



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
Spécialité : Biologie et physiologie de la reproduction

Intitulé :

**Contribution à l'étude des propriétés phytochimiques et
biologiques du giroflier**
(*Syzygium aromaticum* (L.) Merrill & Perry)

Présenté par :

REMITA Esma

BENZINA Maroua

Soutenu le 08/07/2021

Devant le jury :

Président : M^f DJEROUNI Aissa (MCA) Université Frères Mentouri-Constantine1

Promoteur : M^{me} BOUCHOUKH Imane (MCB) Université Frères Mentouri-Constantine1

Examinatrice : M^{me} BAAZIZ Nacera (MCB) Université Frères Mentouri-Constantine1

Remerciements

Ce travail est le fruit de la combinaison d'efforts de plusieurs personnes. Nous remercions tout d'abord le tout puissant qui, par sa grâce nous a permis d'arriver au bout de nos efforts en nous donnant la santé, la force et le courage.

*Nos remerciements s'adressent à notre encadreur **Mme BOUCHOUKH, I.**, Maitre de conférences « B » à l'université Frères Mentouri Constantine 1, pour avoir accepté de diriger ce travail. Son soutien, ses compétences et clairvoyance nous ont été d'une aide inestimable.*

*Nous remercions **Mr DJEROUNI, A.** Maitre de conférences « A » à l'université Frères Mentouri Constantine 1, pour avoir accepté d'être le président du jury.*

*Nous remercions **Mme BAAZIZ, N.** Maitre de conférences « B » à l'université Frères Mentouri Constantine 1 d'avoir accepté d'évaluer notre modeste travail et d'être parmi le jury.*

*Nous tenons à remercier **Mr, CHIBANI, S.** Maitre de conférences « A » à l'université Frères Mentouri Constantine 1,, pour son aide a la réalisation de ce mémoire.*

*Un grand merci à **Mr MESSACI, DJ.** Pharmacien directeur général d'Isopharm-Algérie et son directeur technique le pharmacien **Mr CHERIAT, N.** d'avoir accepté de nous offrir l'opportunité de réalisé ce travail au sein de leur entreprise.*

*Nos remerciements vont également à **Mme RIACHI, H.** Pharmacienne directrice du laboratoire d'Isopharm-Algérie ainsi que son staff technique en l'occurrence : **Mme RAMOUL, Mlle LAHMER, Mme BOUSBIAT, Mme MESSAAD et Mr BENTOBBAL** de nous avoir aidés à l'accomplissement du stage.*

Dédicace

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

A nos familles

A nos amis

A tous ceux qui nous ont donnés la force de continuer

Résumé

La présente étude porte sur la mise en évidence de la présence des polyphénols dans l'extrait hydroalcoolique des boutons floraux du giroflier (*Syzygium aromaticum* (L.) Merrill & Perry), une espèce médicinale utilisée en phytothérapie traditionnelle. L'extraction des composés phénoliques a été réalisée par la méthode de macération.

Un criblage phytochimique nous a permis d'affirmer la richesse de la plante *Syzygium aromaticum* en composés phénoliques, et a été complété par une analyse chromatographique (CCM) qui a révélé la présence de plusieurs molécules à différents rapports frontaux.

Le test de mise en évidence de son pouvoir antibactérien est effectué sur trois souches bactériennes (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*).

Les résultats montrent que cette plante possède une importante activité antibactérienne avec des diamètres d'inhibition variant.

Mots clés : *Syzygium aromaticum*, Polyphénols, Extraction, CCM, activité antibactérienne

Abstract

This study examines the presence of polyphenols in the hydroalcoholic extract of the flower buds of the clove (*Syzygium aromaticum* (L.) Merrill & Perry), a medicinal species used in phytotherapy. The extraction of phenolic compounds was done by the maceration method.

A photochemical screening allowed us to confirm the richness of the plant *Syzygium aromaticum* in phenolic compounds, and was completed by a chromatography analysis (TLC) that revealed the presence of several molecules with different retardation factors.

The antibacterial potency test has been performed on three bacterial strains (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*).

The results show that this plant has significant antibacterial activity with varying inhibition diameters.

Keywords: *Syzygium aromaticum*, Polyphenols, Extraction, TLC, Antibacterial activity.

ملخص

تركز الدراسة الحالية على توضيح وجود البوليفينولات في المستخلص المائي الكحولي لبراعم زهرة القرنفل (*syzygium aromaticum* (L.) Merrill & Perry), وهي نبتة طبية تستعمل في طب الأعشاب التقليدي. قمنا باستخلاص المركبات الفينولية عن طريق تقنية النقع .

و قد أكد لنا الفحص الكيميائي النباتي أن نبات (*syzygium aromaticum*) غني بالمركبات الفينولية. و استكمل الفحص بتحليل كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (TLC) الذي كشف عن وجود عدة جزيئات بنسب أمامية مختلفة.

تم إجراء الاختبار لإثبات قوتها المضادة للبكتيريا على ثلاث سلالات بكتيرية (*Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus, Escherichia coli*)

أظهرت النتائج أن هذا النبات له نشاط هام مضاد للجراثيم بأقطار مختلفة من التنشيط.

الكلمات المفتاحية : *Syzygium aromaticum*, متعدد الفينول ، استخلاص ، TLC ، نشاط مضاد للجراثيم.

Sommaire

Liste des figures	10
Liste des tableaux	11
Liste des abréviations	12
Introduction	1
Synthèse Bibliographique	3
Chapitre I : Présentation de l'espèce étudiée	4
I.1. Généralités	4
I.2. Position systématique du giroflier (<i>Syzygium aromaticum</i> (L.) Merrill & Perry).....	4
I.3. Description botanique	5
I.4. Distribution géographique et culture	7
I.5. Composition chimique	8
I.6. Histoire d'utilisation du giroflier en phytothérapie	9
Chapitre II : Métabolisme secondaire	10
II.1. Généralités sur le métabolite primaire et secondaire	10
II.2. Les métabolites secondaires	10
II.2.1. Les composées phénoliques	12
II.2.1.1. La biosynthèse des polyphénols	13
II.2.1.2. Classification des polyphénols	14
1. Les flavonoïdes	14
2. Les tanins	20
3. Les terpènes	21
II.2.1.3. Effets biologiques des polyphénols	24
II.2.2. Les huiles essentielles	26
Partie Expérimentale	27
Chapitre I : Matériel et Méthodes	29
I.1. Matériel végétal	29
I.2. Etude phytochimique	29

I.2.1. Extraction des composés phénoliques	29
I.2.1.1. Macération.....	29
I.2.1.2. Concentration à sec de l'extrait	30
I.2.2. Criblage des métabolites secondaires	32
I.2.2.1. Criblage des flavonoïdes (test de Wilstater)	32
I.2.2.2. Criblage des anthocyanes (test de Bate-Smith).....	32
I.2.2.3. Criblage des anthraquinones	32
I.2.2.4. Criblage des tanins	32
I.2.2.5. Criblage des saponosides.....	33
I.3. Chromatographie analytique sur couche mince (C.C.M)	33
I.4. Etude de l'activité antibactérienne.....	34
I.4.1. Principe	34
I.4.2. Les souches bactériennes utilisées	34
I.4.3. Préparation de l'inoculum	35
I.4.4. Dilution des extraits	36
I.4.5. Préparation du milieu de culture.....	36
I.4.6. Dépôt de l'extrait	36
Chapitre II : Résultats et discussion.....	38
II.1. Rendement d'extraction.....	38
II.2. Criblage des métabolites secondaires	39
II.3. Chromatographie sur couche mince (CCM)	40
II.4. Activité antibactérienne	42
Conclusion	45
Bibliographie.....	47

Liste des figures

Figure 1: Arbre d'un giroflier de Madagascar (Atmani et Baira, 2015).....	5
Figure 2: Structure du giroflier (Köhler, 18887).....	6
Figure 3: Aire de culture du giroflier à Madagascar superficie et production des zones producteurs. (Danthu <i>et al.</i> , 2014).....	7
Figure 4: Composé majeur de l'huile essentielle des clous de girofle.....	8
Figure 5: Structure générale du noyau des flavonoides (Hein <i>et al.</i> , 2002).....	14
Figure 6: Structure chimique des flavonols (site1).	16
Figure 7: Structure chimique des différents flavones et flavonoïdes (site2).....	17
Figure 8: Structure chimiques des catéchines	18
Figure 9: Structure chimique des différents flavones et flavonoïdes (site3).....	19
Figure 10: Structures chimiques de quelques dihydrochalcones (site3).	19
Figure 11: Structures chimiques de quelques anthocyanidines (site3).	19
Figure 12: Structures chimiques de quelques anthocyanidines (site3).	20
Figure 13: Structures des tanins condensés (site3).....	21
Figure 14: Structures des sesquiterpènes (site2).	23
Figure 15: Structure des Diterpènes (site2).....	23
Figure 16: Structure des Triterpènes (site2).....	24
Figure 17: Effets biologiques des polyphénols (Martin et Andriantsitohaina, 2002).	25
Figure 18: Clous de Girofle.....	29
Figure 19: Les étapes de la macération.	30
Figure 20: Evaporateur à sec de l'extrait.	30
Figure 21: Schéma illustrant les étapes de l'extraction des composées phénoliques.	31
Figure 22: Développement de la plaque dans la cuve.	34
Figure 23: Les tubs des souches bactériennes utilisées.....	35
Figure 24: Dépôt des dilutions de l'extrait dans les puits.	36
Figure 25 : L'extrait obtenu à partir de l'extraction par méthanol 70% après séchage a sec. ...	38
Figure 26 : Photos des chromatogrammes résultants de l'analyse de l'extrait MeOH par CCM à l'œil nu et sous lampe UV à 254 mn.	41
Figure 27 : Aspects d'inhibition des souches bactériennes par l'extrait hydrométhanolique des clous de girofle <i>Syzygium aromaticum</i>	42

Liste des tableaux

Tableau 1: Composition de l'huile essentielle des clous de girofle.....	8
Tableau 2: Différent formules des monoterpènes.	22
Tableau 3 : Résultats des criblages des métabolites secondaires.	39
Tableau 4 : Résultats de la séparation par CCM des différentes fractions de l'extrait MeOH des clous de girofle <i>Syzygium aromaticum</i>	41
Tableau 5 : Diamètre de la zone d'inhibition des extraits hydrométhanoliques de	42

Liste des abréviations

HE : Huiles essentielles.

CP : Composés phénolique.

CCM : Chromatographie sur couche mince

TLC : Thin layer chromatography

BMH : Bouillon Muller Hinton.

Mg : Magnésium.

KOH : Hydroxyde de potassium.

HCl : Acide chlorhydrique.

FeCl₃ : Chlorure de fer (III).

KH₂PO₄ : Dihydrogénophosphate de potassium.

NaOH : Hydroxyde de sodium.

pH : Potentiel hydrogène.

nm : Nanomètre.

mol : Mole.

Introduction

Dans ces derniers temps, l'importance clinique des thérapeutiques à base des plantes (Phytothérapie) a reçu une attention considérable car ils présentent une riche source de médicaments par ce qu'ils produisent une foule de molécules bioactives : Les plantes médicinales comme les autres remèdes thérapeutiques et l'étiologie ont toujours été intégrés à la culture d'une époque, l'histoire officielle de la phytothérapie prend ses racines il y a plusieurs millénaires. **(Small et Catling, 2000).**

La phytothérapie est pour but de désigner le soin par les plantes aromatiques. Elle est considérée comme médecine complémentaire voire alternative pour certains, et elle est souvent perçue comme moins nocive et iatrogène que les médicaments issus de l'industrie chimique elle est souvent utilisée dans l'esthétique. **(Bellamine, 2017).**

La nature cache une multitude de merveilles auxquelles, trop souvent, aucune attention n'est portée. En effet, le monde végétal qui est très vaste offre depuis des milliers d'années les éléments nécessaires à la survie de l'espèce humaine. Elle lui fournit des ressources essentielles à son alimentation, à son hygiène et surtout, sa santé. Senteurs, effluves, fragrances, essences, parfums autant de mots pour nommer des Substances dite aromatiques qui nous sont offertes par ces plantes.

Dans notre travail nous avons choisi d'étudier une plante connue par ses effets bénéfiques qui est nommée Giroflier.

Du nom grec « *Eugenia caryophyllata* », le bouton floral du giroflier, très grand arbre des Îles Moluques, les Antilles et Madagascar **(Hurtel, 2001)** est considéré Comme l'une des Grandes Merveilles de la nature. Les propriétés principales du clou de girofle sont antiseptiques et analgésiques.

Les recherches sur l'histoire de cette plante montrent que les clous de girofle avaient autrefois beaucoup plus de valeur, dès leur essor durant les grandes découvertes qui ont engendré le commerce des épices vers l'Europe. Cette épice a su motiver plusieurs nations à partir de sa conquête et cela pendant plusieurs siècles. **(Kacemi, 2017).**

Notre étude a pour objectifs :

- Extraire les composés phénoliques contenus dans les clous de girofles.
- Faire un criblage des principaux composés phénoliques.
- Séparer ces composés par une chromatographie sur couche mince.
- Estimer l'activité antibactérienne de notre extrait.

Notre mémoire est divisé en deux parties :

La première partie sera consacrée à une étude bibliographique concernant l'espèce (*Syzygium aromaticum*) et un aperçu général sur les métabolites secondaires.

La seconde partie est consacrée à la partie expérimentale, avec une présentation du matériel et des méthodes utilisées au cours de ce travail ; et présente les résultats obtenus qui sont suivis d'une discussion et d'une conclusion générale.

Synthèse Bibliographique

Chapitre I : Présentation de l'espèce étudiée

I.1. Généralités

La famille des myrtacées est une famille de plantes dicotylédones qui comprend environ 3800 espèces dont le plus près de 700 *Eucalyptus* et 500 *Syzygium*, continent pour la grande majorité tropicales, et toutes aromatiques Position systématique du giroflier.

La famille des Myrtacées possède plusieurs activités comme activité cytotoxique, anti cholinestérase et antibactérienne (**Muhamad *et al.*, 2018**).

Clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) est l'épice la plus utilisée pendant plusieurs siècles en conservation des aliments et en médecine. Et grâce à son composant phénolique comme eugénol, acétate d'eugénol et acide gallique sont utilisés en pharmacie et cosmétologie (**Francisco, 2014 ; in Medfouni, 2018**).

I.2. Position systématique du giroflier (*Syzygium aromaticum* (L.) Merrill & Perry)

Règne :	<i>Plantae</i>
Sous-règne :	<i>Tracheobionta</i>
Embranchement :	<i>Magnoliophyta</i> (=Phanérogames)
Sous-embranchement :	<i>Magnoliophyta</i> (=Phanérogames)
Classe :	<i>Magnoliophytina</i> (=angiospermes)
Ordre :	Myrtales
Famille :	<i>Myrtaceae</i>
Genre :	<i>Syzygium</i>
Espèce :	<i>Syzygium. Aromaticum</i> (Goetz <i>et al.</i> , 2012)

Comme beaucoup d'espèces, le giroflier a porté plusieurs noms scientifiques avant d'être nommé *Syzygium aromaticum*:

- *Caryophyllus aromaticus* L. (1753)
- *Eugenia caryophyllata* Thunb. (1788)
- *Eugenia caryophyllus* Spreng. (1825)
- *Eugenia aromatica* (L.) Baill. (1876)
- *Jambosa caryophyllus* (Thunb.) Nied. (1893)
- *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M.Perry, (1939)

Actuellement, les noms *Syzygium aromaticum* et *Eugenia caryophyllus* sont tous les deux employés.

I.3. Description botanique

Le giroflier est un grand arbre au tronc gris clair de 12 à 15 mètres de hauteur pouvant atteindre jusqu'à 20 mètres de haut (**figure1**) il présente un port érigé et pyramidal (**Devet et Rouxel ,1997**) Son feuillage est aromatique, coriace, persistant vert sombre et vernissé au revers plus Clair. Ses feuilles sont opposées, entières, elliptiques, d'environ 10-12 cm à nervure médian marquée et parsemées de glandes sur le revers.



Figure 1: Arbre d'un giroflier de Madagascar (**Atmani et Baira, 2015**).

Les fleurs sont disposées en cymes terminales (**figure 2**) de 25 fleurs environ, formant 3 fourches (**figure3**). Elle se présente sous la forme d'un long pédoncule, petite fleur à l'extrémité des rameaux, à 4 pétales (blanc-rosé) pompon duveteux d'étamines blanches saillantes, les fleurs à 4 pétales blanc rosé sont caractérisées par leurs sépales rouges persistants (**Chagra, 2019**).



Figure 2: Structure du giroflier (**Köhler, 1887**).

Ce sont les boutons floraux cueillis avant épanouissement que l'on appelle les clous de girofle et l'huile essentielle qui est utilisée pour leurs vertus thérapeutiques ; Les fruits du giroflier sont des baies pourpres comestibles. (**Rakotoatimanana et al., 199**).

La récolte des clous de girofle se fait au moment où ils contiennent le plus d'essence (Lorsqu'ils sont roses et les pétales pas encore ouverts). Ces clous sont récoltés, après 6 à 8 Ans de culture de l'arbre, 2 fois par an. Ce sont des boutons auxquels on ôte le pédicelle manuellement et que l'on met sécher au soleil jusqu'à ce qu'ils deviennent brun rouge. Boutons floraux appelés « clous ».

Les racines, les rameaux, les feuilles les fleurs et les fruits contiennent tous une huile essentielle dont la composition diffère. Par exemple l'huile essentielle des feuilles contient seulement 2 à 3 % d'eugénol. L'huile essentielle de girofle provient de la distillation des boutons de Giroflier traités à la vapeur (**Koroch et al, 2007**).

I.4. Distribution géographique et culture

Originnaire de Madagascar, la Réunion, les Antilles, le giroflier est également cultivé en Indonésie et en Tanzanie. Les clous de girofle américains sont réputés être de qualité Inférieure à cause de leur plus faible teneur en huile essentielle. (Alie, 2011) La superficie couverte par les girofliers à Madagascar s'élève à environ 37 000 Hectares, Superficie variant sensiblement d'une année à l'autre.

Les tonnes produites et la superficie couverte par les girofliers dans chaque zone productrice sont résumées dans la figure ci-dessous.

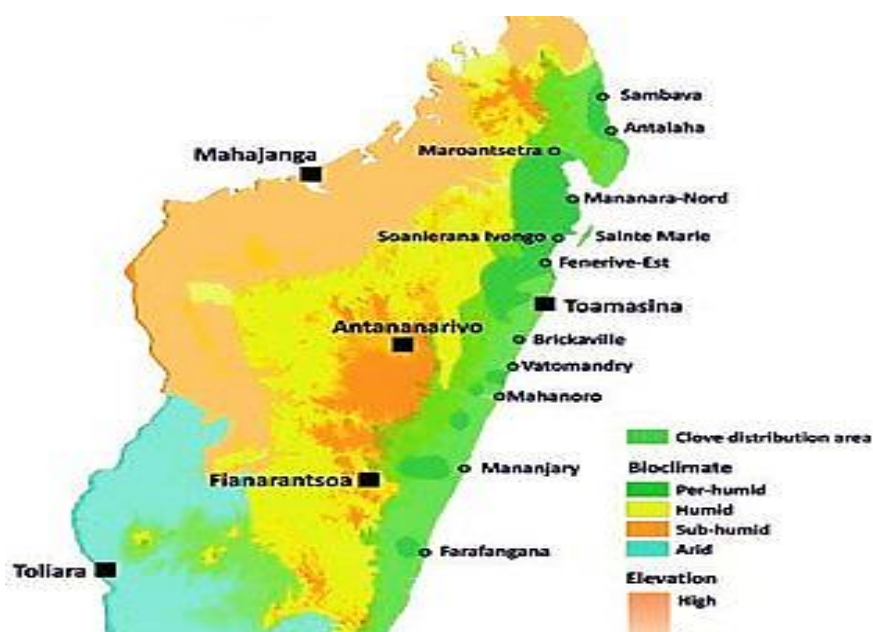


Figure 3: Aire de culture du giroflier à Madagascar superficie et production des zones producteurs. (Danthu *et al.*, 2014).

Le giroflier est surtout cultivé pour ses "clous" qui servent d'aromates dans L'alimentation d'un grand nombre du pays. On cultive également le giroflier pour ses feuilles dont on extrait Une essence très riche en eugénol. Accessoirement, on utilise Les fruits de giroflier ou antofles pour la confiserie.

L'eugénol sert à fabriquer la vanilline artificielle. Les essences de clous, de griffes, défeuilles, de branches et d'antofles servent également en pharmacie pour la Préparation de divers médicaments, en parfumerie, en savonnerie, pour la préparation de pâtes dentifrices pour la préparation de certaines peintures et vernis, en chirurgie (propriétés bactéricides et anesthésiant), en droguerie.

I.5. Composition chimique

Le clou de girofle renferme une quantité importante d'huile essentielle 15 à 20%, Pédoncule Floral (griffes) renferme 5 à 6% d'huile, dans les feuilles la quantité d'huile est de 3 à 4% l'huile de girofle est très riche en eugénol de 70 à 85%. On trouve aussi d'autres composés terpéniques (dont environ 10 % caryophyllène), aliphatiques, aromatiques et Hétérocycliques. 16% D'huile, des tanins, un peu d'amidon et des matières fibreuses cellulosiques. Le pédoncule floral (griffes) renferme 5 à 6% d'huile, dans les feuilles la quantité d'huile est de 3 à 4% L'huile de girofle est très riche en eugénol de 70 à 85%. On trouve aussi d'autres Composés terpéniques (dont environ 10 % caryophyllène), aliphatiques, aromatiques et hétérocycliques.

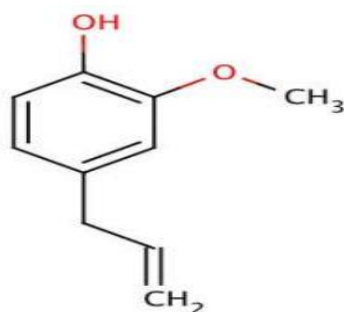


Figure 4: Composé majeur de l'huile essentielle des clous de girofle (site 1).

D'après la pharmacopée européenne 3e édition, l'huile essentielle des clous de girofle contient de 75 à 88 % d'eugénol, de 5 à 14 % de β -caryophyllène, et de 4 à 15 % d'acétate d'eugényle.

Tableau 1: Composition de l'huile essentielle des clous de girofle.

Constituants	Pourcentage
Eugénol	91,2
β -caryophyllène	4,1
α -humulène	0,6
Eugényl acétate	2,9
β -caryophyllène époxyde	0,5
Total	99,3%

I.6. Histoire d'utilisation du giroflier en phytothérapie

Les clous de girofle, *pimenta dioica*, sont les bourgeons séchés, non éclos, du giroflier et sont parmi les plus anciennes épices et drogues décrites dans l'histoire. On peut lire dans des écrits antiques. Qu'il a été introduit il y a plus de 2000 ans en chine, en inde, et plus tard dans l'empire romain. En chine, les courtisans avaient coutume de mâcher un clou de girofle lorsqu'ils adressaient la parole à l'empereur.

Les arbres ont apporté le clou de girofle en Europe. Mais on ignorait à l'époque quelle était son origine exacte, les premières indications plus précises dent du 13 -ème siècle.

Traditionnellement, les clous de girofle étaient utilisés pour le traitement des maux de dents, de la bouche, de la gorge, de l'inflammation de la muqueuse buccale et de la Mauvaise haleine. En usage externe contre le rhumatisme, les myalgies (douleurs Musculaires), la sciatique et anesthésiant local dans les soins des plaies. Par voie orale, les Clous de girofle sont utilisés dans le traitement des troubles digestifs, Ballonnement, Épigastrique, lenteur à la digestion.

Chapitre II : Métabolisme secondaire

II.1. Généralités sur le métabolite primaire et secondaire

Les métabolites primaires sont caractérisés par leur caractère nécessaire et vital à la Survie de la cellule ou de l'organisme (**Diallo, 2000**).

- Les glucides représentent une source d'énergie surtout au niveau des parois

Cellulaire (cellulose).

- Les lipides constituent aussi une source d'énergie présente dans les membranes

Cellulaires.

- Les aminoacides représentent une source primaire de construction des protéines.

II.2. Les métabolites secondaires

Sont des molécules ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Ils sont nécessaires à sa défense contre les agressions extérieures. Cependant, ils ne sont pas toujours nécessaires à la survie de la plante.

Les produits du métabolisme secondaire qui sont émis en très faible quantité, sont d'une grande variété structurale (plus de 200000 structures définies). Ces composés marquent de manière originale, un genre, une famille ou une espèce de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique. Les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches, ils ont un intérêt multiple, ils sont mis à profit aussi bien dans l'industrie alimentaire, cosmétique que pharmaceutique.

Ils sont largement utilisés en thérapie comme vasculo-protecteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et anti-radicalaires. La pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale et la recherche trouve chez les plantes des molécules actives nouvelles ou des matières premières pour la hémisynthèse de composés actifs. On a longtemps employé des remèdes traditionnels à base de plantes sans savoir à quoi étaient dues leurs actions bénéfiques. L'isolement de principes actifs au XIXème siècle, a contribué à l'amélioration des connaissances des structures, ce qui a permis de passer.

Progressivement d'une phytothérapie traditionnelle souvent empirique, acceptée parfois avec une certaine méfiance à une thérapie moderne, acceptée scientifiquement.

Au début du XXème siècle, des synthèses de composés analogues (métabolites secondaires) ont commencés à naître ; et afin d'augmenter leurs efficacités pharmacologiques, des études des structures et des activités biologiques issues des dérivés prénylés de ces métabolites ont été réalisés. La prénylation consistait à la fixation d'une chaîne latérale (pentenyle, géranyle et farnésyle) sur une molécule acceptante. Les métabolites secondaires constituent un groupe de produits naturels qu'il convient d'explorer pour leurs propriétés antioxydantes, anti microbiennes, anti-inflammatoires et anti carcinogènes ou mutagènes (**Epifano et al.,2007**).

Ce sont des composés très hétérogènes tant par leur composition que par leur structure. Pendant longtemps, ces composés ont été considérés comme secondaires et métaboliquement inactifs, ils ne suscitaient donc que peu d'intérêt.

A l'heure actuelle, cette opinion a changé, du fait de nombreuses recherches qui ont largement montrées que ces composés ne sont pas inertes et contribuent efficacement dans la biosynthèse de divers métabolites de l'organisme.

Chez les végétaux, ils sont soumis à d'importantes variations quantitatives et qualitatives, ce qui témoigne d'une dynamique biochimique incontestable (**Brzozowska et al.,1976**). Ils interviennent dans des processus vitaux les plus divers.

D'où l'importance croissante des études consacrés à ces composés. Leur mode d'action et leur signification physiologique ne sont pas encore suffisamment claires, D'où la place de plus en plus large qui revient aux études de ces composés et de leurs Fonctions.

On trouve des métabolites secondaires dans toutes les parties de plantes, mais ils sont distribués différemment selon leurs rôles. Cette distribution varie d'une plante à L'autre. Parmi les principales familles de métabolites secondaires trouvées chez les Plantes on distingue :

- Les composés phénoliques qui interviennent dans les interactions plante-plante (Allélopathie, inhibition de la germination et de la croissance). Parmi ces composés,

On citera les polyphénols, les lignines, les stilbènes, les flavonoïdes, les Phénylpropanoïdes, les anthocyanes et les tannins.

- Les alcaloïdes, renferme un atome d'azote dans la structure. Parmi ces derniers, certains relèguent de l'acide cyanhydrique quand les plantes sont abîmées. Ils sont synthétisés à partir d'acides aminés. On citera la nicotine, l'atropine, la codéine, la lupinine.
- Les mucilages : Ces sont des polymères complexes de fructose, d'acide glucorinique et d'acide manuronique. Les mucilages sont des mélanges colloïdaux qui gonflent avec l'eau (agar agar).
- Les gommes et les résines : Ces sont des substances produites par la plante à la suite D'une blessure.
- Les huiles essentielles : Ces sont des liquides concentrés et hydrophobes des composés aromatiques (odoriférants) volatils d'une plante, ces essences sont très volatiles et non miscibles à l'eau.
- Les latex : Ces sont des substances sécrétées ou fabriquées par des cellules laticifères (vraies ou anastomosées) et qui ont la particularité de se solidifier au contact de l'air. Les principaux groupes de métabolites secondaires rencontrés dans les plantes et qui possèdent généralement une activité antimicrobienne sont : les composés phénoliques, les alcaloïdes, les terpénoïdes et stéroïdes.

II.2.1. Les composées phénoliques

Les Polyphénols sont des groupes de molécules de structures variées. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzoïque Auquel est directement lié un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction :

Éther, ester, hétéroside. Les composés phénoliques sont synthétisés à partir de métabolites primaires via deux voies : la voie de l'acide shikimique et la voie des Poly-acétates. Les phénols furent les premiers agents antiseptiques et désinfectants Largement utilisés (**Rakotoatimanana et al ., 1999**).

De nombreuses études in vitro menées sur les composés phénoliques les ont confirmés comme agents antimicrobiens contre un grand nombre de microorganismes pathogènes, avec des spectres d'activités variables. En effet certaines quinones présentent un effet bactériostatique sur les bactéries à gram positif mais pas vis à vis des bactéries à gram négatif. Les acides-phénols ont des Propriétés antiseptiques urinaires, antifongiques et antibactériennes. (**Pibiri ,2006**).

Des récentes études ont montré que les coumarines exercent plusieurs activités Antimicrobiennes (**Bruneton, 1999**) : inhibitions de la croissance de *Saccaromyces cerevisiae* et de la Germination des spores d'*Aspergillus niger*. Pour l'activité antibactérienne on note qu'ils sont plus efficaces contre les gram positifs.

Les flavonoïdes avec leurs différentes classes dont les plus importantes sont : les flavones, flavonols, flavonones, flavonones 3-oles, flavanes-3,4 dioles, et les Anthocyanidines ; ont un grand potentiel antibactérien En se complexant avec des composants des parois avec inhibition de la croissance microbienne ; en perturbant Leurs métabolismes énergétiques.

D'autre part, les tanins sont largement connus par leurs propriétés inhibitrices des microorganismes et des enzymes grâce à leur pouvoir à former des complexes stables avec les protéines et en les précipitant, ils exercent une activité antibactérienne par interaction avec la membrane cellulaire qui induit un changement morphologique de la bactérie, en inhibant l'activité des protéases, des protéines de transport.

Les phénols sont en principe solubles dans les solvants organiques polaires ; ils sont solubles dans les solutions d'hydroxyde de sodium et de carbonate de sodium les acides –phénols sont solubilisés par les hydrogénocarbonates ; ils sont extractibles dans les milieux organiques légèrement acides.

Les formes hétérosidiques de ces composés phénoliques solubles dans l'eau. Tous ces composés sont instables. Tous les phénols sont facilement oxydables Surtout En milieu alcalin. (**De Billerbek et al., 2002**).

II.2.1.1. La biosynthèse des polyphénols

Les CP sont des produits du métabolisme secondaire des plantes. Ils sont synthétisés à partir De deux voies biosynthétiques qui sont d'après (**Bravo et al., 1994**) et (**Visioli et al., 2000**) :

- Celle de l'acide shikimique, qui conduit après transamination et désamination aux acides Cinnamiques et à leurs nombreux dérivés tels que les acides benzoïques ou les phénols Simples.
- Celle issue de l'acétate, qui conduit à des poly β -coesters (polyacétates) de longueur

Variable menant par cyclisation à des composés polycycliques.

Deux acides aminés aromatiques, phénylalanine et tyrosine, sont à l'origine de la formation de la plupart des molécules phénoliques. En effet, les formes métaboliquement actives des acides hydroxycinnamiques formés par une désamination, permettent d'accéder aux principales classes de composés phénoliques : vers les acides benzoïques par β oxydation, vers les esters hydroxycinnamiques par estérification, vers les coumarines par cyclisation interne, vers les lignines par deux réductions successives et vers les flavonoïdes. La figure 11 donne les voies de biosynthèses des composés phénoliques.

II.2.1.2. Classification des polyphénols

La classification des polyphénols est basée essentiellement sur la structure, le Nombre De Noyaux aromatiques et les éléments structuraux qui lient ces noyaux.

1. Les flavonoïdes

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 les trouve dissous dans la vacuole des cellules à l'état d'hétérosides ou comme constituants de plastes particuliers, les chloroplastes (Guignard, 1996).

Le terme flavonoïde regroupe une très large gamme de composés naturels polyphénoliques. On dénombre près de 6500 flavonoïdes répartis en 12 classes (Stöckigt *et al.*, 2002) et leur nombre ne cesse d'accroître. Par définition, les flavonoïdes sont des composés qui ont en commun la structure du diphenylpropane (C6- C3-C6) (27); les trois carbones servant de jonction entre les deux noyaux benzéniques notés A et B forment généralement un hétérocycle oxygéné C (De Rijk *et al.*, 2006).

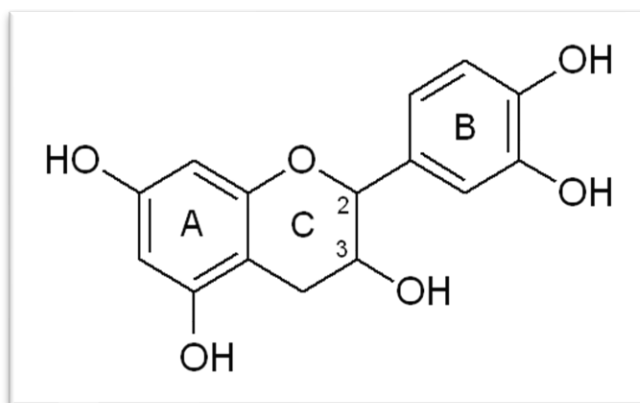


Figure 5: Structure générale du noyau des flavonoïdes (Hein *et al.*, 2002).

Leur fonction principale semble être la coloration des plantes (au-delà de la chlorophylle, des caroténoïdes et des bétalaïnes), même si leur présence est parfois masquée par leur présence sous forme "leuco", ce qui explique leur intérêt commercial dans l'industrie alimentaire (**Gàbor et al., 1988**).

On distingue différentes structures des flavonoïdes parmi lesquels se trouvent : les flavones, les flavonols, les flavanones, les flavanonols, les flavanes, les flavan - 3- Oles, les flavylum, les chalcones, les aurones, les isoflavones, les isoflavonols, les Isoflavanes, Lesptérocarpanes, les coumaronochromones, les 3-arylcoumarines, les coumestanes, les roténoïdes. (**De Rijke et al., 2006**).

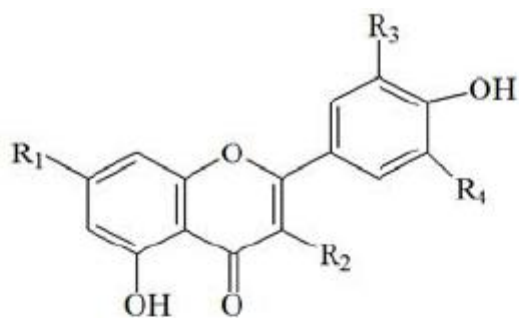
Les classes des flavonoïdes

On classe les flavonoïdes en flavonols, les flavones, les flavanes, les isoflavones, les anthocyanines et les flavonols. Au sein de ces six familles, deux types de structures ont été relevés, celui des flavonoïdes au sens strict dont la structure porte le noyau aromatique B en position 3 sur la chaîne C3 et celui des iso flavonoïdes dont le noyau aromatique B est en position 2 sur la chaîne C3.

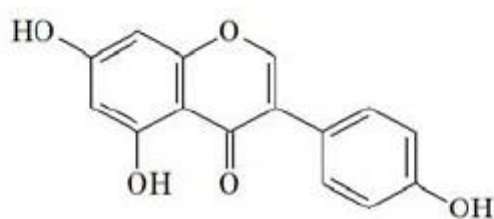
- **Flavonols**

Ils se caractérisent par un hétérocycle oxygéné relativement oxydé. Ils existent principalement sous des formes glycosylées (glucose, xylose, arabinose, galactose, rhamnose) (**Colin et al., 2011**). Les flavonols sont les flavonoïdes les plus abondants dans l'alimentation. Les composés les plus représentatifs de cette famille sont le kaempferol et la quercétine.

Cette dernière est connue pour posséder un très fort pouvoir antioxydant en raison de sa structure chimique favorable au piégeage des radicaux libres. A des concentrations de l'ordre de 15 à 30 mg/kg de matière fraîche, On les rencontre dans l'oignon, les brocolis, les poireaux et les myrtilles. La glycosylation avec un glucose ou un rhamnose est très fréquente (**Manach et al., 2004**).



Flavonol	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Quercetin	OH	OH	OH	H
Rutin	OH	Rutinose	OH	H
Quercitrin	OH	Rhamnose	OH	H
Apigenin	OH	H	H	H
Luteolin	OH	H	OH	H
Kaempferol	OH	OH	H	H
Myricetin	OH	OH	OH	OH
Isorhamnetin	OH	OH	OCH ₃	H



Genistein

Figure 6: Structure chimique des flavonols (site1).

- **Flavonoïdes et flavones**

Ils possèdent également la structure de base C6-C3-C6. Les flavonoïdes se polymérisent au départ de 3,4-flavondiols (ou flavan-4-ols) et de flavan-3-ols (Colin *et al.*, 2011).

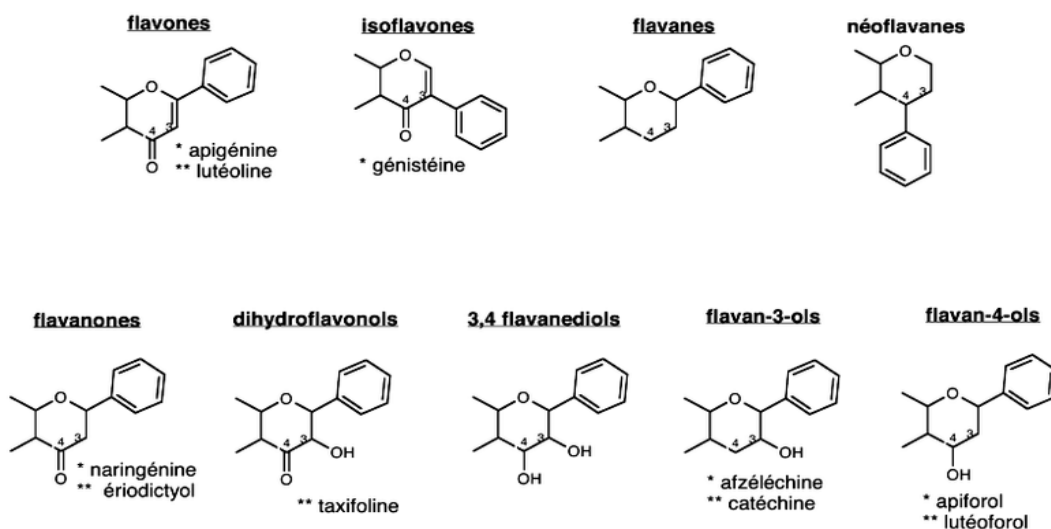


Figure 7: Structure chimique des différents flavones et flavonoïdes ([site2](#)).

- **Flavones**

De tous les flavonoïdes, ils constituent la sous classe la moins abondante dans les fruits et légumes. Ils sont essentiellement constitués de lutéoline et apigénine glycosylés. Les seules denrées comestibles connues à ce jour qui en possèdent sont le persil et le céleri (**Manach et al., 2004**).

- **Flavanes**

Dans l'alimentation, les flavanes se retrouvent dans les tomates, certaines plantes comme la menthe, et sont présents en quantités importantes dans le citron. Les principaux aglycones sont la naringénine dans le pamplemousse, l'hésperidine dans l'orange et l'ériodictyol dans le citron. La position 7 est le siège de la glycosylation (**El Gharras, 2009**).

- **Isoflavones**

Ce sont les produits dérivés du soja qui sont la principale source d'isoflavones dans l'alimentation et qui peuvent être glycosylés ou non. on les Rencontre aussi dans les légumineuses (**El Gharras, 2009**).

- **Flavanols**

Ils existent sous forme de monomères, dont l'unité la plus simple est la catéchine et sous forme polymérique appelés les pro anthocyanidines.

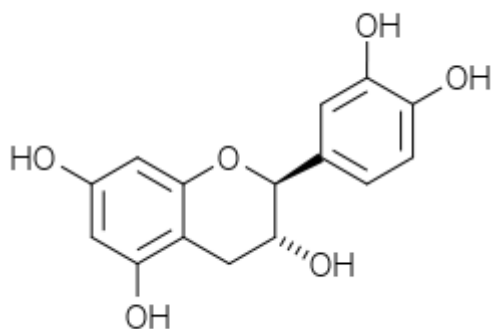


Figure 8: Structure chimiques des catéchines (**site 2**).

- **Procyanidines**

Les termes pro anthocyanidine, anthocyanogène ou procyanidol (B3, C2, ...) seront fréquemment utilisés pour les oligomères (respectivement 2,3, ... unités). L'appellation de flavonoïdes simples sera conservée jusqu'à 7 à 8 unités.

Pour un plus grand nombre d'unités monomériques, le terme tanins sera retenu. Il existe deux types de procyanindes A et B (**Santos-Buelga et al., 2000**). Ils entrent en grande partie dans la composition des raisins où ils sont localisés dans les graines et la peau le degré de polymérisation de ces composés varie en fonction de l'organe végétal : entre 1 et 20 pour la graine et en moyenne 30 pour la peau. L'aptitude de ces composés à s'associer avec les protéines salivaires leur confère la propriété d'astringence que l'on retrouve chez certains fruits (raisin, pomme, poire) et certaines boissons (thé, vin, bière) (**El Gharras, 2009**).

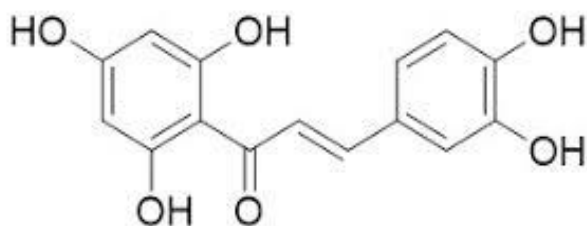
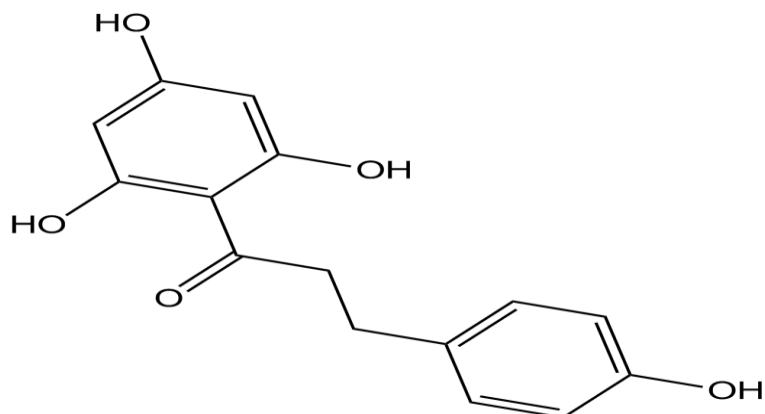
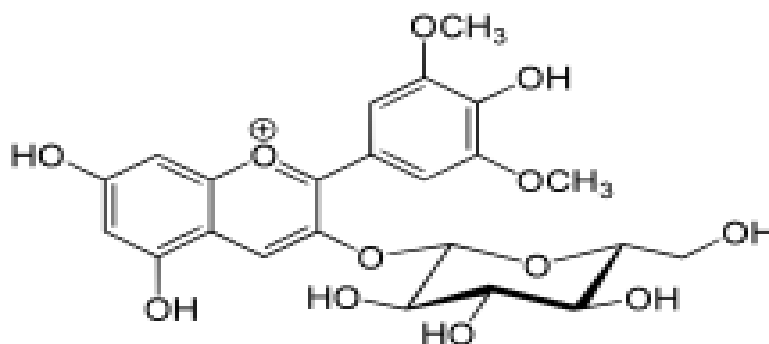


Figure 9: Structure chimique des différents flavones et flavonoïdes (site3).**Figure 10:** Structures chimiques de quelques dihydrochalcones (site3).

- **Anthocyanidines et anthocyanines**

Leur structure de base est caractérisée par un noyau « flavonoïde » chargé positivement (C6-C3-C6). Ce dernier portera le nom d'anthocyanine ou anthocyanidine suivant qu'il soit glycosylé ou non vivas (Gaulejac, 2001). Le pH est un facteur important dans le changement de couleur des anthocyanines (Clifford, 2000).

**Figure 11:** Structures chimiques de quelques anthocyanidines (site3).

Ce sont des pigments naturels colorés que l'on retrouve dans les plantes vasculaires. Leur aptitude à se solubiliser facilement dans les milieux aqueux offre des possibilités très larges dans le domaine industriel. Ils sont responsables de la coloration (orange, rose, rouge, violet et bleue) de certaines fleurs (tulipe, rose, orchidée) et fruits (pomme, baies, raisin). Une caractéristique importante de ces composés réside dans Leur aptitude antioxydante, et de

nombreuses études sur leurs activités biologiques. Peuvent en Témoigner (**Castaneda-Ovando et al., 2009**).

2. Les tanins

Le terme tanin dérive de la capacité de tannage de la peau animale en la transformant en cuir par le dit composé. Les tannins sont un groupe des polyphénols à haut poids moléculaire. Les tannins sont des molécules fortement hydroxylées et peuvent former des complexes insolubles lorsqu'ils sont associés aux glucides, aux protéines et aux enzymes digestives, réduisant ainsi la digestibilité des aliments. Ils peuvent être liés à la cellulose et aux nombreux éléments minéraux (**Alkurd et al., 2008**). On distingue : les tannins hydrolysables et condensés.

Les classes des tanins

- **Les tannins hydrolysables**

Ces tannins sont des dimères d'acide gallique condensés sur un dérivé glycosyle, Ils comprennent l'acide gallique et les produits de condensation de son dimère, l'acide hexahydroxydiphénique. Comme leur nom l'indique, ces tannins subissent facilement une hydrolyse acide et basique, ils s'hydrolysent sous l'action enzymatique et de l'eau chaude (**Conrad et al., 1998**).

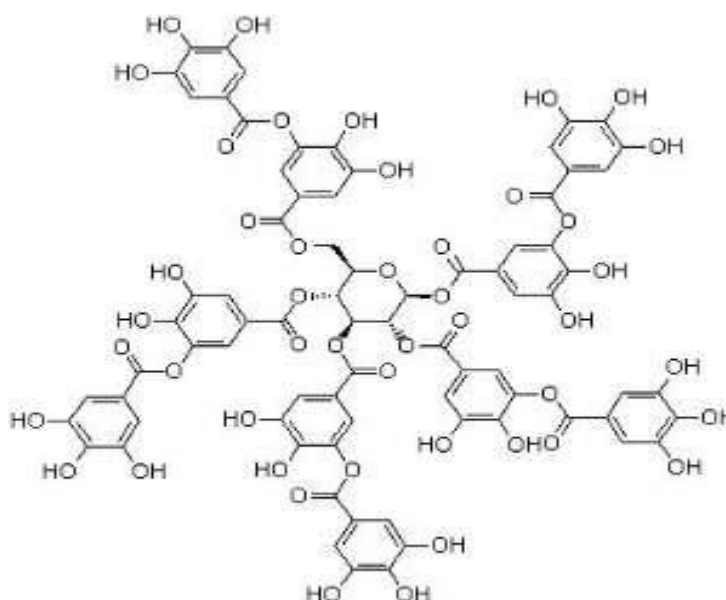


Figure 12: Structures chimiques de quelques anthocyanidines (**site3**).

- **Les tannins condensés**

Appelés aussi pro anthocyanidines ou procyanidines, les tannins condensés, sont des Polyphénols de masse molaire élevée. Ils résultent de la polymérisation auto oxydative ou enzymatique des unités de flavan-3,4-diol liées majoritairement par les Liaisons C4-C8 (Parfois C4-C6) des unités adjacentes, et se nomment ainsi pro Anthocyanidines de type B.

Lorsque la condensation se produit entre les unités adjacentes par la liaison C4-C8 et par une liaison d'éther additionnelle entre C2 et C7, les pros anthocyanidines sont dites de types A (Wollgast, 2000 ; Dykes, 2006).

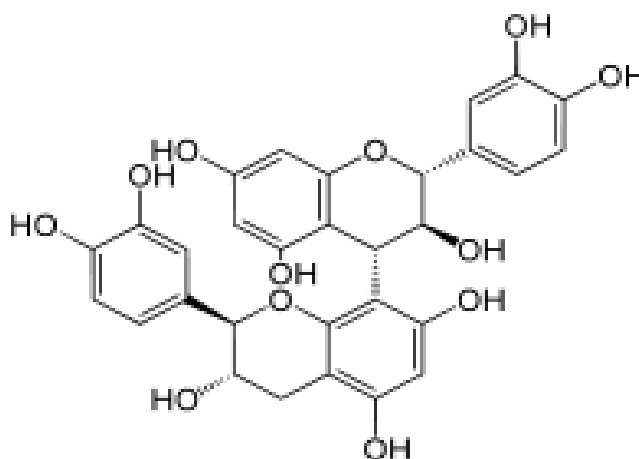


Figure 13: Structures des tanins condensés (site3).

3. Les terpènes

Les terpènes constituent une famille de composés largement répandus dans le règne végétal, impliqués ou non dans des fonctions métaboliques essentielles. L'étude de leur métabolisme connaît un regain d'intérêt par suite du développement des méthodes analytiques auxquelles est venu s'ajouter l'outil moléculaire. Sur les différentes voies de biosynthèse des terpènes ont donné lieu à plusieurs revues bibliographiques.

Par contre, on possède peu d'informations sur la compartimentation cellulaire et les régulations des systèmes mis en jeu. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'une unité isoprénique à 5 atomes de carbone (C₅H₈) reconnue par Wallach dès 1887. Cet isoprène est à la base du concept de la "règle isoprénique"

Cette règle considère le diphosphate d'isopentényle, désigné sous le nom d'isoprène actif, comme le véritable précurseur de la molécule terpénique ; d'où le nom d'isoprénoïdes sous lequel on les désigne également. (Georgetti *et al.*, 2003).

Les classes des terpènes

• Monoterpènes

La majorité des monoterpènes sont rencontrés dans les huiles essentielles (90%) ; De petite masse molaire, les monoterpènes sont particulièrement volatils Ils comportent deux unités isopréniques selon le mode de couplage (tête – queue)

On distingue :

- Monoterpènes acycliques (ex. nérol)
- Monoterpènes monocycliques (ex. limonène)
- Monoterpènes bicycliques (ex. α et β -pinène)
- Monoterpènes tricycliques

A l'intérieur de chaque groupe, les monoterpènes peuvent être des hydrocarbures simples insaturés (ex. limonène), ou avoir des groupes fonctionnels et être des alcools (ex. Menthol), des aldéhydes ou des cétones (ex. camphre).

Tableau 2: Différent formules des monoterpènes.

<u>Mono terpènes Formule générale</u>
Limonène C ₁₀ H ₁₆
Pinène C ₁₀ H ₁₆
Sabinene C ₁₀ H ₁₆
Myrcène C ₁₀ H ₁₆
γ -Terpinène C ₁₀ H ₁₆
para-Cymène C ₁₀ H ₁₆

- **Sesquiterpènes**

Formés de 3 U.I., les sesquiterpènes est la classe des terpènes la plus diversifiée. Ils peuvent Être acycliques, monocycliques ou bicycliques.

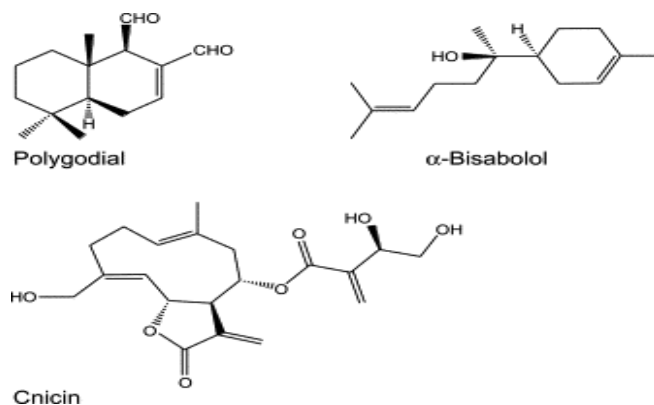


Figure 14: Structures des sesquiterpènes (site2).

- **Diterpènes**

Avec un squelette carboné de 20 carbones (4 U.I.), les Diterpènes comprennent un groupe De composés chimiquement hétérogènes Ils sont moins volatils que les précédents.

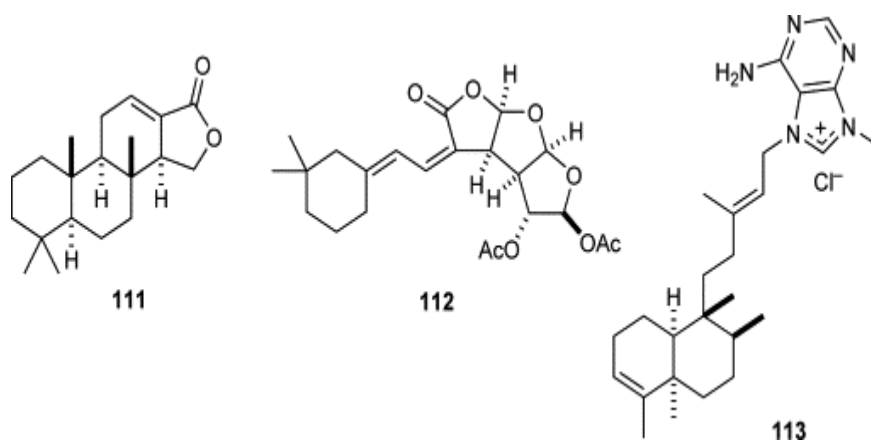


Figure 15: Structure des Diterpènes (site2).

- **Triterpènes**

Composés de 6 U.I. (C₃₀), les Triterpènes sont une classe des terpènes relativement complexes. Exemple : Le squalène (ou spinacène) est un Triterpènes rencontré dans les animaux Surtout, mais aussi dans les huiles végétales (olive, lin, arachide).

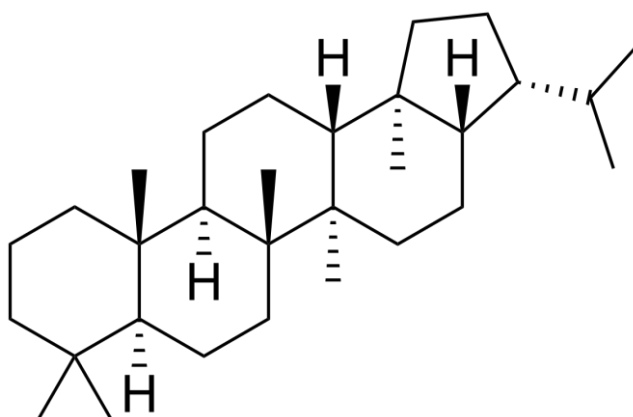


Figure 16: Structure des Triterpènes (site2).

- **Tétra terpènes**

Composés des 8 U.I., les tétra terpènes renferment les caroténoïdes, pigments jaunes très répandus chez les animaux et les végétaux. Le β -carotène (11 doubles liaisons conjuguées) est responsable de la couleur des carottes. Il joue un rôle essentiel dans la croissance et la vision. L'oxydation du β -carotène au niveau de la double liaison centrale donne deux molécules de rétinol. La réduction de ce dernier donne la vitamine A1.

- **Polyterpènes**

Sont des macromolécules composées d'un grand nombre d'unités isopréniques ; Dans les végétaux on trouve :

Caoutchouc: $M \approx 150\,000$ g/mol (100 U.I.). Sa structure chimique renferme des doubles liaisons de configuration Z (Cis-1,4-polyisoprène). Le caoutchouc est un solide élastique amorphe.
Gutta-percha : $M \approx 100\,000$ g/mol. Sa structure chimique renferme des doubles liaisons de configuration E (Trans-1,4-polyisoprène). La gutta-percha est un solide dur et cassant et en partie cristallisé.

II.2.1.3. Effets biologiques des polyphénols

Le rôle des composés phénoliques est largement montré dans la production contre certaines maladies en raison de leur interaction possible avec nombreuses enzymes et de leurs propriétés antioxydantes (Fleuriet *et al*, 2005 ; Gomaz-caravaca *et al*, 2006 ; Xiuzhen *et al*, 2007). Les composés phénoliques sont d'ailleurs de plus en plus utilisés en thérapeutique (Crozier *et al*,

2010). De nombreux travaux suggèrent que les polyphénols participent à la prévention des maladies cardio-vasculaires (Manach *et al.*, 2005), anti-inflammatoires, antiathérogènes, antibactériennes, antiviraux (Babar *et al.*, 2007), anti-allergènes, antibactériennes, antiviraux, anti-allergènes (Falleh *et al.*, 2008).

Ils sont regroupés dans la catégorie de veinotoniques et des vasculo-protecteurs (Ghosh *et al.*, 2009). Un certain nombre de molécules polyphénoliques sont également en études clinique comme des antiagrégants plaquettaires ou hypotenseurs sans résultats probants (Martin et Andriantsitohaina, 2002).

Les polyphénols préviennent le développement des maladies cancérigènes dans l'organisation en inhibant les réactions oxydatives et empêchant la formation d'ADN anormal (Ross, 1999). La myricétine et la quercétine ont permis de diminuer la rupture des 2 brins d'ADN et le taux de pyrimidines oxydées, par contre ils n'ont aucun effet sur les purines oxydées les catéchines ont permis de limiter la rupture des deux brins d'ADN ainsi l'oxydation des bases purines (Delgado *et al.*, 2008).

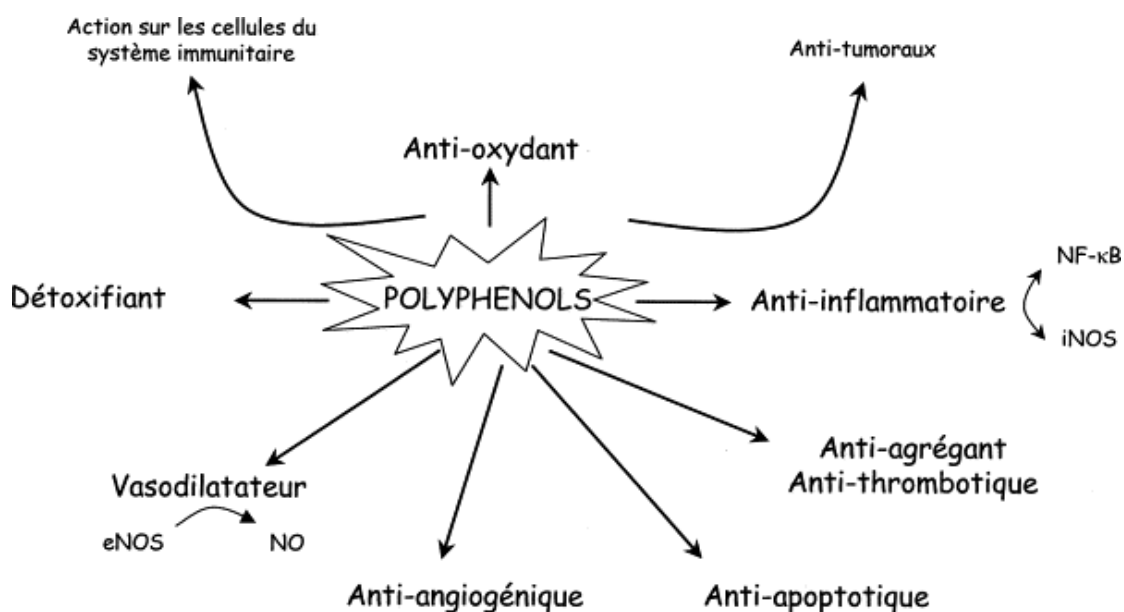


Figure 17: Effets biologiques des polyphénols (Martin et Andriantsitohaina, 2002).

Les polyphénols agissent par différents mécanismes dont l'inhibition de l'absorption du glucose au niveau intestinal (Dembinska-kiec *et al.*, 2008), ou encore son assimilation dans les tissus périphériques (inhibition de la glycogénèse, de la stimulation adrénergique de l'absorption du

glucose ou stimulation de la libération de l'insuline par les cellules pancréas) (**Scalbert et al., 2005**).

Les polyphénols ont montré des effets protecteurs dans d'autres pathologies, telle que la sclérose en plaque (**Gonzalez-gallego et al., 2010**), l'ostéoporose (**Scalbert et al., 2005**) et les pathologies liées au vieillissement cérébral (maladie d'Alzheimer, autres types de démences, maladie de parkinson...) (**Spencer ,2010**). Les composées phénoliques peuvent aussi atténuer infections d'origine virale ou bactérienne (**Ghedira, 2005**).

II.2.2. Les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges naturels complexes de métabolites secondaires volatiles, isolées des plantes par hydro distillation ou par expression mécanique (**Meyer ,1997**) elles sont obtenues à partir de feuilles, de graines, de bourgeons, de fleurs, de brindilles, d'herbes, d'écorces, de bois, de racines ou de fruits mais également à partir des gommés qui s'écoulent du tronc des arbres (**Basset, 1995**).

L'hydro distillation reste le moyen le plus employé pour produire les huiles essentielles, en particulier à des fins commerciales les métabolites secondaires sont extraits des plantes par un entraînement à la vapeur d'eau. Le volume d'huile essentielle récupéré dépend du rendement de distillation, qui est variable, chez une même plante, en fonction de la saison (**Pibiri, 2006**). Les huiles essentielles peuvent aussi être obtenues par expression à froid, comme pour les agrumes. De nouvelles techniques, permettant d'augmenter le rendement de production, ont été développées, comme l'extraction au moyen de dioxyde de carbone liquide à basse température et sous haute pression ou l'extraction assistée par ultrasons ou micro-ondes (**Georgetti, 2003**).

Partie Expérimentale

Matériel et méthodes

Chapitre I : Matériel et Méthodes

I.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des boutons floraux du giroflier séchés (*Syzygium aromaticum*) achetés du marché.



Figure 18: Clous de Girofle

I.2. Etude phytochimique

I.2.1. Extraction des composés phénoliques

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de physico-chimie d'Isopharm-Algérie de Constantine, dans le cadre d'un stage de courte durée.

I.2.1.1. Macération

La macération est une technique d'extraction solide-liquide qui permet d'extraire les substances chimiques du matériel végétal par solvant, à température ambiante, sous agitation magnétique ou mécanique.

En effet, la poudre végétale a été extraite trois fois sous agitation magnétique à température ambiante par une solution hydrométhanolique à 70% jusqu'à l'épuisement des substances naturelles.

Après chaque extraction, la solution obtenue est filtrée sur papier wattman.



Figure 19: Les étapes de la macération.

I.2.1.2. Concentration à sec de l'extrait

Le filtrat est séché sous pression réduite à (40°) à l'évaporateur rotatif, cet appareil permet d'éliminer rapidement un solvant volatil par évaporation. Le principe est basé sur l'abaissement du point d'ébullition avec la pression.



Figure 20: Evaporateur à sec de l'extrait.

Le diagramme suivant (**figure 21**) récapitule les étapes de l'extraction des composés phénoliques.

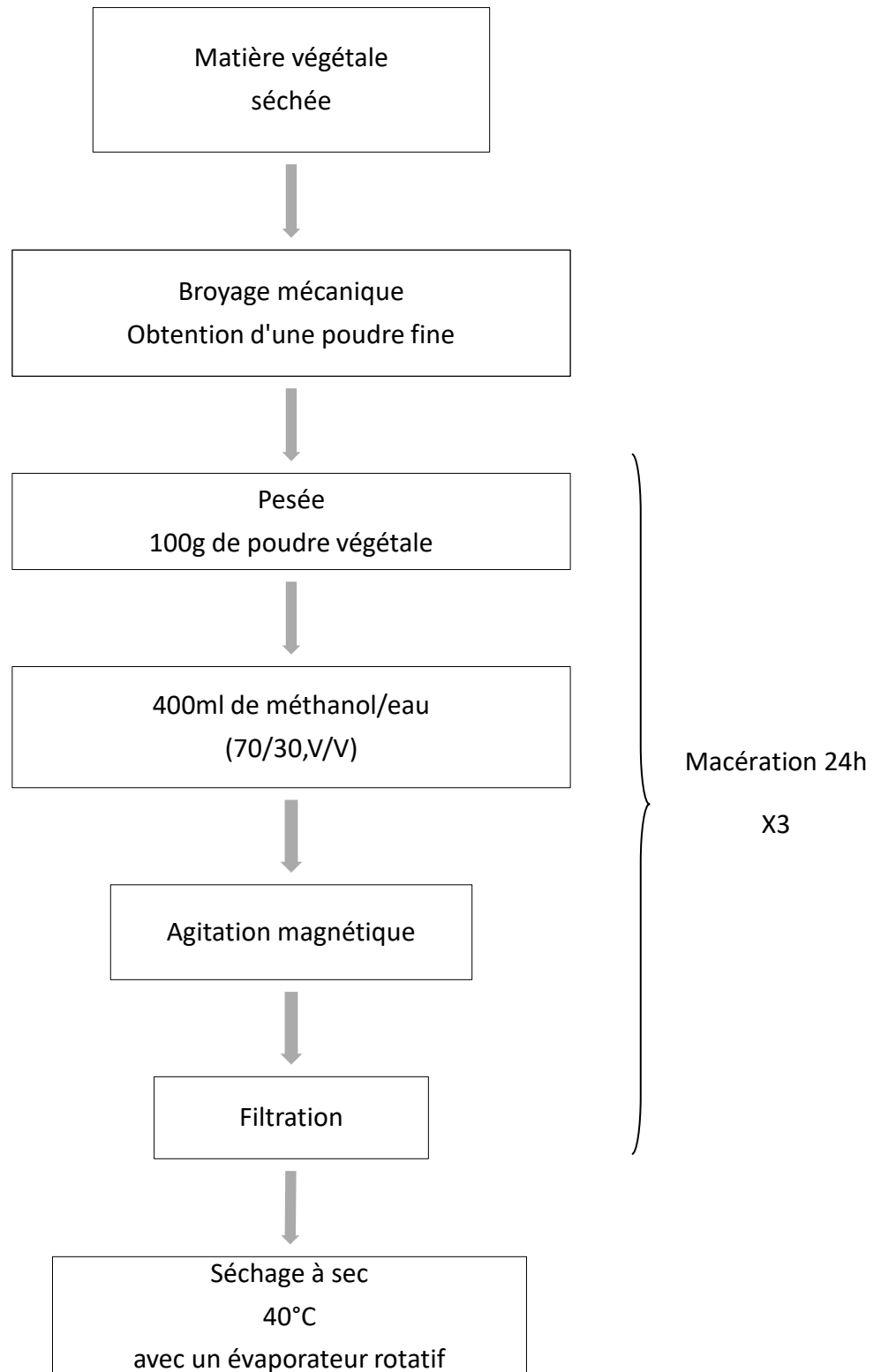


Figure 21: Schéma illustrant les étapes de l'extraction des composés phénoliques.

I.2.2. Criblage des métabolites secondaires

Ces tests ont été réalisés au niveau du laboratoire de recherche de Biochimie appliquée de l'université Frères Mentouri, Constantine 1.

I.2.2.1. Criblage des flavonoïdes (test de Wilstater)

Le criblage des flavonoïdes se réalise à partir de l'extrait hydro-méthanoïque des différents organes (feuilles, tiges, fruits, racines) des plantes utilisées. On utilise deux tubes, le 1^{er} servant de témoin et un autre pour le test.

Dans le deuxième tube 0,5 ml de HCl pure et quatre tournures de magnésium (Mg) sont ajoutés dans 0,5 ml d'extrait. Après 5 minutes. Le changement de coloration est observé :

- Virage au rouge indique la présence de flavones.
- Virage au rouge pourpre indique la présence de flavonols.

I.2.2.2. Criblage des anthocyanes (test de Bate-Smith)

Pour le deuxième test, la même opération est répétée sur l'extrait hydro-méthanoïque mais avec quatre gouttes de HCl et porter au Bain marie (30 minutes). L'apparition d'une coloration rouge dénote la présence d'anthocyanes.

I.2.2.3. Criblage des anthraquinones

Le criblage des anthraquinones se réalise à partir d'extrait hydro-méthanoïque, dans un tube on ajoute KOH 10% à l'extrait, après agitation la présence des anthraquinones est confirmée par la coloration rouge de la phase aqueuse.

I.2.2.4. Criblage des tanins

Le criblage des tanins se réalise à partir de l'extrait hydro-méthanolique, on a utilisé trois tubes à essai.

- Tube 1 : témoin.
- Tube 2 : addition de 4 à 5 gouttes de gélatine 1%.

L'apparition d'un précipité signifie la présence de Tanins.

- Tube 3 : addition de 4 à 5 gouttes de FeCl₃.

La couleur vire au bleu noir en présence de tanins gallique et au brun verdâtre en présence de tanins catéchique.

I.2.2.5. Criblage des saponosides

Pour l'identification rapide d'un organe a saponosides, il suffit de mettre en évidence leur pouvoir aphrogène, 1 g de poudre végétal est l'introduit dans un tube avec 10 ml d'eau distillée puis on chauffe le mélange au bain marie à 85°C Pendant 20 min, après on agite vigoureusement le tube, en position horizontale pendant 15 secondes environ portoir, après 10 min au repos on observe la mousse.

I.3.Chromatographie analytique sur couche mince (C.C.M)

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de physico-chimie d'Isopharm-Algérie.

I.3.1. Principe

La Chromatographie sur Couche Mince (C.C.M) est une méthode physique de séparation basée sur les différentes affinités d'un ou plusieurs composés à l'égard de deux phases (stationnaire et mobile).

- **La phase stationnaire** : se présente sous forme de gel de silice étalée en mince couche sur une plaque de verre, d'aluminium ou sur une feuille semi-rigide de plastique.
- **La phase mobile** : appelée aussi l'éluant, composé d'un mélange de solvant, cette phase est la responsable de la migration des composés.

I.3.2. Mode opératoire

A l'aide d'une microseringue 2 gouttes de 2 μ l de l'extraits méthanolique sont déposées en bas de la plaque, la plaque est ensuite déposée verticalement dans la cuve chromatographique préalablement saturé en solvant de développement, le système éluant choisi pour cette phase est le suivant :

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

La cuve est ensuite fermée avec un couvercle qui sert d'une part à éviter l'évaporation du solvant mais surtout à réaliser la CCM en atmosphère saturée (pression de vapeur saturante du solvant), de façon à avoir des valeurs reproductibles. Arrêt la CCM lorsque le front d'éluant est arrivé à 1 cm du haut de la plaque.

- Révélation sous lampe UV : permet de mettre en évidence sous forme de taches des substances qui absorbent les UV à $\lambda = 254$ nm et $\lambda = 366$ nm.
- Paramètre de séparation et de rétention : Calcule de R_f (Retardation Factor ou Rapport Frontal)

$$R_f = \frac{\text{Distance parcourue par l'espèce chimique}}{\text{Distance parcourue par le front de l'éluant}}$$

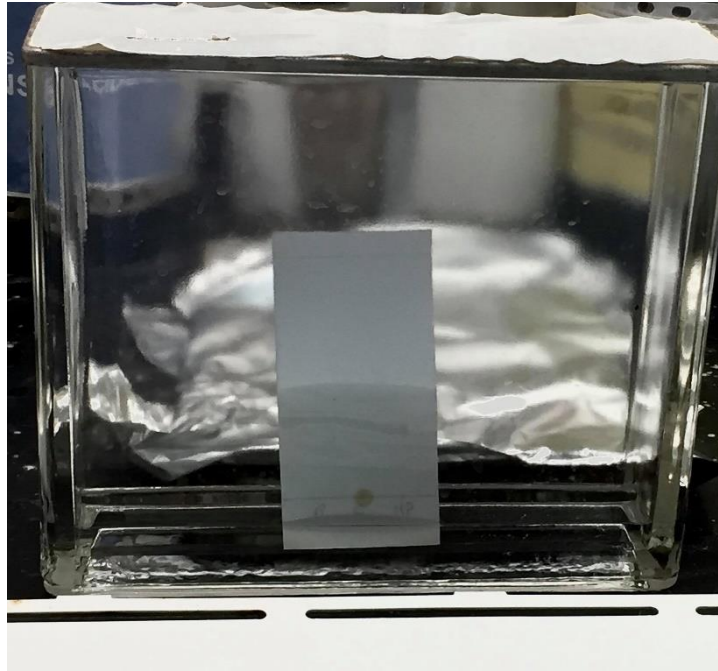


Figure 22: Développement de la plaque dans la cuve.

I.4. Etude de l'activité antibactérienne

Les tests de l'activité antibactérienne ont été réalisés au niveau du Laboratoire de microbiologie d'Isopharm de Constantine.

I.4.1. Principe

L'activité antibactérienne a été évaluée, *in vitro*, par la méthode de diffusion par puits en milieu solide, cette méthode permet de déterminer l'activité inhibitrice de croissance bactérienne par mesure du diamètre d'inhibition autour des puits (Tagg, 1971 ; in Nasri, 2016).

I.4.2. Les souches bactériennes utilisées

Les souches bactériennes utilisées ont été obtenues à partir de la collection de microorganismes disponibles au Laboratoire de microbiologie d'Isopharm-Algérie, les espèces sont les suivantes :

- *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (Gram positif)
- *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (Gram positif)
- *Escherichia coli* ATCC 8739 (Gram négatif)



Figure 23: Les tubes des souches bactériennes utilisées.

I.4.3. Milieu de culture utilisé

La gélose Mueller-Hinton qui est une gélose riche pour la réalisation de l'antibiogramme standard.

Composition :

- Infusion de viande de bœuf
- Peptone de caséine
- Amidon de maïs
- Agar

I.4.4. Préparation de l'inoculum

L'inoculum bactérien a été préparé à partir des colonies en bouillon Mueller Hinton (BMH). Une colonie isolée de la culture bactérienne a été prélevée à l'aide d'une anse de platine et homogénéisée dans 10 ml du bouillon puis incubé pendant 3 à 5 h à 37 °C pour avoir une pré-culture. Chaque suspension est ensuite ajoutée à un volume de 10 ml de MH de façon à obtenir une concentration convenable de spores 10⁷ à 10⁸ spores/ml (**Pharmacopée européenne 8^{ème} édition**).

La lecture de la suspension se fait à l'aide d'un DensiChek.

I.4.5. Dilution des extraits

Dilution de l'extrait à différentes concentrations (12.5, 25, 50, 100mg/ml) dans une solution tampon a pH 8 le ph optimal pour les souches utilisées (**Pharmacopée européenne 8^{ème} édition**).

Préparation de la solution tampon dont le pH est 8 en mélangeant 50 ml de solution de dihydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_4) 0.1mol/L avec 46.7 ml d'hydroxyde de sodium (NaOH) 0.1 mol/L, la solution est ensuite complétée à 100 ml avec de l'eau.

I.4.6. Préparation du milieu de culture

Le milieu de culture utilisé Mueller Hinton est liquéfié dans un bain marie à une température de 40 à 50°C.

Un volume de 9 ml de milieu Muller Hinton est contaminé avec 0.9 ml de la suspension bactérienne préalablement préparée, en suite coulé dans des boite de pétries stériles, et solidifié à température ambiante.

I.4.6. Dépôt de l'extrait

Des puits sont créés sur la boîte à l'aide de l'extrémité d'une pipette pasteur. 50 μL de chaque dilution sont introduits dans chaque puits. La boîte est laissée 2 à 3 h à 4°C pour la bonne diffusion de l'extrait. Après cette incubation, les boîtes sont mises dans l'étuve à des températures qui correspondent à chaque souche. La manipulation a été faite sous hotte pour éviter toute contamination.

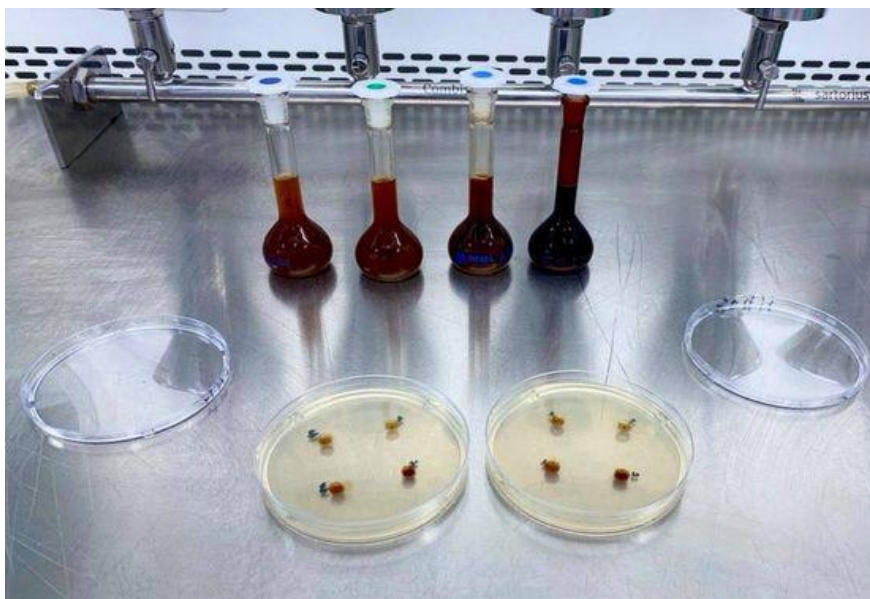


Figure 24: Dépôt des dilutions de l'extrait dans les puits

Résultats et discussion

Chapitre II : Résultats et discussion

II.1. Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction des composés phénoliques par macération hydrométhanolique à 70% représente 11.6%, ce rendement est calculé par rapport au poids de la matière sèche du clou de girofle 100 g.

Le rendement d'un extrait est calculé selon la formule suivante :

$$R(\%) = \frac{\text{Masse de l'extrait}}{\text{Masse de la matière végétale sèche}} \times 100$$

L'extraction de notre échantillon a fourni un rendement de 11.6%, ce résultat est supérieur à celui trouvé par **Hafsi *et al.* (2018)** qui varie de 4% à 5.25% et de **Houari (2005)** qui est de 10.6%.

La différence entre les valeurs trouvées et celles apportées par la bibliographie peut être expliquée par la nature du matériel de départ et la méthode d'extraction adoptée.

En fait, la variabilité de la teneur en PPT est largement dépendante de plusieurs facteurs : cultivar, degré de maturation (**Boudhrioua *et al.*, 2008**), des conditions climatiques, géographiques (**Mylonaki *et al.*, 2008**), de l'état physiologique et l'âge de la plante (**De Leonardis *et al.*, 2008**).

De plus, le rendement d'extraction dépend de la polarité du solvant utilisé, qui détermine la quantité, la qualité des composés phénoliques extraits et de la classe des phénols dans le matériel végétal (**Sineiro *et al.*, 2008 ; in Almi,2010**).

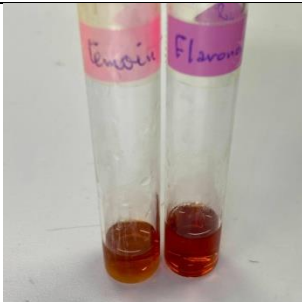

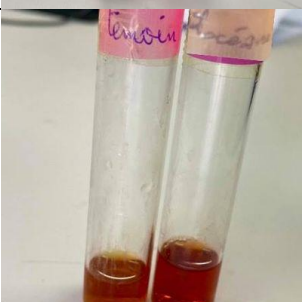
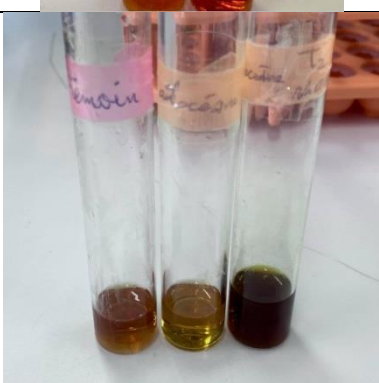



Figure 25 : L'extrait obtenu à partir de l'extraction par méthanol 70% après séchage a sec.

II.2. Criblage des métabolites secondaires

Une investigation phytochimique consiste à détecter les différentes classes des métabolites Secondaires que renferme l'espèce *Syzygium aromaticum*, la détection de ces composés est Basée sur des réactions de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques.

Tableau 3 : Résultats des criblages des métabolites secondaires.

Métabolites secondaire	Remarque	Résultats	Photos des résultats (témoins et résultats)
Flavonoïdes	Apparition d'une couleur rouge (présence de flavones)	+	
Anthocyanes	Aucun précipité	-	
Anthraquinones	Apparition d'une couleur rouge	+	
Tanins	<ul style="list-style-type: none"> - Apparition d'un précipité blanc lors de l'ajout de la gélatine - Le FeCl₃ confirme la présence des tanins catéchique après le virage de la couleur au brun verdâtre 	+	

Saponosides	Apparition d'une mousse de 1 cm	+	
-------------	---------------------------------	---	---

Les résultats sont interprétés comme suit :

(+) positif

(-) négatifs

Le criblage des métabolites secondaires du clou de girofle de ce travail a mis en évidence la présence des : Flavonoïdes, Anthraquinones, Tanins et saponosides, et l'absence des anthocyanes

L'étude par **Medfouni** et **Hafsi** en 2018 de criblage phytochimique (l'extrait méthanolique de *Syzygium aromaticum*) expose que cette plante contient des :

Saponines, tanins, anthocyanes et leuco anthocyanes, flavonoïdes, terpènes et stérols, et l'absence d'alcaloïdes et cardinolides, coumarines.

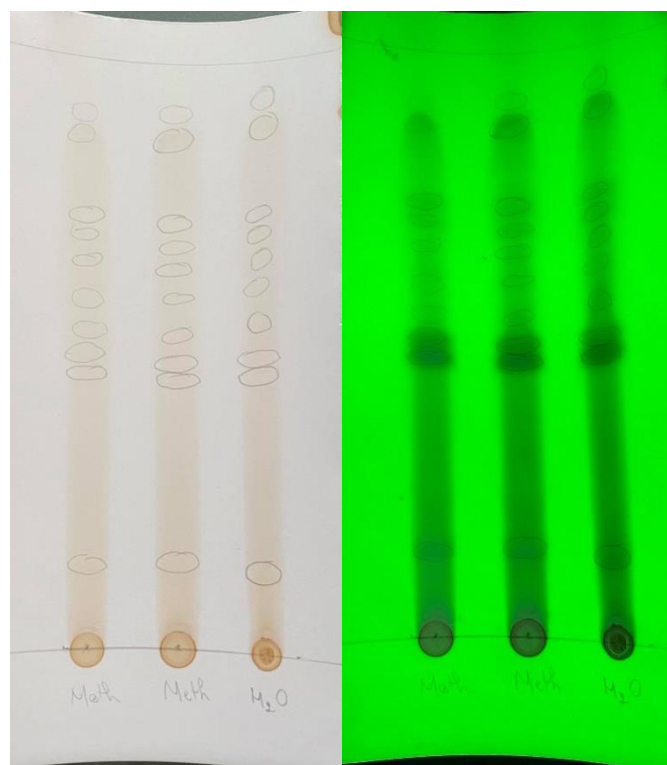
II.3. Chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince a été réalisée en utilisant un le système de solvant suivant : Acétate d'éthyle/MeOH/H₂O (V/V/V; 100/13,5/10) qui permet d'avoir une bonne séparation et une visibilité acceptable des spots, les chromatogrammes résultants comportent une série de spots visible sous UV à 254 nm.

Les résultats de cette manipulation sont représentés sur la **figure 26** et dans le **tableau 5**.

Tableau 4 : Résultats de la séparation par CCM des différentes fractions de l'extrait MeOH des clous de girofle *Syzygium aromaticum*.

Spots révélés	Rapport frontal (R_f)
Spot 1	0.038
Spot 2	0.13
Spot 3	0.46
Spot 4	0.49
Spot 5	0.56
Spot 6	0.62
Spot 7	0.67
Spot 8	0.72
Spot 9	0.75
Spot 10	0.88
Spot 11	0.91

**Figure 26** : Photos des chromatogrammes résultants de l'analyse de l'extrait MeOH par CCM à l'œil nu et sous lampe UV à 254 nm.

L'analyse qualitative après CCM par visualisation à l'œil nu et sous UV à 254 nm, a permis de mettre en évidence de nombreuses taches (spots) ce qui confirme la présence de métabolites secondaire comme les flavonoïdes, les tanins...dans l'extrait hydrométhanolique de l'espèce *Syzygium aromaticum* et renforce également ce que nous avons obtenus précédemment.

II.4. Activité antibactérienne

L'extrait méthanolique de l'espèce *Syzygium aromaticum* a été testé contre les 3 souches bactériennes suivantes : *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*, cette étude est basée sur la mesure des diamètres des zones d'inhibitions.

Les résultats de l'activité antibactérienne *in vitro* sont confinés dans le **tableau 6** et la **figure 27**.

Tableau 5 : Diamètre de la zone d'inhibition des extraits hydrométhanoliques de *Syzygium aromaticum* en fonction des concentrations.

Bactéries	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)			
	12.5 mg/ml	25 mg/ml	50 mg/ml	100 mg/ml
<i>E. coli</i> ATCC 8739	-	-	-	-
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	9.95	11.13	12.7	13.86
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	9.84	11.84	14.40	16.76

- : Aucune inhibition.

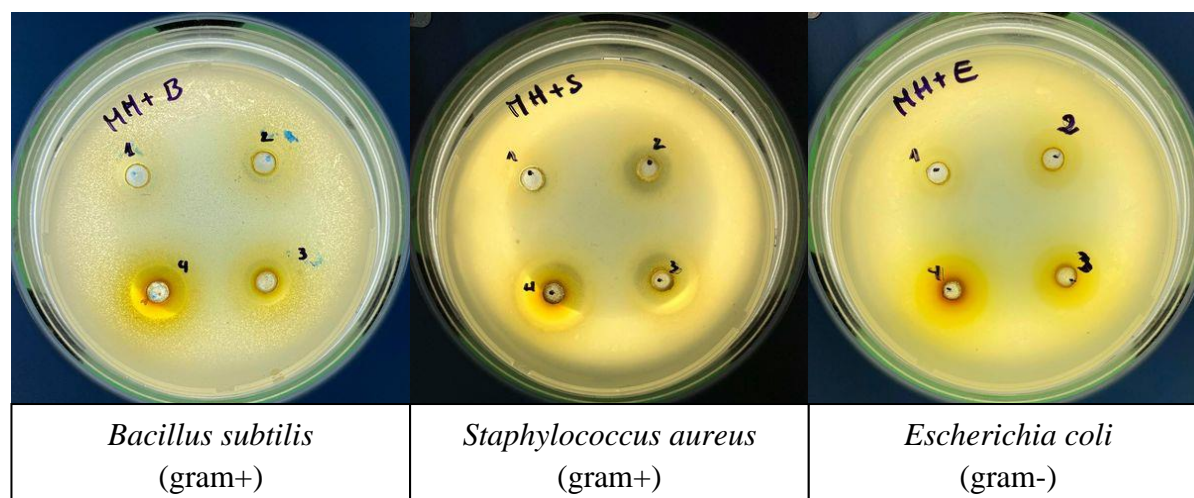


Figure 27 : Aspects d'inhibition des souches bactériennes par l'extrait hydrométhanolique des clous de girofle *Syzygium aromaticum*.

Les résultats du test antibactérien montrent une variation dans l'efficacité d'inhibition de l'extrait hydrométhanolique des clous de girofle vis-à-vis des souches bactériennes testées.

Observation d'un effet antibactérien considérable contre les bactéries à gram positif (*Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus*) et une absence d'inhibition pour la bactérie à gram négatif (*Escherichia coli*).

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, tandis que les bactéries à Gram négatif possèdent une enveloppe cellulaire constituée d'une membrane cytoplasmique, d'un périplasme contenant une paroi fine, et d'une membrane externe ; ces bactéries ayant deux membranes biologiques sont plus précisément qualifiées de didermes.

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 libre 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 leurs affinités 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 est plus grandes que celles des bactéries à gram négatif (*E. coli*) car ils ont qu'une seule membrane biologique ce qui les laisse vulnérables **(Chadi, 2014)**.

De plus, l'action inhibitrice observée sur la croissance des bactéries à gram positif augmente en fonction de l'augmentation de la concentration de l'extrait, ce qui montre que les substances actives de l'extrait hydrométhanolique de *Syzygium aromaticum* ont une activité antibactérienne illimitée. Notre résultat est en accord avec les résultats obtenus par **Chagra (2019)** qui montrent que la sensibilité des bactéries augmente en fonction de l'augmentation de la concentration des extraits.

Conclusion

Conclusion

Les plantes médicinales sont une source inépuisable de substances et de composés bioactifs connus par leurs propriétés thérapeutiques.

La valorisation de cette espèce (*Syzygium aromaticum*) constitue le but ultime de ce travail qui consistait à étudier les caractéristiques physico-chimiques et biologique du clou de girofle.

La séparation des substances chimique de l'extrait préparé par technique de macération avec solvant, et les tests de screening phytochimique effectués montrent que cette plante est riche en composés phénoliques, y compris essentiellement : Les flavonoïdes, les tanins, les anthraquinones, les saponosides.

Les résultats de la chromatographie sur couche mince (C.C.M) confirment la richesse de l'extrait méthanolique en composées phénolique.

Ainsi l'étude de l'activité antibactérienne de l'extrait de *Syzygium aromaticum* par la méthode de diffusion par puits en milieu solide, a montré que les souches de (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*) sont sensibles à l'extraits, cela confirme la puissance de notre espèce étudier.

L'ensemble de ces résultats obtenus ouvre des perspectives d'utilisation de cette plante pour différents usages et ne constitue qu'un début dans le domaine de la recherche des substances naturelles biologiquement actives.

On conclut de tous nos résultats obtenus que l'espèce *Syzygium aromaticum* renferme une foule de molécule bioactifs, qui possèdent un pouvoir pharmacologique pour des applications thérapeutiques.

Pour compléter cette étude il serait intéressant de mener une étude approfondie sur le *Syzygium aromaticum*, afin d'isoler et identifier les principes actifs de cette plante en utilisant des techniques plus modernes comme la chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) ou chromatographie en phase (CPG) coupler à spectrophotomètre de masse.

Il serait intéressant aussi de faire d'autres études comme l'activité antioxydante et l'étude *in vivo* sur un modèle animal.

A la fin, du fait que notre pays possède une biodiversité immense dont chaque plante se caractérise par un réservoir assez important de métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques particulières qui demandent d'être exploitées par les recherches. On propose aussi d'orienter les recherches scientifiques vers la réalisation des études approfondies et complémentaires des activités biologiques des plantes (HE, composés polyphénoliques et flavonoïdes) en général et ouvrir des pistes dans la compréhension de la relation structure-activité en particulier, afin de déterminer de nouvelles substances bioactives naturelles pourront répondre aux différents problèmes de la santé et d'être un alternatif des médicaments synthétiques.

Bibliographie

Alice D. (2011). Faisabilité de la mise en place d'une indication géographique . Thèse de doctorat.Ecole superieure d'agro-développement international Istom.

Almi D. (2010). Etude du pouvoir antioxydant des composés et extraction polyphénoliques issues des olives et sous produits de l'olivier (feuilles et margines) variété chamlal sur l'oxydation thermique simulant la friture de deux huiles à large consommation:l'huile d'olive. thèse pour obtenir le diplôme de magister.université mouloud maamri de tizi ouzou.

Atmani H., et Baira K. (2015). Mise en évidence de l'activité antibactérienne et antifongique et l'étude des caractères physico-chimique de l'huiles essentielle du clou de girofle *syzygium aromaticum L.* Constantine: Université des Frères mentouri 1.

Azouz L. Cours de Chimie Organic.

Baadache I., et Merrouche K. (2019). Contribution à l'étude phytochimique de deux espèces de la famille des *Apiacées* et *Asteracées*. Constantine: Université des Frères mentouri 1.

Basset F. (1995). Huiles essentielles. Un marché et une problématique mondial , parfums ,cosmétique,aromes.

Boudhrioua N., Bahloul N., Ben Slimen I. et Kechaou N. (2008). Comparison on the total phenol contents and the color of fresh and infrared dried olive leaves. Industrial Crops and Product.

Bruneton J. (1999). Pharmacognosie phytochimie plantes médicinales 3éme édition Tec et Doc . paris.

Chadi D., et Allal O. (2014). contribution à l'étude phytochimique des flavonoïdes chez l'espèce *Prunus cerasifera atropurpurea L.* et évaluation de leur pouvoir antibactérien. Constantine: Université des Frères mentouri 1.

Chagra K. (2019). Etude les propriétés physico-chimiques et biologique de clou du girofle (*Syzygium aromaticum (L).* Université Mohamed Khider de Biskra.

De Leonardis A., Aretini A., Alfano G., Macciola V. et Ranalli G. (2008). Isolation of a hydroxytyrosol-rich extract from olive leaves (*Olea Europaea L.*) and evaluation of its antioxidant properties and bioactivity. European Food Research and Technology.

Dvet P., et Rouxel F. (1997). Détection et isolement des champignons du sol . Paris: Cedex07.

Georgetti S.R., Casagrande R., Dimiro V.M., Ana A., et al. Evaluation of the antioxidant activity of different flavonoids by the chemiluminescence method. AAPS pharmsci .

German G., et German P. (2014). Plantes d'aromathérapie. Delachaux et Niestlé.

Hafsi et Medfouni. (2018). contribution à l'étude phytochimique et les activités biologiques d'une plante médicinale *Syzygium aromaticum*. Constantine: Université des Frères mentouri 1.

Houari A.D.E. (2015). Effet prophylactique de l'administration d'un extrait de *Syzygium aromaticum* (clou de girofle) chez les rats wistar en croissance intoxiquée au plomb et au manganèse. Etude biochimique, histologique et neurocomportementale. Thèse de Doctorat en biologie. Université d'Oran Ahmed ben Bella. .

Hans W. (2007). 1000 Plantes Aromatique et médicinales . Terres éditions .

Khdimallah N., et Filali I. (2018). Etude phytochimique et activités biologiques des deux espèces : *Ocimum basilicum L* et *Lavandula angustifolia Miller*. Constantine: Université des Frères mentouri 1.

Louni M. (2013). Extraction, caractérisation physico-chimique et microbiologique de l'huile Essentielle de clou de girofle. Thèse pour obtention le grade master. Université Mouloud Maamri de tizi ouzou.

Koroch A., Ranarivelo L., Behra O., Juliani H.R., et J.E., a. s. (2007). Quality Attributes of Ginger and Cinnamon Essential oils from madagascar. Issues Alexaridrava.

Mahmoud I., Nassar., Ahmed H., Gaara., El-ghorab A., et al. (2007). Chemical constituents of clove (*Syzygium Aromaticum, from myrtaceae*) and their antioxidant activity. Merghem.Rachid. Elément de biochimie végétale. Bahaeddin Editions.

Meyer B. (1997). Les matières premières mondiales en compétition avec la production française et européenne. Italiana Eppos.numéros spécial.

Mylonaki S., Kiassos E., Makris D.P., Kefalas P. (2008). Optimisation of the extraction of olive (*Olea europaea*) leaf phenolics using water/ethanol-based solvent systems and response surface methodology. Anal Bioanal Chemistry.

Nasri I. (2016). Etude phytochimique et activités biologiques de *Diplotaxis* sp. : application à l'étude des cellules souches coliques pathologiques. Cancer. Université Paul Sabatier - Toulouse III.

Outayeb W., et Touabi F. (2015). Activité antibactérienne et antioxydante des polyphénols extraits de sous-productions oléicoles:margine et feuilles de l'olivier(variété chamlal). Tizi-ouzou: Université mouloud mammeri.

Pharmacopée européenne 8^{ème} édition. (2013). Tome I. Titrage microbiologique des antibiotiques.

Pibiri M.C. (2006). Assainissement microbiologique de l'air et des syntèse de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse Doctorat.Ecole polytechnique fédérale de lausanne.

Rakotoatimanana B.V., et al. (2010). Contribution à l'optimisation d'une unité de production d'huiles essentielles. Mémoire dde fin d'étude, Département Génie chimique.Ecole supérieure polytechnique d'antanrivo ESPA,.

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.

Webographie :

(Site1) : www.ticepo.ac-montpellier.fr

(site2) : www.reseachgate.net

(site3) : www.fr.wikipedia.org

Présenté par :

soutenu le : 08/07/2021

REMITA Esma

BENZINA Maroua

Intitulé :

Contribution à l'étude des propriétés phytochimiques et biologiques du giroflier (*Syzygium aromaticum* (L.) Merrill & Perry)

Résumé

La présente étude porte sur la mise en évidence de la présence des polyphénols dans l'extrait hydroalcoolique des boutons floraux du giroflier (*Syzygium aromaticum* (L.) Merrill & Perry), une espèce médicinale utilisée en phytothérapie traditionnelle. L'extraction des composés phénoliques a été réalisée par la méthode de macération.

Un criblage phytochimique nous a permis d'affirmer la richesse de la plante *Syzygium aromaticum* en composés phénoliques, et a été complété par une analyse chromatographique (CCM) qui a révélé la présence de plusieurs molécules à différents rapports frontaux.

Le test de mise en évidence de son pouvoir antibactérien est effectué sur trois souches bactériennes (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*).

Les résultats montrent que cette plante possède une importante activité antibactérienne avec des diamètres d'inhibition variant.

Mots clés : *Syzygium aromaticum*, Polyphénols, Extraction, CCM, activité antibactérienne

Devant le jury :

Président : M^f DJEROUNI Aissa (MCA) Université Frères Mentouri-Constantine 1

Promoteur : M^{me} BOUCHOUKH Imane (MCB) Université Frères Mentouri-Constantine 1

Examinatrice : M^{me} BAAZIZ Nacera (MCB) Université Frères Mentouri-Constantine 1