des flavonoïdes (Merghem et al, 1995).....	22
<b>Figure N°9</b> : développement d'un plaque CCM.....	24
<b>Figure N°10</b> : lampe à UV .....	24
<b>Figure N° :11</b>	
<b>Figure N° :12</b>	
<b>Figure N° :13</b>	
<b>Figure N° :14</b>	

## **LISTE DES TABLEAUX :**

**Tableau n°1:**Le système solvants utilisé pour CCM.....23

**Tableau n°2 :** Résultats du criblage des flavonoïdes dans les racines de *salvadora.persica*.....28

**Tableau n°3 :** Rapports frontaux des différents spots séparés après CCM des différentes fractions des extraits et MeOH des racines de *salvadora.persica*.....31

**Tableau n°4:** Rapports frontaux des différents spots séparés après CCM n :2 des différentes fractions des extraits et MeOH des racines de *salvadora persica*.....31

**Tableau n°5 :** Diamètres d'inhibition des différentes Volumes de l'extrait de *salvadora.persica*.....35

**Tableau n° 6 :** diamètres d'une d'inhibition des différentes fractions de l'extrait de *salvadora.persica*.....36

•

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**1 Abdellah O. M; 2001.** Les plantes médicinales des zones arides en Mauritanie.

Séminaire international ECODEV 2001 durable en zones arides et semiarides

:112-125.

**2 Alali F. ; Hudaib M. ; Abjurai T. ; Kairellah K. ; Al-Hadidi N. ; 2005.** GC-MS

analysis et activité antimicrobienne de l'huile essentielle de la tige de l'arbre brosse à dents Jordanien *Salvadora persica*. Irbide en Jordanie. Journal pharmaceutical biology. Vol. 42: 577-580.

**Al-Bayati. A. F; Khudir D. S.; 2007.** In vitro activité antimicrobienne de *salvadora persica* L. université de Mossoul. Irak : 57-62.

**Bremness, L. (2002)** Plantes aromatiques et médicinales. Bordas (Ed). Paris, 303 p.

**6Bruneton J.; 1999.** Pharmacognosie-phytochimie-plante-médicinales 3<sup>ème</sup> éd.

Technique et documentation Lavoisier, Paris: 310-800.

**Carvalho G.; Gillet H.; 1960.** Catalogue raisonné et commenté des plantes de l'Ennedi (Tchad septentrional). Laboratoire d'agronomie tropicale du muséum national d'histoire naturelle et laboratoire central de l'office anti-Acridien : 71 p.

**Harborne, J.B. (1988)** The flavonoids, advances in research since 1980. Ed. Chapman

et Hall. London.

**13- Judd, W.S., Campbell, C.S., Kellogg, E.A., Stevens, P.**

**Gurib-Fakim A. 2006** Medicinal plants: Tradition of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular aspects of Medicine* 27: 1-93.

**Khalid A. ; 2002.** Effet d'un extrait de *Salvadora persica* (Miswak) et du gluconate de chlorhexidine sur la dentine humaine. *Journal of Contemporary Dent Practice*. Vol : 3 (3), pp : 27-35.

**Lhuillier A., 2007.** Contribution à l'étude pharmacologique de quatre plantes malgaches : *Agauria salcifolia* Hook. f. ex Oliver, *Agauria polyphylla* Baker (Ericaceae), *Tombourissa trichiphylla* Baker (Monimiaceae) et *Embelia concinna* Baker (Myrsinaceae). Thèse de doctorat de l'institut national polytechnique de Toulouse : 200 p

**Mamadou A. ; 2007.** Les effets environnementaux de la lutte chimique contre le criquet pèlerin (*Schistocerca gregaria* Forsk.; 1775) (*Orthoptera, Acrididae*) dans la vallée de Tafidet au Niger. Université agronomique et vétérinaire de Niamey : 168 p

**26 Ozanda P. ; 1983.** Flore et végétation du Sahara. 2<sup>ème</sup> éd CNRS, Paris: 106 p. Série Hassan II.

**Remdane F.; 2009.** Analyse et caractérisation de quelques métabolites secondaires de la plante *Nauplius gravolens* (Shousb) de Tamanrasset. Thèse de magister, université Kasdi Merbah d'ouargla : 16-88.

**Renie M.; 1933.** Etudes sur la flore et la végétation du Sahara central. N°3 Mission du Hoggar II, Vol. 1: 149

**Tewari V. P.; Arwatia M. L.; Kumar V. S. K.; 1997.** Problem of soil salinity and waterlogging in Indira Gandhi canal area of Rajasthan state. *Annals of biology*, 31 (1): 7-3.

**32 Tomar O. S.; Gupta R. K.; Dagar J. C.; 1998.** Afforestation techniques and evaluation of different tree species for waterlogged saline soils in semiarid tropics. *Arid soil research and rehabilitation*, 12 (4): 301-316.

**Zodape S. T.; Indusekhar; 2007.** *Salvadora persica*: A boon to wasteland development. *Journal of scientific and industrial research*. Vol: 56 (11): 657-661

---

**NON et Prénom : SLIMANI SAADIYA et DOUIB IMENE**

***Mémoire de fin de cycle***

***Pour l'obtention du diplôme de Master***

***Filière : Biologie et physiologie végétale***

***Option : Métabolisme secondaires et molécule bioactive***

***Thème :.....***

---

**Résumé :**

Ce travail porte sur une étude quantitative et qualitative des extraits de *salvadorapersica* (SIWEK) et en particulier les flavonoïdes présents dans ses racines. Les caractéristiques chimiques mit en évidence montre que le taux des principaux constituants ne s'éloignent pas des résultats obtenus dans d'études réalisées antérieurement. Un criblage des flavonoïdes chez *salvadorapersica* montre sa grande richesse en composés phénoliques et plus particulièrement en composés flavonoïques.

Une analyse chromatographique de ces extraits a mis en évidence la présence d'un certain nombre de composés **phénoliques**.

L'étude a été complétée par une évaluation du pouvoir antibactérien de l'extrait racinaire de notre plante sur trois souches bactériennes. Les résultats montrent (selon les bactéries) une importante inhibition de l'activité de ces dernières

**Mots clés :** plante médicinale, *Salvadorapersica*, flavonoïdes, métabolisme secondaire, activité antibactérienne

---

***le : 24/06/2015***

***Devant le jury :***

***-Présidente : Mr. CHIBANI SALIH ((MCB- UFM Constantine).***

***-Promoteur : Mme .GhoribiNedjois (MAA- UFM Constantine).***

***- Examinatrice :Mme .Bouchoukh Imane (MAA- UFM Constantine).***

***-***

***-Examinatrice : .....***

---