



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
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

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département de biologie et écologie 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 molécules bioactive*

Thème :

Intitulé :

**L'effet des facteurs climatiques sur la variation de
quelques métabolites secondaires suivis de l'activité
antibactérienne chez les deux espèces
*Hyoscyamus albus L. et Hyoscyamus muticus L.***

Présenté et soutenu par : **Allam Salma**

Le : 24 /06/2015

Ayad Karima

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mr . Chibani salih // M.C. Université Constantine 1

Rapporteur: Mr .Kbayli Zoubir // M.A.A Université Constantine 1

Examineurs : Mme Nebbache Salwa // M.A.A Université Constantine 1

***Année universitaire
2014 – 2015***

Remerciement

Merci à **DIEU** qui nous a donné le courage, la force et la patience pour achever ce modeste travail.

Mes plus vifs remerciements s'adressent au Docteur «**KADI Kenza** » professeur de **Université Abbès Laghrour- Khenchela** pour son encadrement pendant tout ce semestre. Les Conseils qu'il m'a prodigué et ces nombreux encouragements furent très précieux pour l'accomplissement de ces travaux. Il n'a jamais compté le temps qu'il m'a accordé.

جزاها الله خيرا

Nous remercions **Mr. KBAILY Zoubir** qui accepter d'encadrer ce travail.

Je tiens ainsi à remercier les membres de jury : Monsieur **CHIBANI Salih** et Madame **NEBBACH Salwa**, pour avoir accepté d'examiner ce modeste travail et de l'attribuer des remarques et des corrections très intéressantes.

Nous remercions tous ce qui nous aidons pour présenter ce travail, spécialement notre parents et ma famille .

Et toute personne qui a participé de loin ou de près pour l'accomplissement de ce travail **Wahiba , Soumia et Yasin** (des étudiants)de **Université Abbès Laghrour- Khenchela** et je n'oublie pas **MAZHOUD Amel** enseignante de **Université Abbès Laghrour- Khenchela**, **TEDJINI Abd El-Malek** (En charge de la direction et de la formation de la Direction des intérêts agricoles Wilaya **Oued-Souf**) et surtout Les enseignants qui nous ont aidés pendant la durée de mon cycle d'étude, sans oublies **Dr.BAKA Moubarek** le chef de département et madame **Dr . CHOUGHUI Saida**

Salma

Dédicace

J'ai l'honneur de dédié ce modeste travail à mes chers parents, qui m'ont dirigé et suivi pendant toute mes années d'études et surtout mon père, mon professeur de toujours, pour leurs sacrifices de tous les moments, sa patience sans limite et l'éducation qu'il m'a donnée,

Je le remercie mille fois.

A mes proches et toute ma famille

A mes amis et tous les gens qui m'aiment

Salma

Remerciement

*J'exprime d'abord mes profonds remerciements à mon DIEU qui m'a donné le courage et la
Volonté d'achever ce travail.*

*Je tiens d'abord à exprimer ma très grande gratitude et ma reconnaissance la plus sincère à
Dr. KADI kanza (professeur à l'université Abbes Laghrour kenchela) pour la confiance, les
conseils que vous nous avez accordés tout le long de ce travail. Les Conseils qu'il m'a
prodigué et ces nombreux encouragements furent très précieux pour l'accomplissement de ces
travaux. Il n'a jamais compté le temps qu'il m'a accordé. Merci également pour votre
encadrement, votre disponibilité et votre gentillesse.*

Nous remercions **Mr. KBAILY Zoubir** qui acceptent d'encadrer ce travail.

Je voudrai exprimer toute ma reconnaissance et mes remerciements à :

*Je remerciements vont aussi aux membres de juger: Monsieur **Chibani Salih**, Maître de
Conférence à l'université Constantine 1 et Madame **NEBBACHE salwa** , Maître Assistante
à l'université Constantine 1. Recevez nos plus vifs remerciements pour avoir accepté de
Jury ce travail.*

*A ma formidable amie Salma, qui avec elle j'ai passé des bons moments qui je les n'oublie
jamais. et toutes les personnes qui ont contribuées de près et de loin à la réalisation de ce
modeste travail.*

Karima

Merci à tous

Dédicace

Ce qui sont les plus chers au monde, mes parents :

A mon père, pour m'avoir soutenu moralement et matériellement jusqu'à ce jour.

Père, ce travail est le tien.

A ma mère, voici l'aboutissement de tes nombreuses nuits de prières de ta sagesse et ta générosité pour votre petite fille. Chère mère, ce travail est le fruit de tes efforts.

A mon frère khaled, le chemin est dur et encore long, il faudrait du courage et beaucoup de chance, que dieu vous garde.

J e n'oublie jamais la générosité illimitée de mes sœurs.

Leurs soutien moral et financier, sans lesquels je n'aurais pu continuer mes études dans de bonnes conditions, tous simplement je voudrais leurs dire je les aime de tout mon cœur

Sommaire

Introduction	2
Première partie : Synthèse bibliographique	
Chapitre I : les plantes médicinales	
I-1 Historique.....	5
I-2 Les plantes médicinales.....	6
I-2-1 Définition.....	6
I-2-2 L'importance de l'utilisation les plantes médicinales.....	6
I-2-3 Domaines d'application les plantes médicinales.....	6
I-2-4 Définition de la phytothérapie.....	6
Chapitre II: les métabolites secondaires des plantes médicinales	
II -1 Le Métabolisme secondaire.....	9
II -2 Les types des métabolites secondaires.....	9
II-2-1 Métabolites secondaires hydrophyliques.....	9
II -2-2 Métabolites secondaires lyophyliques.....	9
II -3 Rôle biologique des métabolites secondaires	10
II-4 Classification des métabolites secondaires.....	10
II -4-1 les composés phénoliques.....	10
II-4-1-1 biosynthèse des composés phénoliques.....	10
II -4-1-1-1 La voie de shikimate.....	10
II-4-1 -1-2 La voie de phénylpropanoïde.....	11
II-4-1-2 Propriétés biologiques des Composés phénoliques.....	12
II-4-1-3 Principales classes des composés phénoliques.....	13
II-4-1-3-1 Les acides phénoliques simples.....	13
A/Acides hydroxybenzoïques.....	13

Sommaire

B/Acides hydroxycinnamiques.....	14
C/Coumarines.....	14
II -4-1-4-2 Les flavonoïdes.....	15
II -4-1-4-2-1 Définition.....	15
II -4-1-4-1-2 classifications.....	16
II -4-1-4-2-3 propriétés biologique des flavonoïdes.....	17
II-4-1-4-3 les tanins.....	18
II-4-1-4-3-1 -1Définition.....	18
II-4-1-4-3-2 Classification	18
II-4-1-4-4Utilisation des tanins.....	19
II -4-2 Les composées terpénoides.....	19
II -4-2-1 Définition.....	19
II -4-3 les composés azoté(les alcaloïdes).....	20
II -4-3-1 Historique des alcaloïdes.....	20
II -4-3-2 Définition.....	20
II -4-3-3 Classification des alcaloïdes selon la structure chimique.....	21
II -4-3-4 La biosynthèse des alcaloïdes.....	21
II -4-3-5 Propriétés physico-chimiques.....	22
II -4-3-6 Alcaloïdes tropanique et leur biosynthèse.....	23
II 4-3-6-1 Origine biosynthétique.....	24
II-4-3-6-1-1Atropine.....	25
II -4-3-6-1-2.Scopolanine.....	25
II -4-3-6-1-3 L'hyosyamine.....	26
II -4-4 Extraction et dosage des alcaloides.....	26
II -4-4-1 Extraction.....	26

Sommaire

II -4-4-2 Dosage.....	28
II-4-5 Séparation des alcaloïdes.....	29
II-4-6 Les effets des alcaloïdes.....	29
II-4-7 Activités pharmacologique.....	29
Chapitre III : Etude botanique	
III-1 Généralités sur les solanacées.....	31
III-1-1 Définition.....	31
III -1-2 Caractéristiques.....	31
III-1-3 Description.....	31
III -2 le genre.....	32
III -3 l'espèce.....	32
III-3-1 La plante <i>Hyoscyamus albus</i> L	32
III-3-1-1 Etymologie.....	32
III -3-1-2 Classification (Position dans la systématique).....	33
III -3-1-3 Origine et aire de répartition.....	33
III -3-1-4 Habitat.....	34
III -3-1-5 Période de floraison.....	34
III -3-1-6 Description botanique.....	34
III-3-2 La plante <i>Hyoscyamus muticus</i> L	34
III-3-2-1 Etymologie.....	34
III -3-2-2 Classification (Position dans la systématique).....	35
III -3-2-3 Habitat.....	36
III -3-2-4 Origine et aire de répartition.....	36
III -3-2-5 Période de floraison.....	36

Sommaire

III-3-2-6 Description botanique.....	37
III-4 Composition chimique.....	37
III-5 Préparation des Hyoscyamus.....	37
III-6 Dose.....	37
III-7 Médicaments à base de hyoscyamus.....	37
III.8 La phytothérapie de la plante.....	38

Chapitre IV : activité anti bactérienne

IV-1L'activité antibactérienne.....	40
IV-1-1 Rappel sur les bactéries.....	40
IV- 1-2 la structure bactérienne.....	40
IV- 1-3Classification des bactéries d'intérêt médical	40
IV-2-1 Bactéries en forme de sphère : les cocci.....	40
IV-2-1-1 Cocci Gram positif	40
IV-2-1-2 Cocci Gram négatif	40
IV-2-2 Bactéries en forme de bâtonnet : les bacilles.....	40
IV-2-2-1Bacilles Gram positif.....	40
IV-2-2-2 Bacilles Gram négatif.....	40
IV-2-2-3 Bacilles acido-alcool résistants (Baar).....	41
IV-2-3 Bactéries en forme de spirale : les spirochètes.....	41
IV-2-4 Flore bactérienne anaérobie.....	41
IV-2-4-1 Gram positif.....	41
IV-3-4-2 Gram négatif.....	41
IV-3- Les infections bactériennes	41
IV-4-Les caractéristiques des souches microbiennes utilisées.....	41
IV -5 l'antibiotique.....	44
IV -6Antibiogramme.....	44

Sommaire

Deuxième partie : Expérimentation

Chapitre I : Matériel et méthodes

I-1 Situation géographique de la zone de récolte (la commune d'Arris wilaya de batna)....	47
I-2 Situation géographique de la zone de récolte (la commune Tassili willaya d'Illizi).....	48
II-3 Les données climatiques.....	48
II-3-1 Etude climatique de la Zone de Batna.....	49
II-3-1-1 Température	50
II-3-1-2 Précipitations.....	52
II-3-2 Etude climatique de la Zone de Djanet.....	53
II-3-2-1 Température	53
II-3-2-2 Les Précipitations.....	55
II-4 Etude phytochimique.....	55
II-4-1 Le matériel végétal	56
II-4-1-1 Récolte de la matière végétale	56
II-4-1-2 Séchage et Broyage.....	56
II-4-1-3 Macération de la matière végétale.....	57
II-4-1-4 Filtration.....	58
III-1 Criblage des métabolites secondaires	58
III-1-1 Criblage des flavonoïdes	58
III-1-2 criblage des Tanins.....	59
III-1-3 Criblage des anthraquinones.....	59
III-1-4 Criblage des quinones	59
III-1-5 Criblage des Alcaloïdes.....	59
III-1-6 Criblage des Saponosides.....	60
III-1-7 Criblage des coumarines	60

Sommaire

III-2 La Chromatographie Analytique sur Couche Mince (CCM).....	61
III-2-1 Evaporation	61
III-2-2 La séparation par CCM	61
III-2-3 protocole.....	61
a- La phase stationnaire	61
b- La phase mobile	62
c- Dépôt d'échantillon.....	62
d- Développement de la plaque	62
e- Révélation.....	63
III-3Extraction des alcaloïdes	63
III-4Détermination des alcaloïdes totaux	66
IV-Etude de l'activité antibactérienne.....	66
Chapitre II: Résultats et discussions	
II-3- Résultats et discussion L'étude phytochimique de l'espèce <i>Hyoscyamus albus</i> L. et <i>Hyoscyamus muticus</i> L.....	69
*-Réaction de caractérisation en tube	
II-4 Les résultats de l'activité antibactérienne.....	69
Conclusion	81
Références bibliographiques	
Résumé	

Introduction

Introduction

Pendant des millénaires, l'homme utilise les plantes afin de subvenir à ses besoins de base, et notamment la nourriture, les vêtements, et les besoins médicaux.

Plus 80% de la population mondiale utilisent les plantes médicinales pour se soigner en conséquence d'une part à l'efficacité de ces dernières, et d'autre part par le manque d'accès aux médicaments prescrit par la médecine moderne en outre ces médicaments moderne (**L huillier A,2007**)

Bien que efficace ils ne sont pas dépourvus des effets indésirables. (**Gurib. A, (2006)**)

Le XXème était la scène de nombreuses recherches de nouvelles molécules bioactives via le criblage de ressources naturelles, ceci a résulté dans la découverte d'un grand nombre de médicaments bénéfiques pour le traitement de nombreuses maladies humaines.

Les conditions climatiques méditerranéennes de l'Algérie favorisent, aussi bien le développement des plantes médicinales spontanées. La température et les précipitations sont des facteurs climatiques de toute première importance car elles contrôlent l'ensemble des phénomènes métaboliques et conditionnent la répartition de la totalité des espèces et des communautés d'être vivant dans la biosphère (**Ramade, 1984**).

Dans ce sens; Le présent travail consiste à effectuer l'étude comparative de l'aspect phytochimique et l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de deux espèces d'une plante médicinale algérienne appartenant à la famille des solanacées : La première espèce *anHyoscyamus albus* L., une espèce endémique d'Afrique du Nord méditerranée connue par son utilisation traditionnelle médicinale. La deuxième espèce *Hyoscyamus muticus* L., une espèce endémique au Sahara.

Le mémoire est constitué en trois parties :

La première partie est consacrée à une recherche bibliographique, comportant dans le :

1^{ier} Chapitre: les plantes médicinales.

2^{ème} Chapitre: les métabolites secondaires.

3^{ème} Chapitre: l'étude botanique de la famille des Solanacées, l'espèce *Hyoscyamus albus* L. et l'espèce *Hyoscyamus muticus* L.

4^{ème} Chapitre: l'activité anti bactérienne.

La deuxième partie est consacrée à l'expérimentation dont on a entamé dans le 1^{ier} Chapitre : le matériel utilisé et les méthodes suivies pour réaliser cette étude.

2^{ème} chapitre : présentation des résultats obtenus et leur discussion

Première partie:

Synthèse

bibliographique

Chapitre I :

Les plantes médicinales

I-1 Historique :

Depuis les temps le plus reculés, la préoccupation de l'homme a été la satisfaction de ces besoins alimentaires, il a développé ainsi intime avec le milieu qui l'entourait. Pour se soigner, il apprit à ses dépens discerner les ressources végétales, animales nécessaires à se servir. Les animaux sont les premiers utilisateurs des plantes thérapeutiques. **(Barka S,2010)**

C'est seulement à partir de 4000 ans avant Jésus Christ que l'on retrouve des documents écrits ou sont mentionnés des drogues comme l'opium, la jusquiame, etc. Tandis que les civilisations babyloniennes, sumériennes et égyptiennes accumulent les connaissances empiriques concernant les plantes médicinales, les arbres diffusent ce savoir autour le bassin méditerranéen. **(Benarous k, 2009)**

Au cours des dernières années, plusieurs raisons ont mené au rétablissement de l'usage des plantes médicinales en Amérique du Nord. Elles sont d'abord d'un coût inférieur aux médicaments de synthèse, puis elles arrivent à un moment où le public est désillusionné devant la médecine moderne. **(Barka S, 2010)**

I-2 Les plantes médicinales:

I-2-1 Définition :

On appelle plante médicinale toute plante renfermant un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies. Certaines plantes contenant toute une gamme de matières efficaces, peuvent avoir des actions très différentes suivent leur mode de préparation. **(Baba Arbi H ,2010)**

Depuis toujours les plantes ont constitué la source majeure de médicaments grâce à la richesse de ce qu'on appelle le métabolisme secondaire. Cependant, l'homme n'a découvert les vertus bénéfiques des plantes que par une approche progressive, facilitée par l'organisation des rapports sociaux, en particulier à partir du néolithique. **(Bahaz M, 2010)**

Certaines plantes sont inoffensives, mais d'autres, dite nombreuses (digitale, belladone, colchique, etc.), sont toxiques et ne sont utilisées que sous des formes bien contrôlées, exclusivement commercialisées en pharmacie. L'emploi inconsidéré de plantes cueillies dans la nature peut aboutir à des intoxications graves, voir mortelles. **(Benarous k,2009)**

I-2-2 L'importance de l'utilisation des plantes médicinales :

Les plantes médicinales sont en mesure de soigner des maladies simples comme le rhume, ou d'en prévenir de plus importantes comme l'ulcère, la migraine, l'infarctus en plus de certaines allergies ou affections. Si l'on y ajoute leurs vertus réparatrices, tonifiantes, sédatives, revitalisantes ou immunologiques, on mesure mieux l'aide précieuse qu'elles sont susceptibles de nous apporter au quotidien. **(Bahaz M, 2010)**

I-2-3 Domaines d'application des plantes médicinales :

Il y a un intérêt progressif dans l'utilisation des plantes médicinales dans les pays développés comme dans les pays en voie de développement, parce que les herbes fines guérissent sans effet secondaire défavorable. Ainsi, une recherche de nouvelles drogues est un choix normal. **(Bahaz M, 2010)**

- Utilisation en médecine en tant que médicament pour l'homme; exemple: Réduisaient le risque de nombreuses maladies chroniques comme le cancer, les accidents vasculaires cérébraux et les coronaropathies.
- Une action sur le système nerveux, la circulation sanguine, une action antibiotique,...etc. **(Barka S,2010)**
- En alimentation :

Assaisonnements, des boissons, des colorants et des composés aromatiques. Les épices et les herbes aromatiques.

- En cosmétique :

Des produits de beauté, parfums et articles de toilette, produits d'hygiène.

- Des suppléments diététiques. **(Bahaz M, 2010)**

I-2-4 Définition de la phytothérapie

Etymologiquement le traitement par les plantes, vient du mot grec « python » qui veut dire plante, et « thérapia » traitement, est une méthode thérapeutique qui utilise l'action des plantes médicinales.

La phytothérapie est une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et /ou certains états pathologiques au moyen de plantes, de parties ou de

préparation à base de plantes .ce n'est ni une thérapeutique spéciale ni une médecine alternative, car elle fait partie intégrante de la thérapeutique.

On peut distinguer deux types de phytothérapie :

- **phytothérapie classique** :une pratique traditionnelle, parfois très ancienne basée sur l'utilisation de plantes selon les vertus découvertes empiriquement .Selon L'OMS, cette phytothérapie est considérée comme une « *médecine traditionnelle et encore massivement employée dans certains pays dont les pays émergents .c'est une médecine parallèle du fait de l'absence d'étude clinique* ».
- **phytothérapie rénovée** :une pratique basée sur les avancées scientifiques et la recherche des principes actifs des plantes .Cette phytothérapie est assimilée aux médicaments et selon les pays suit les mêmes réglementations. On parle alors à la Pharmacognosie (**Roland, 2002 ;Bruneton,2003**)

Chapitre II:

Etude botanique

III-1 Généralités sur les solanacées

III-1-1 Définition

Les solanacées sont une famille de appartenant à l'ordre des solanales. Ce sont des plantes herbacées, des arbustes, des arbres ou des lianes des régions tempérées à tropicales.

C'est une famille des plantes qui a une grande importance économique. En sont issues bon nombre des légumes et des fruits :

pommes de terre (*solanum tuberosum*), tomates (*lycopersicon esculentum*), aubergines (*solanum melogena*), piments (*capsicum frutescens*), poivrons (*capsicum annuum*).

Sont aussi issues de cette famille des cultures industrielles comme le tabac (*nicotiana tabacum*) ou ornementales comme les pétunias ou les moreaux faux jasmins. **(Henintsoa, 2011)**

III -1-2 Caractéristiques

Les solanacées sont caractérisées par une grande homogénéité de caractères, notamment anatomiques et biochimiques.

Un grand nombre de cette famille produisant des alcaloïdes, est répandue dans les régions chaudes et tempérées.

Bien que les espèces alimentaires contiennent aussi des alcaloïdes dans les feuilles, les tiges et les racines, les parties comestibles (tubercule de la pomme de terre, fruits des tomates, aubergines et piments) en sont dépourvues. . **(Henintsoa ,2011)**

III-1-3 Description

Les feuilles des solanacées, simples ou composées, sont alternes, entières à profondément lobées et sans stipules. Les fleurs hermaphrodites sont dites parfaites (elles contiennent étamines et pistil). Les fleurs sont soit solitaires soit rassemblées en de petites grappes (cymes) qui sont situées généralement à l'angle des divisions de la tige ou directement sur la tige entre les nœuds. L'épiderme est velu ou glanduleux.

Les fleurs des solanacées sont actinomorphes. Les pétales sont soudés (gamopétales) à des hauteurs variables. Lorsque la soudure se situe à la base, cela donne à la fleur la forme d'une étoile. Lorsque les pétales sont entièrement soudés cela forme une fleur longue en trompette comme pour le datura stramoine ou le Brugmansia. D'ailleurs on retrouve souvent le terme "trompette" dans le surnom de nombre de solanacées : "trompette du jugement", "trompette des anges" "trompette de la mort". **(Henintsoa ,2011)**.

III-2 le genre: *Hyoscyamus*

Le genre *Hyoscyamus* comporte une vingtaine d'espèces surtout représentées dans le bassin méditerranéen, l'Afrique du Nord et l'Asie occidentale. Toutes les jusquiames sont toxiques. (Etienne, 2005 et Richard, 1982)

C'est une plante herbacée avec des feuilles très velues, des fleurs au calice velu à cinq lobes, à corolle subrégulière de teinte jaune sale veinée de violet et d'un pourpre noirâtre à la gorge. Le fruit est une pyxide, capsule renflée à la base s'ouvrant au sommet par un couvercle convexe et contenant plusieurs centaines de graines très petites (Etienne, 2005).

III-3 Espèces

A travers le monde il y a presque 11 espèces identifiées du genre *Hyoscyamus* :

Dans notre nous allons étudier les deux premiers espèces.

Hyoscyamus albus L.

Hyoscyamus muticus L.

Hyoscyamus niger L.

Hyoscyamus pisillus L.

Hyoscyamus reticulatus L.

Hyoscyamus major mill L.

Hyoscyamus minormill L.

Hyoscyamus luridussalis L.

Hyoscyamus boveanusdun L.

Hyoscyamus desertorum Asch et Boiss L.

Hyoscyamus aureus L. (Wink, 1998)

III-3-1 *Hyoscyamus albus* L. (La jusquiame blanche)

III-3-1-1 Etymologie

Hyoscyamus (*Hyoscyamus albus* L.) vient du latin "hyoscyamos" ou "hyoscyamum", venant du grec "hyskyamos" (du grec "hys": porc et "kyamos": fève) qui signifie littéralement "fève de porc". L'adjectif "albus" est là pour souligner la couleur blanche.

Nom commun : jusquiame blanche

Noms vernaculaires :

- **Arabe** : الشكران, البنج الأبيض
- **Berber** : طابيلوت, ابليلو, قنقيط, تاسكر
- **En Algérie** : البنج, هبالة, بور نجوف, سيكران
- **En marocain et en egypt** : الشكران, el sikran

- **En anglais :** white Henbane (**Halimi, 2014**)



Photo N° 1: *Hyoscyamus albus* L.(**Visoflora ,2015**)

III -3-1-2 Classification (Position systématique)

La classification botanique des *Hyoscyamus* est donnée dans le :

Règne : Plantae

Phylum : Phanerogammas.

phylum: Angiospermas

Classe: Dicotylédon

Division : Matachlamydeae

Raio : Sympetole

Ordre: Tubiflorae

Famille :Solanaceae

Genre : *Hyoscyamus*

Espèce : *Hyoscyamus albus* (**treas et al ,1978; Dominique , 1872**)

III -3-1-3 Origine et aire de répartition

La jusquiame est originaire du sud de l'Europe et d'Asie occidentale, mais on la rencontre un peu partout en Europe, en Asie tempérée et en Afrique du nord (**Frank , 2015**).

III -3-1-4 Habitat

Elle a la réputation de pousser à des endroits ensoleillés, insolites comme des chemins abandonnés, les ruines, des cimetières, dans les endroits sablonneux. (**Frank ,2015**)

III -3-1-5 Période de floraison

La plante fleurit en printemps« Mars » **et ces fruit** arrivent à maturité au cours de l'automne « septembres » (**Frank, 2015**)

III -3-1-6 Description botanique

La jusquiame est une plante annuelle bisannuelle ou pérenne selon la variété, cette plante fait 20 à 80 cm de haut, velue-visqueuse, à odeur vireuse faible,

Feuilles : molles, Les longues feuilles d'un vert grisâtre toutes même les florales pétiolées, ovales-orbiculaires, en cœur ou un peu en coin à la base, sinuées-dentées à dents triangulaires et profondes, forment une ample rosette.

Fleurs : inférieures pédonculées, les autres subsessiles - calice très velu, le fructifère faiblement nervé-réticulé, à lobes courts, triangulaires-aigus - corolle irrégulière, à limbe oblique d'un jaune pâle non veiné en réseau, à gorge et filets des étamines verdâtres - étamines dépassant un peu la gorge - capsule peu renflée à la base.

Tiges : Une tige dressée porte des fleurs jaunâtres veinées de brun violet, à gorge d'un pourpre noir, qui donnent de curieuses capsules renflées à la base (**Frank, 2015**).

III-3-2 *Hyoscyamus muticus* L. (La jusquiame d'Egypt.)

III-3-2-1 Etymologie

Hyosyamus muticus L.

- **Nom commun :** jusquiame d'Egypt.
- **Noms vernaculaires :**
- **Berber :** falezlez, afalahläh.
- **Arabe:** Sekran, Semm el-far, اسم الفار, Shagarettes-sakraan.
- **Anglais :** Egyptien Henbane. (**A-C.Benchelah et al, 2011**)



Photo N°2 : *Hyoscyamus muticus* L. (AlvarezCrus, N.C.2008)

III -3-2-2 Classification (Position systématique)

Règne : Plantae

Phylum : Phanerogammas.

phylum: Angiospermas

Classe: Dicotylédon

Division : Matachlamydeae

Raio : Sympetole

Ordre: Tubiflorae

Famille : Solanaceae

Genre : *Hyoscyamus*

Espèce : *Hyoscyamus muticus* L. (**Dominique ,1872 et Treas et al.,1978**)

III -3-2-3 Habitat :

Cette plante, *Hyoscyamus muticus* , est présente dans tout le Sahara . La sous-espèce *falezlez* est une endémique saharienne .Dans les bas-fonds argileux et les épandages argilo-sableux, elle forme de véritables colonies comme à tegharghart près de Djanet ou dans la tadrart, à wan- zwaten par exemple (**Benchelah et al, 2011**).

III -3-2-4 Origine et aire de répartition :

C'est une plante originaire de l'Egypte; elle se rencontre également à l'est de Kaboul, dans le Pendjab et dans le Sind (Pakistan-Occidental), répartition Région saharienne tout entière. (**Benchelah et al, 2011**).

III -3-2-5 Période de floraison :

La plante fleurit en printemps« Mars »et ces fruit arrivent à maturité au cours de l'automne « septembre » (**Frank ,2015**).

III-3-2-6 Description botanique

Plante herbacée vivace, elle pousse en touffes imposantes de 40 à 60 cm.

Tige : forte dressées

Feuilles : épaisses quasi sessiles, un peu visqueuses et couvertes de poils très courts.

Forme et dimension des feuilles varient selon leur position le long des tiges.

Fleurs : se présentent en cymes longues et fournies, à corolle blanche et tube d'un beau violet foncé .elle produisent plut tard des capsules.

Hyoscyamus repousse rapidement après chaque pluie, mais la souche plus ou moins ligneuse résiste bien à la sécheresse (**Benchelah et al, 2011**).

III-4 Composition chimique

Ces plantes sont toxiques, contenant divers alcaloïdes tels que l'atropine, l'hyoscyamine et la scopolamine. Elle est cependant moins dangereuse que le datura ou la belladone, qui contiennent les mêmes alcaloïdes mais en plus grandes proportions.

La drogue provient surtout des plantes sauvages d'Egypte, et elle est exportée dans divers pays en vue de l'extraction des alcaloïdes. La drogue d'origine égyptienne se reconnaît aisément à la présence de poils caractéristiques. Elle fournit une plus forte proportion d'alcaloïdes totaux que l'espèce officinale, *H. niger* L . Selon le Codex pharmaceutique britannique (**Anon,1949**), la Jusquiame d'Egypte contient 0,6 à 1 % d'alcaloïdes totaux, dont 90 % d'hyoscyamine. D'après la pharmacopée indienne (**Anon, 1955**), elle doit renfermer au moins 0,5 % d'hyoscyamine. Les effets thérapeutiques et l'action physiologique générale de la Jusquiame sont très semblables à ceux de la Belladone et de la Stramoine, car le principal élément actif de ces trois plantes est l'hyoscyamine (**Dillemann, 1960**).

III-5 Préparation des Hyoscyamus

- L'herbe séchée est fumée ou brûlée comme de l'encens. Elle peut remplacer le houblon dans la fabrication de la bière. On utilise aussi les graines pour l'encens (**V. Bulletin ,2015**).

III-6 Dose

- Aucun seuil n'a vraiment été créé, il ne faut pas prendre cette plante à la légère, chaque personne réagit différent, c'est pour cela qu'une petite dose pourra provoquer un grand effet chez quelqu'un et rien chez un autre (V. Bulletin ,2015).

III-7 Médicaments à base de hyoscyamus

- ABBE CHAUPITRE N° 7 solbuv
- BORIPHARM GRANULES N° 3 granules
- COMPLEXE LEHNING IPECA N° 65 solbuv
- COMPLEXE LEHNING LOBELIA N° 74 solbuv
- COMPLEXE LEHNING OENANTHE CROCATA N° 78 solbuv
- COMPLEXE LEHNING TARENTULA N° 71 solbuv
- COMPLEXE LEHNING ZINCUM CYANIDUM N° 101 solbuv
- DOLIRELAX cp sublingual HOMEogene 46 cp L.72 S buv
- QUIETUDE sirop. (**V. Bulletin ,2015**)

III.8 La phytothérapie de la plante :

L'*Hyoscyamus* est une plante hallucinogène qui a été utilisée de tous temps par les "sorciers", "chamans et "guérisseurs médium". Son usage est particulièrement dangereux car la quantité de feuille à fumer ou à ingérer pour obtenir l'effet hallucinogène est difficile à doser.

A forte dose (ce qui correspond à quelques g de feuille), le délire est furieux avec convulsions puis coma et parfois mort; à faible dose les effets sont juste par sympathicolytiques.

Les hallucinations fantastiques qui débutent 2 à 4 H après l'absorption et durent plusieurs heures sont puissantes, En Afrique orientale l'*Hyoscyamus* a été utilisé comme poison d'épreuve dans des «jugements de dieu", des ordalies. Aux Indes beaucoup de suicides ou d'empoisonnements criminels lui sont dus. **(Bown , 1995 et Chevallier , 1996).**

Mais L'*Hyoscyamus* est aussi une plante médicinale, les formes galéniques dépendent des pays.

En France on trouve la poudre de l'*Hyoscyamus*, la teinture et l'extrait mou de l'*Hyoscyamus*; on trouvait les feuilles d'*Hyoscyamus*. Il entre dans la composition de sirops antitussifs et entrain il y a quelques années dans la composition de cigarettes et de poudre antiasthmatique.

- Atropine : préanesthésie, ophtalmologie, manifestations douloureuses et spasmodiques du tube digestif et de l'appareil urinaire.
- Scopolamine : préanesthésie et troubles parkinsoniens, mal des transports (avec le risque de rétention urinaire en cas de troubles prostatiques).
- Diurétique, hypnotique, narcotique, sédative, Plus anecdotique, on utilise encore sous les tropiques la feuille d'*Hyoscyamus* séchée en fumigation pour calmer la crise d'asthme et la feuille verte légèrement chauffée en cataplasme sur les articulations douloureuses. **(Bown, 1995 et Chevallier ,1996).**

Chapitre III:

Métabolites

secondaires des

plantes médicinales

II-1 Le Métabolisme secondaire

Les métabolites secondaires sont un groupe de molécules qui interviennent dans l'adaptation de la plante à son environnement ainsi que la régulation des symbioses et d'autres interactions plantes-animaux, la défense contre les prédateurs et les pathogènes, comme agents allélopathiques ou pour attirer les agents chargés de la pollinisation ou de la dissémination des fruits (**Judd et al ; 2002**).

En général, les termes, métabolites secondaires, xénobiotiques, facteurs antinutritionnels, sont utilisés pour déterminer ce groupe, il existe plus de 200.000 composés connus qui ont des effets antinutritionnels et toxiques chez les mammifères. Comme ces composés ont des effets toxiques, leur incorporation dans l'alimentation humaine peut être utile pour la prévention contre plusieurs maladies (cancer, maladies circulatoires, les infections viral...), car la différence entre toxicité et effet bénéfique est généralement soit dose ou structure- dépendant (**Makkar, Siddhuraju et Beckkr, 2007**).

On peut classer les métabolites secondaires en plusieurs grands groupes : parmi ceux-ci, les composés phénoliques, les terpènes et stéroïdes et les composés azotés dont les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine. Quelques exemples représentatifs sont présentés ci-après, grâce à une revue des ouvrages de Bruneton (1993), Tyler *et al.* (1981) et Guignard (1996).

II-2 Les types des métabolites secondaires

II-2-1 Métabolites secondaires hydrophiliques

Se trouvent dans la vacuole (beaucoup alcaloïdes NPAAS, saponines, glycosides, flavonoïdes

Anthocyanines, tannis, cyanogènes, glucosinolates, amines) les laticifères (quelques alcaloïdes (lobilia, papaver, chelidonium), cyanogènes, NPAAS, cardiaque glycosides (Nerium), apoplaste et paroi cellulaire (tannins) (**wink.2010**).

II-2-2 Métabolites secondaires lyophyliques

On les trouve dans la cuticule (cires, flavonoïdes, lipophile, terpénoïdes) le trichome (monoterpènes, sesquiterpènes, quinones) les laticifères (polyterpènes, diterpènes (phorbol esters), les huiles des cellules (anthraquinones et naphthodianthrones (hypericin), (terpénoïdes) et la membrane des plastide (ubiquinone tetraterpènes (**wink.2010**).

II-3 Rôle biologique des métabolites secondaires

1. Défense contre les virus.
2. Défense contre les herbivores (insectes, vertèbres...)
3. Défense contre les moisissures et les bactéries.
4. Défense contre autre plantes qui rivalisent pour lumière, eau et éléments nutritifs (Allelopatie).
5. Composés du signal attirer pollinisateur et les animaux disperser les graine (disseminateur).
6. Signaux pour communication entre plantes et micro-organismes symbiotique (rhizobium fixe Nou moisissures du mycorhize).
7. La protection contre les UV ou autre stress physique. (**wink.2010**)

II-4 Classification des métabolites secondaires

II-4-1 Les composés phénoliques

Les composés phénoliques sont une vaste classe de substances organiques cycliques très variées, d'origine secondaire qui dérivent du phénol C_6H_5OH qui est un monohydroxybenzène. Les composés phénoliques sont fort répandus dans le règne végétal; on les rencontre dans les racines, les feuilles, les fruits et l'écorce. La couleur et l'arôme, ou l'astringence des plantes dépendent de la concentration et des transformations des phénols. Ces composés représentent 2 à 3% de la matière organique des plantes et dans certains cas jusqu'à 10% et même d'avantage. Dans la nature, ces composés sont généralement dans un état lié sous forme d'esters ou plus généralement d'hétérosides. Ils existent également sous forme de polymères naturels (tanins).

Le groupe le plus vaste et plus répandu des phénols est celui des flavonoïdes (**Walton et Brown, 1999**).

II-4-1 La biosynthèse des composés phénoliques

II-4-1-1-1 La voie de shikimate

C'est souvent la voie de biosynthèse des composés aromatiques, elle joue un rôle critique pour contrôler le métabolisme de la voie dephénylpropanoïde (**Kening et al, 1995**)

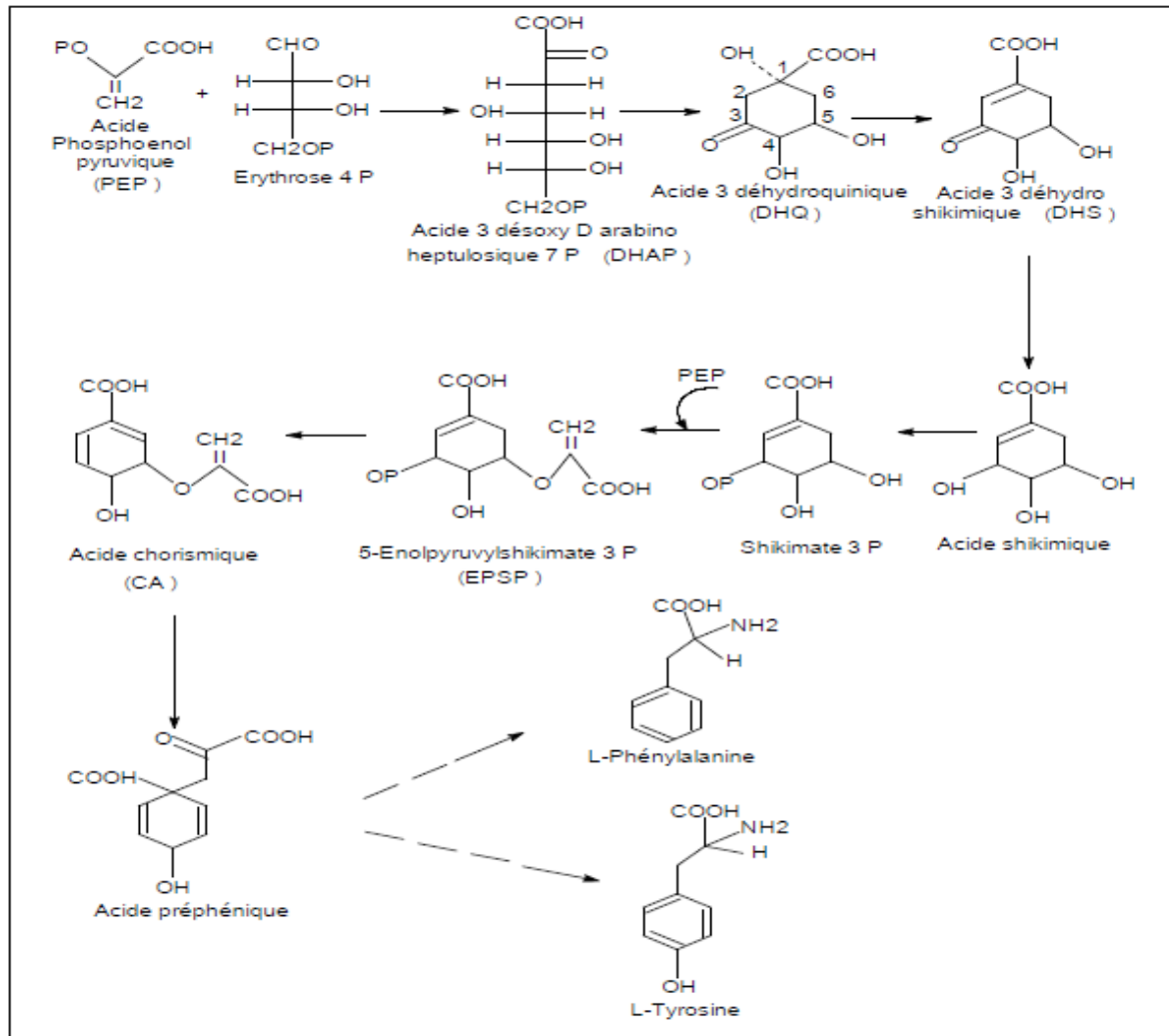


Figure N°1 : La voie de shikimate (Floss, 1997)

II-4-1-1-2 La voie de phénylpropanoïde

La voie de phénylpropanoïde commence par la phénylalanine (Phe) qui fournit en plus des principaux acides phénoliques simples, coumarines, iso flavonoïdes, flavonoïdes, acide salicylique, des précurseurs de lignine, qui est quantitativement le second bio polymère le plus important après la cellulose (Hoffmann et al,2004)

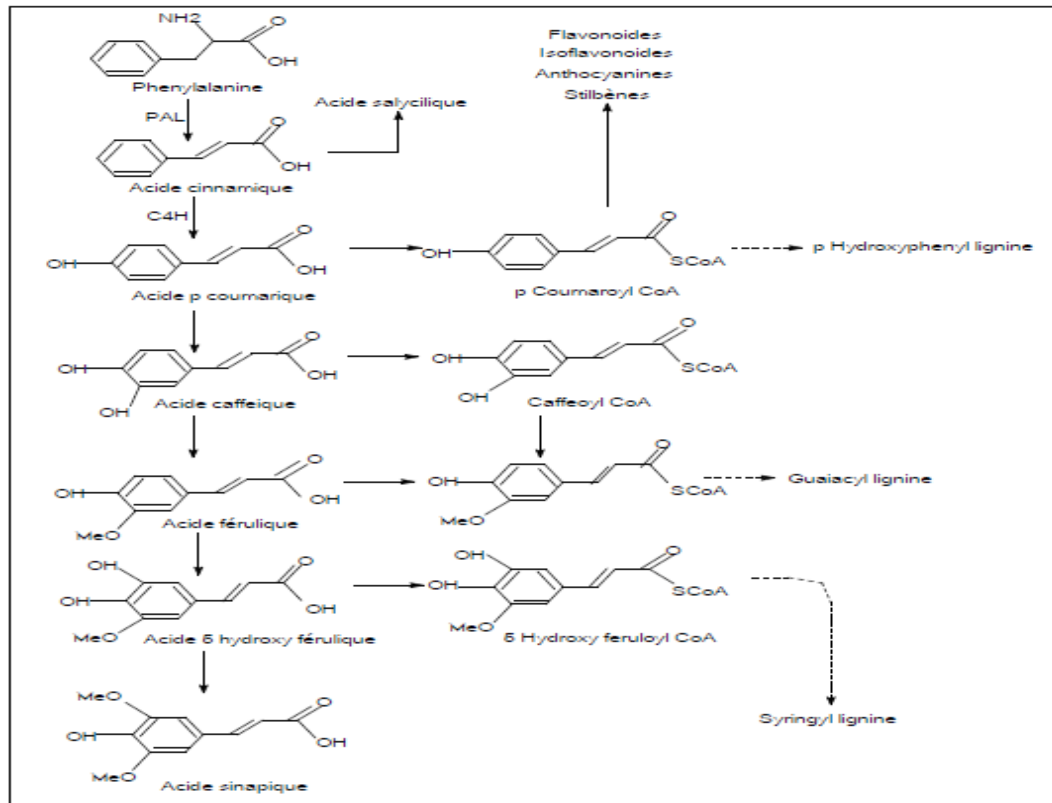


Figure N°2: La voie de phénylpropanoïde (Hoffmann *et al.*, 2004)

II-4-1-2 Propriétés biologiques des composés phénoliques

Les poly phénols ont une multitude d'activités biologiques dépendant de leur structure chimique.

Ils constituent une importante famille d'antioxydants dans les plantes, les fruits et les légumes puisqu'elles comprennent plus de 6000 molécules. Contrairement aux antioxydants synthétiques comme le butylhydroxyanisole (BHA) et le butylhydroxytoluène (BHT).

Les poly phénols n'ont aucun effet nuisible sur la santé humaine (Bounatirou *et al.*, 2007 in Bougandoura, 2010).

Les polyphénols ont également un rôle dans le contrôle de la croissance et le développement des plantes en interagissant avec les diverses hormones végétales de croissance.

Ils permettent aux végétaux de se défendre contre les rayons ultraviolets. Certains d'entre eux jouent le rôle de phytoalexines comme les isoflavonols permettant de lutter contre les infections causées par les champignons, ou par les bactéries (Makoi et Ndakidemi, 2007 in Bougandoura, 2010).

Les pigments non azotés sont impliqués dans le processus de pollinisation : ils attirent l'attention des insectes pollinisateurs, ou servent au contraire à dissuader les formes pour

Chapitre II Métabolites secondaires des plantes médicinales

éloigner les prédateurs. D'autre sont des inhibiteurs d'enzymes et interviennent dans la protection de l'homme vis-à-vis de certaines maladies (Bruneton, 1999).

Les polyphénols sont également utilisés dans l'industrie agro-alimentaire comme additif, colorant, arôme ou agent de conservation (Bruneton, 1999).

II-4-1-3 Principales classes des composés phénoliques

Une classification de ces substances a été proposée par Herborne(1980). On peut distinguer les différentes classes des poly phénols en se basent d'une part, sur le nombre d'atome constitutifs et d'autre part, sur la structure de squelette de base,deux principal classe sont largement répandues:

II-4-1-3-1 Les acides phénoliques simples

A / Acides hydroxybenzoïques

1. Sont des dérivés de l'acide benzoïque
2. Ont une structure générale de base de type (C6-C1)
3. Existents souvent sous forme d'esters ou de glycosides
4. Les acides hydroxybenzoïques les plus abondants sont répertoriés dans le tableau 01

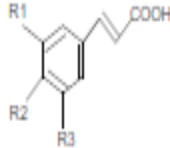
Tableau N°01: Principaux acides hydroxybenzoïques (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006)

Structure	R1	R2	R3	R4	Acides phénoliques
	H	H	H	H	Acide benzoïque
	H	H	OH	H	Acide p hydroxy benzoïque
	H	OH	OH	H	Acide protocatechique
	H	OCH3	OH	H	Acide vanillique
	H	OH	OH	OH	Acide gallique
	H	OCH3	OH	OCH3	Acide syringique
	OH	H	H	H	Acide salicylique
	H	H	H	OH	Acide gentisique

B / Acides hydroxycinnamiques

1. Dérivent de l'acide cinnamique
2. Ont une structure générale de base de type (C6-C3)
3. Existent souvent sous forme combinée avec des molécules organiques
4. Les degrés d'hydroxylation et de méthylation du cycle benzénique, conduisent à une réactivité chimique importante de ces molécules, le tableau 4 représente les principaux acides hydroxycinnamiques

Tableau N°2: Principaux acides hydroxycinnamiques (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006)

Structure	R1	R2	R3	Acides phénoliques
	H	H	H	Acide cinnamique
	H	OH	H	Acide p coumarique
	OH	OH	H	Acide caféique
	OCH3	OH	H	Acide férulique
	OCH3	OH	OCH3	Acide férulique

Plus rares, les coumarines et les stilbènes.

C / Coumarines :

1. Les coumarines dérivent des acides hydroxycinnamiques par cyclisation interne de la chaîne latérale
2. Les coumarines ont fréquemment un rôle écologique ou biologique

Tableau N°3 : Principaux types de coumarines (Macheix *et al*, 2005)

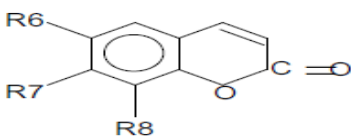
Structure	R6	R7	R8	Acides phénoliques
	H	OH	H	Umbelliférol
	OH	OH	H	Aescultol
	OCH3	OH	H	Scopoléto
	OCH3	OH	OH	Fraxétol
	H	OH	OH	Daphnéto

Tableau N°4:principales classe des composés phénolique(Merghem.2009)

Nombre de C	classe	Exemples/origine
C6	Phénols simples	Hydroquinone, catécol
C6-C 1	Acide Phénols	Acide salicylique, acide p(h) benzoïque
C6-C 3	Acide cinnamique coumarines phénylpropènes	Acide caféique, férulique ,(café, pomme) Esculetine ,scopolétine(citron) Eugénol (giroflie)
(C6-C 3)2	lignane	Pinorésinol(pin)
(C6-C 3)n	lignines	Bois, noyau des fruits
C6- C 3- C6	flavonoïdes isoflavonoïdes anthocyanes	Apigénine, lutéoline, quercétine(fruit) Génistéine(soja, pois) Pélagonidine, cyanidine et delphinidine(fleurs, fruits rouges)
(C6- C 3- C6)2	bi flavonoïdes	amentoflavone
(C6- C 3- C6)n	Proanthocyanes(nnins)	Procyanidines, prodelphinidines(raisin rouge)

II -4-1-4-2 Les flavonoïdes

II -4-1-4-2-1 Définition

Le nom flavonoïde proviendrait du terme flavedo, désignant la couche externe des écorces d'orange (Piquemal, 2008), cependant d'autres auteurs supposaient que le terme flavonoïde a été plutôt prêté du flavus ; (flavus=jaune) (**Karaali et al, 2004 ; Malešev et Kuntić, 2007**).

Ce sont des pigments permettant la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Quand ils ne sont pas directement visibles, ils contribuent à la coloration par leur rôle de co-pigments.

les flavonoïdes ont tous la même structure chimique de base, ils possèdent un squelette carboné de quinze atomes de carbones constitué de deux cycles aromatiques (A) et (B) qui

Chapitre II Métabolites secondaires des plantes médicinales

sont reliés entre eux par une chaîne en C3 en formant ainsi l'hétérocycle (C) (W- Erdman *et al*, 2007).

Généralement, la structure des flavonoïdes est représentée selon le système C6-C3-C6 (Emerenciano *et al*, 2007) en formant une structure de type diphényle propane dont des groupements hydroxyles, oxygènes, méthyles, ou des sucres peuvent être attachés sur les noyaux de cette molécule (Narayana, 2001; Malešev et Kuntić, 2007)

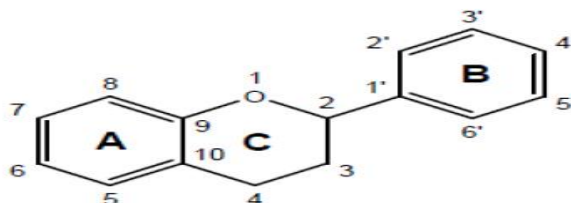


Figure N°3: Structure de base de flavonoïde. (Moufouk,2008)

II -4-1-4-1-2 classifications :

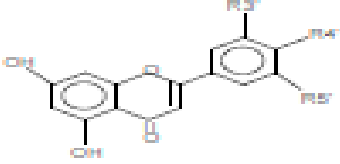
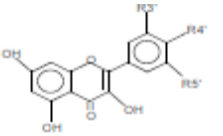
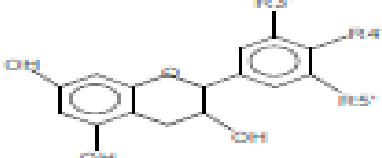
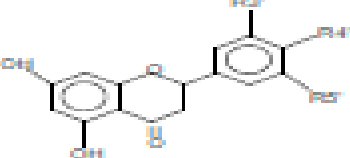
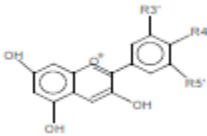
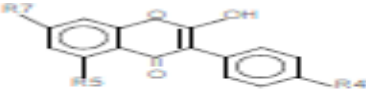
Structuralement, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules (Harbone, 1988) dont les plus importantes sont : les flavones, les flavonols, les flavanones, les isoflavones et les anthocyanidines.).

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)

Chapitre II Métabolites secondaires des plantes médicinales

Tableau N°5: Principales classes des flavonoïdes (Narayana *et al*, 2001; W-Erdman *et al*, 2007)

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

II -4-1-4-2-3 Propriétés des flavonoïdes

Connus pour leurs multiples rôles, les composés phénoliques ont attirés l'attention d'un grand nombre de chercheurs de différentes disciplines (biologistes, chimistes, pharmaciens et médecins) ces deux dernières décennies.

Des travaux ont montré que les flavonoïdes sont associés à de nombreux processus physiologiques tels que la croissance cellulaire, la dormance des bourgeons, la floraison, etc... (Nitsch, C. 1961), Un certain type de ces substances est responsable de la coloration des fleurs et des fruits (**Markakis, P. 1982**), d'autres dont l'absorption en UV est importante protègent la plante vis-à-vis des rayons UV-B de la lumière solaire (**Harborne, J.B., and Williams, C.A. 2000**).

D'autres études ont montré que les flavonoïdes interviennent dans la défense des plantes comme agents protecteurs contre les invasions microbiennes (**Cowan, N. M., 1999**), certaines études ont étendu cet effet à une activité antifongique (**Gafner, 1996**). Par ailleurs, beaucoup d'iso flavonoïdes sont considérés comme des phytoalexines, connues pour leur réponse à l'attaque microbienne (**Dixon, R.A. 2004**)

II-4-1-4-3 les tanins

II-4-1-4-3-1 Définition :

Les tanins sont des substances polyphénoliques de structure variée, de saveur astringente ayant en commun la propriété de tanner la peau, cette aptitude est liée à leur propriété de se combiner aux protéines. Leur poids moléculaire est compris entre 500 et 3000 Da (**Paris et Hurabielle., 1981**).

II-4-1-4-3-2 Classification :

On distingue habituellement chez les végétaux supérieurs, deux groupes de tanins différents par leur structure aussi bien que par leur origine biogénétique: Les tanins hydrolysables et les tanins condensés (**Bruneton, 1999**).

a-Tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables sont des polyesters de glucides et d'acides phénols, ils sont facilement scindés par les enzymes de tannases en oses et en acide phénol, selon la nature de celui-ci on distingue: les tanins galliques, et les tanins ellagiques (**Paris et Hurabielle., 1981**).

a-1-Tanins galliques (Gallo tanins)

Ils donnent par l'hydrolyse des oses et de l'acide gallique.

a-2- Tanins ellagiques (Ellagitanins)

Ils sont scindés par les enzymes en oses et en acide ellagique (**Paris et Hurabielle., 1981**).

b-Tanins condensés

Les tanins condensés sont des polymères flavanolique constitués d'unités flavan-3-ols, le plus

Souvent épicatechine et catéchine (**Khanbabaea et Ree., 2001**). Les tanins condensés sont des molécules hydrolysables, leur structure voisine de celle des flavonoïdes est caractérisée par l'absence de sucre (**Paris et Hurabielle., 1981**).

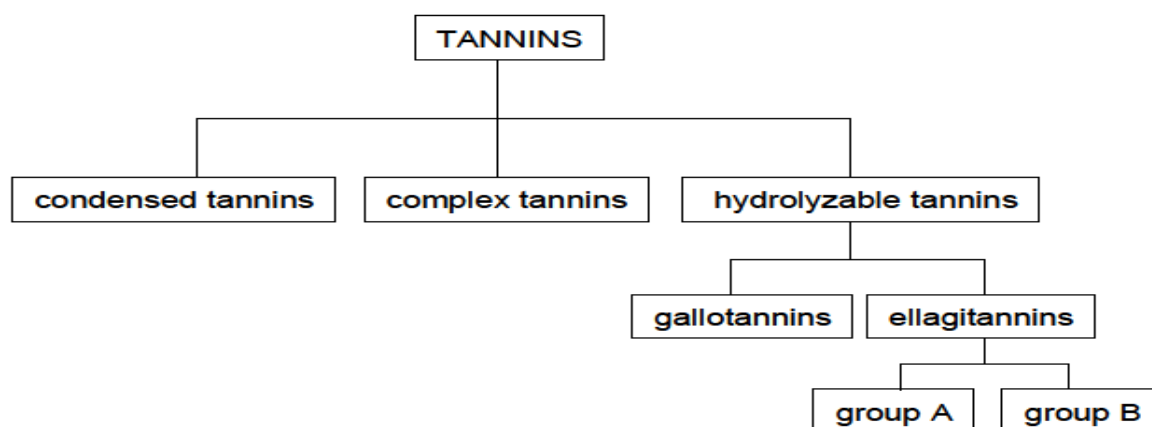


Figure N° 4 : Classification des tanins (Wilfred et Ralph., 2006).

II-4-1-4-4 Utilisation des tanins

a)- En pharmacie

Grâce à leurs astringente les tanins sont utilisés comme antidiarrhéiques, vasoconstricteurs et hémostatiques, mais surtout comme protecteurs veineux dans le traitement des varices et hémorroïdes (**Paris et Hurabielle., 1981**).

b)- Dans l'industrie

Ils sont largement employés dans l'industrie du cuir surtout dans celle des vernis et peintures (**Paris et Hurabielle., 1981**).

II -4-2 Les composées terpénoïdes

Terpénoïdes ou isoprénoïdes constituent de substances naturelles extrêmement abondante. Plus large famille de métabolisme secondaire, en nombre et en diversité, plus 22000 composés ont été répertoriés (**connoly et Hill, 1992**)

II -4-2-1 Définition :

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.

Chapitre II Métabolites secondaires des plantes médicinales

Selon le nombre d'entités isoprène qui sont incorporées dans leurs structures, les terpènes sont subdivisés en : monoterpènes (C₁₀H₁₆), sesquiterpènes (C₁₅H₂₄), diterpènes (C₂₀H₃₂), triterpènes (C₃₀H₄₈), tetraterpènes (C₄₀H₆₄) et polyterpènes (C₅H₈)_n (Belguidoum, 2011)

II -4-2 les composés azotés (Les alcaloïdes)

II -4-2-1 Historique des alcaloïdes

Le terme d'alcaloïde a été introduit par W. Meisner au début du 19^{ème} siècle pour désigner des substances naturelles réagissant comme des bases, ce terme est dérivé de l'arabe alkaly qui signifie la soude et de grec eidos qui signifie l'aspect (Bruneton., 1999).

Les alcaloïdes représentent un groupe de métabolites secondaires très diversifiés retrouvés chez les organismes vivants, ils ont un large rang de types structuraux, de voies de biosynthèse et d'activités pharmacologiques.

En 1803, DEROSNE a isolé le premier alcaloïde semi-pur du latex sec de l'opium (*Papaver somniferum*), une drogue utilisée depuis des siècles pour des propriétés analgésiques et narcotiques.

En 1805, SERTÜRNER a caractérisé cet alcaloïde et la nommée morphine, et puis, entre 1817 et 1820 plusieurs alcaloïdes comme la strychnine, brucine, et quinine ont été isolés sous forme cristalline au laboratoire de PELLETIER et CAVENTOU en France (WALTON et BROWN, 1999).

II -4-2-2 Définition :

Les alcaloïdes sont des substances organiques le plus souvent d'origine végétale, azotées, basiques et douées à faible dose de propriétés physiologiques marquées (ZenketJuenger., 2007).

Ils portent tous la terminaison « ine » (Paris et Hurabielle., 1981). A l'état normal, ils sont généralement salifiés par les acides organiques (tartrates, malates...) ou combinés à des tanins (Guignard *et al.*, 1985).

On peut définir de manière simple (un alcaloïde est une substance organique azotée (appartenant au vivant) d'origine, à caractère alcalin et présentant une structure complexe) (Bruneton.j.2009). Leur atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique; les alcaloïdes possèdent une activité pharmacologique significative (Roerts.1998), plusieurs auteurs pensaient que ces alcaloïdes avaient pour origine le seul règne végétal. Mais, au fil du temps un certain nombre d'alcaloïdes a été isolé chez certains animaux (Hesse.M.2002)

On les classe sous trois groupes:

Les alcaloïdes vrais: l'azote inclus dans un hétérocycle, ce groupe représente la majorité des alcaloïdes. (Guignard., 2000).

Les proto-alcaloïdes: ils ne possèdent pas un azote intra-cyclique, ils ont une structure proche des amines (Guignard., 2000).

Les pseudo-alcaloïdes: ils présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivés des acides aminés (Bruneton., 1999).

Les alcaloïdes se rencontrent surtout chez les angiospermes; mais les monocotylédones, à l'exception des liliacées, sont pauvres en alcaloïdes et ils sont très répandus chez les dicotylédones (Guignard *et al.*, 1985). Ils sont exceptionnels chez les bactéries et assez rares chez les champignons et il existe des structures alcaloïdiques chez les animaux (Bruneton, 1999).

La répartition des alcaloïdes dans les plantes, ce fait différemment suivant les espèces; par exemple: racine (Ipéca), feuille (Coca), fruit (Pavot), écorce (Quinquinas), graine (Colchique) ...etc. (Paris et Hurabielle., 1981).

II -4-2-3 Classification des alcaloïdes selon la structure chimique :

On divise les alcaloïdes selon la structure chimique en deux grands types:

- Les alcaloïdes hétérocycliques: ils peuvent être monocyclique ou polycyclique, ce sont les plus nombreux.
- les alcaloïdes aliphatiques: pouvant avoir un atome d'azote exocyclique (hétérocyclique)

Les alcaloïdes dérivent de différentes molécules par exemple :

- Les alcaloïdes ce dérivent de la pyridine
- Les alcaloïdes ce dérivent de la pyrodine
- Les alcaloïdes ce dérivent de la quinoléine
- Les alcaloïdes ce dérivent de l'indole (noyau benzopyrrole)
- Les alcaloïdes ce dérivent de la quinolizidine (Conde *et al* 2007)

II -4-2-4 La Biosynthèse des alcaloïdes :

Comme pour beaucoup de produits naturels, les édifices moléculaires des alcaloïdes sont assez complexes (strychnine, aconitine, ergotamine, etc.) et leur reconstitution représente pour les chimistes organiciens un défi qu'ils n'ont pas manqué de relever. À l'origine, il s'agissait surtout de vérifier des structures établies non sans mal et parfois contestables : le premier exemple est celui de la coniine (de la ciguë) obtenu par A. Ladenburg en 1886. C'est

Chapitre II Métabolites secondaires des plantes médicinales

à partir de 1945, avec les résultats spectaculaires de R. B. Woodward – prix Nobel en 1965 – synthétisant la quinine, la strychnine et la réserpine, respectivement en 1945, 1954 et 1956, que débute réellement l'ère des synthèses totales des substances naturelles et des alcaloïdes en particulier. Elles sont très souvent l'œuvre d'équipes concurrentes exploitant des voies différentes. Certaines sont transposables industriellement et permettent de s'affranchir des aléas de l'extraction liés aux plantes d'origine (papavérine, vincamine).

Dans un autre ordre d'idées, des hémisynthèses permettent d'obtenir divers alcaloïdes à partir de molécules naturelles plus accessibles, comme la thébaïne de l'opium, utilisée pour préparer la codéine. (Poisson, 2013).

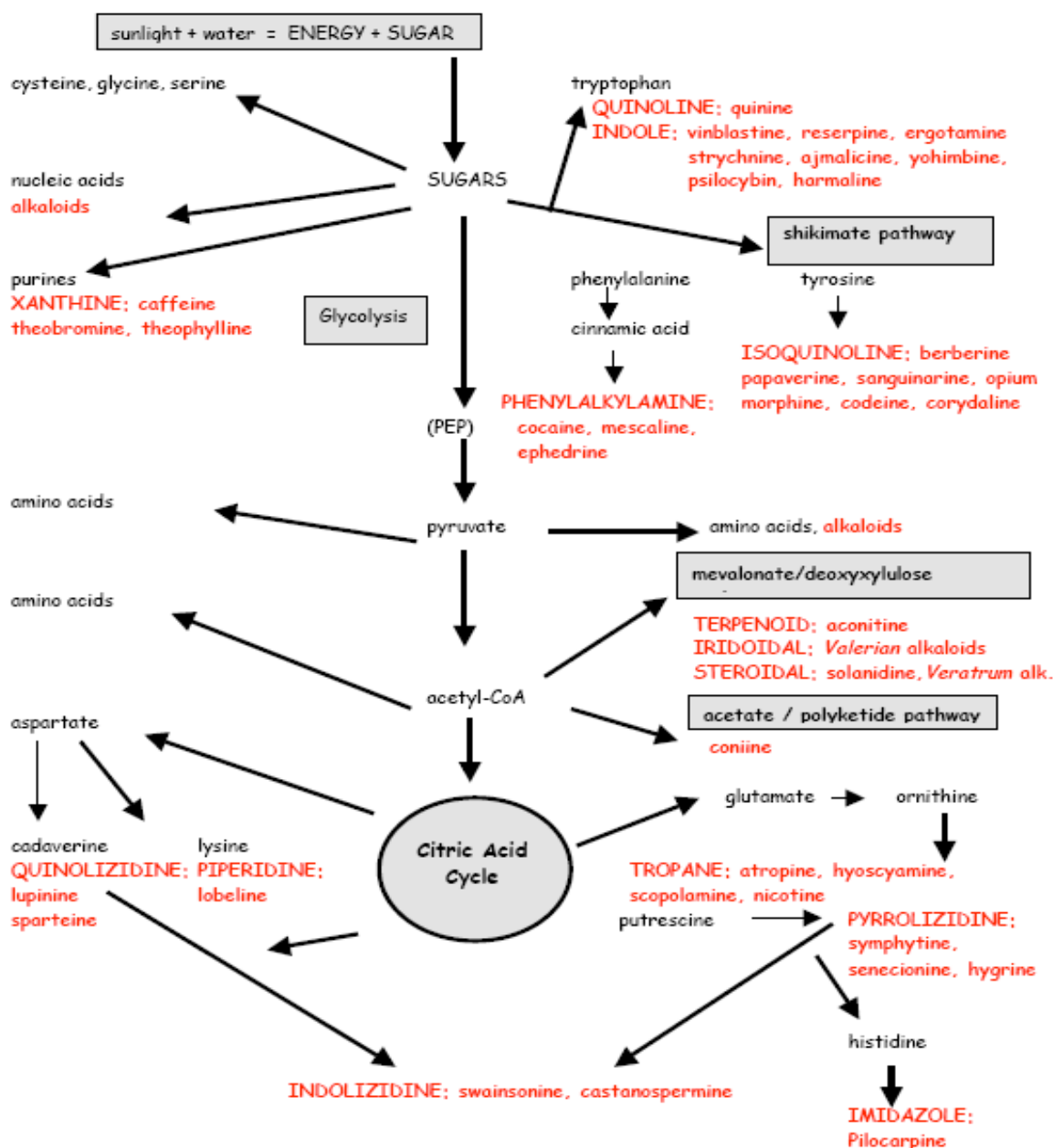


Figure N°5: La biosynthèse des alcaloïdes selon (Klein, 2006).

II -4-2 -5 Propriétés physico-chimiques

□ Les alcaloïdes sont des corps de masses moléculaires faibles et de fonction basique (**Facchini et Pierre., 2005**). Cette dernière 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 et à l'oxygène (**Bruneton., 1999**).

□ Les alcaloïdes non oxygénés (nicotine), sont des liquides huileux volatils, fréquemment odorants, par contre les alcaloïdes oxygénés sont en général solides, cristallisés, inodores et de saveur amère.

□ Ils peuvent être fixés sur certains agents adsorbants tels que les charbons actifs ou les argiles du type bentonite (**Fabre et Truhaut., 1961**).

□ Ils se combinent avec les acides et forment des sels, généralement solubles dans l'eau (**Badiaga., 2012**).

□ La solubilité des alcaloïdes dans les solvants organiques tels que: l'alcool, l'éther, le benzène et le chloroforme est en général élevée par rapport à la solubilité dans l'eau, puisque la plupart de ces substances sont insolubles ou peu solubles dans l'eau (**Merghem., 2009**).

□ Les procédés d'extraction des alcaloïdes sont basés sur la solubilité différentielle dans divers solvants (**Awa., 2003**).

□ Les alcaloïdes précipitent avec certains réactifs spécifiques appelés « réactifs des alcaloïdes ». Les plus importants sont les réactifs iodés tels que:

1. Solution neutre de mercuriiodure de potassium ou réactif de Mayer (précipité blanc jaunâtre).
2. Solution acide d'iodobismuthite de potassium ou réactif de Dragendorff (précipité rouge orangé).
3. Solution d'iodure de potassium iodé ou réactif de Bouchardat (précipité brun) (**Paris et Hurabielle., 1981**).

□ La majorité des alcaloïdes sont dérivés à partir des acides aminés (**Ford et al., 1996**) tels que: ornithine, lysine, phénylalanine, tyrosine et tryptophane (**Guignard et al., 1985; Luca et Pierre., 2000**).

II -4-2-6 Les alcaloïdes tropaniques :

Les alcaloïdes tropaniques ont en commun un élément structural bi cyclique azoté, l'azabicyclo [3, 2, 1] octane (**Hosseini et al., 2011**). Ce sont des esters d'alcools tropaniques et d'acides de structure variable, aliphatiques ou aromatiques (**Bruneton, 1999**).

On connaît environ 200 alcaloïdes dans ce groupe, répartis dans quelques familles ex: Solanaceae, Erythroxylaceae, Convolvulaceae, Proteaceae, Rhizophoraceae, Brassicaceae et Euphorbiaceae (**Drager., 2002**).

On les rencontre dans toutes les parties des plantes qui les renferment avec une concentration élevée dans les racines et les graines. Ils sont lipophiles et peuvent traverser la barrière hémato-encéphalique (**Sheaet al., 2012**).

Les alcaloïdes tropaniques naturels les plus importants sont la (-) -hyoscyamine et la (-) -scopolamine (également appelée hyoscine). De fortes concentrations de ces alcaloïdes ont été trouvées en particulier dans le et le, ainsi que dans le (**Alexander et al., 2008**).

II -4-2-6 Les alcaloïdes tropaniques :

Les alcaloïdes tropaniques ont en commun un élément structural bi cyclique azoté, l'azabicyclo [3, 2, 1] octane (**Hosseini et al., 2011**). Ce sont des esters d'alcools tropaniques et d'acides de structure variable, aliphatiques ou aromatiques (**Bruneton, 1999**).

On connaît environ 200 alcaloïdes dans ce groupe, répartis dans quelques familles ex: Solanaceae, Erythroxylaceae, Convolvulaceae, Proteaceae, Rhizophoraceae, Brassicaceae et Euphorbiaceae (**Drager., 2002**).

On les rencontre dans toutes les parties des plantes qui les renferment avec une concentration élevée dans les racines et les graines. Ils sont lipophiles et peuvent traverser la barrière hémato-encéphalique (**Sheaet al., 2012**).

Les alcaloïdes tropaniques naturels les plus importants sont la (-) -hyoscyamine et la (-) -scopolamine (également appelée hyoscine). De fortes concentrations de ces alcaloïdes ont été trouvées en particulier dans le et le, ainsi que dans le (**Alexander et al., 2008**).

II 4-2-6-1 Origine biosynthétique

La biosynthèse des alcaloïdes tropaniques est désormais l'une des mieux connue parmi celles des métabolites secondaires. Les principales voies de biosynthèse de l'hyoscyamine et de la scopolamine sont bien connues (**Vu Thi, 2008 ; Robin et al., 1991**).

Le noyau tropane bicyclique est formé à partir de l'ornithine / arginine via le tropanone, tandis que le groupement acide tropanique est synthétisé à partir de la phénylalanine (**Alexander et al., 2008**).

L'hyoscyamine et la scopolamine sont issues du cycle des polyamines (arginine, ornithine, méthionine, phénylalanine), le processus de synthèse de l'hyoscyamine se fait essentiellement dans les racines par l'estérification du tropanol et de l'acide tropanique, l'acide

tropique est dérivé de la phénylalanine et le tropanol est issue du tropinone et de l'hygrine, une partie ensuite transporté vers les paries aériennes et l'autre transformée en scopolamine au cour de la translocation sous l'action de l'enzyme hyosciamine-6 β -hydroxylase (Alexander *et al.*, 2008)

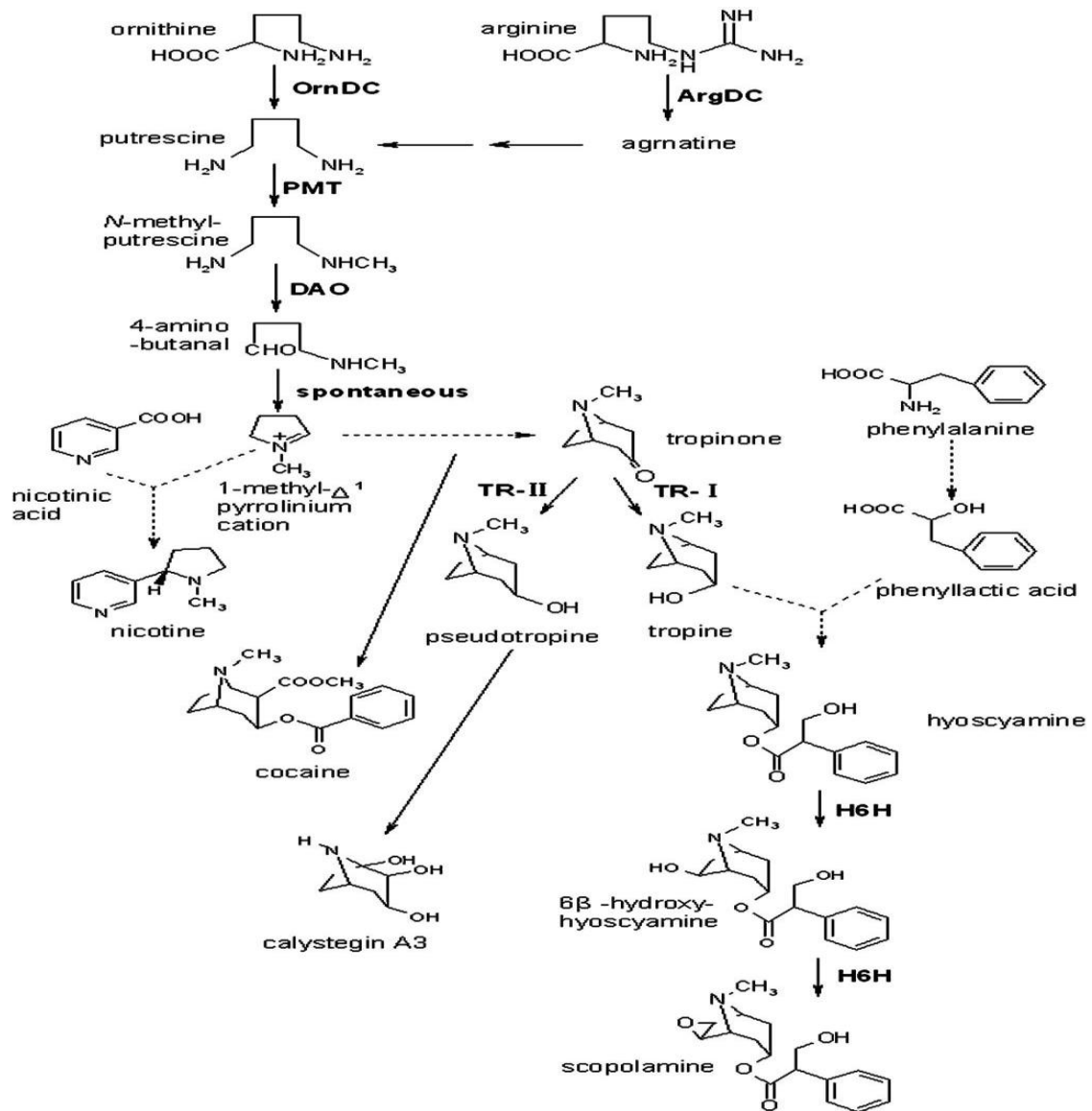


Figure N°6: la biosynthèse des alcaloïdes tropaniques (Lei et al ;2007)

II -4-2-1-1 Atropine:

Propriétés physico-chimique

- Formule : C₁₇ H₂₃NO₃
- Poids moléculaire: 287.37daltons
- Etat physiologique: sous forme poudre blanche
- Point de fusion: 114-118°C (Allain ,1999)

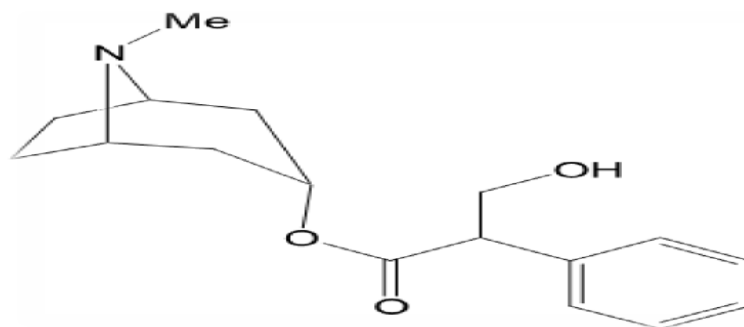


Figure N°7: La structure de molécule d'Atropine (Arroo et al,2007)

II -4-2-1-2 Scopolamine

Propriétés physico-chimiques

- Formule : C₁₇H₂₁NO₄
- Poids moléculaire : 303.356 Daltons.
- Point de fusion : 112°C.
- Etat physiologique : se présente sous forme poudre blanche, basique dont les sels sont hydrosolubles, sa saveur est amer et désagréable (Allain, 1999)

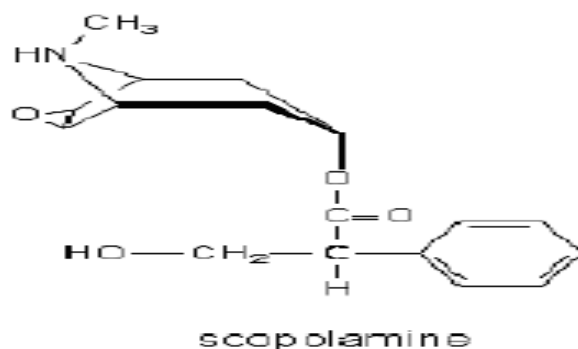


Figure N°8:La structure de Scopolamine (Alexander et al. 2008).

II -4-2-1-3L'hyoscyamine

L'hyoscyamine est l'ester de l'acide tropique gauche et du tropanol. C'est l'isomère lévogyre de l'atropine.

L'atropine résulte de racémisation de (-) hyoscyamine au cours de l'extraction (Djilani et Legseir, 2004 ; Bhushan *et al.*, 2001).

L'hyoscyamine est très facilement racémisé : un simple reflux dans le chloroforme suffit à la transformer en atropine (Bruneton, 1999).

La hyoscyamine et l'atropine ont la même formule chimique et la même activité pharmacologique, mais la première est plus active que la deuxième, et c'est cette dernière qui

est utilisée en médecine, car elle est stable et moins sensible aux enzymes hydrolytiques (Grzegorz *et al.*, 2008).

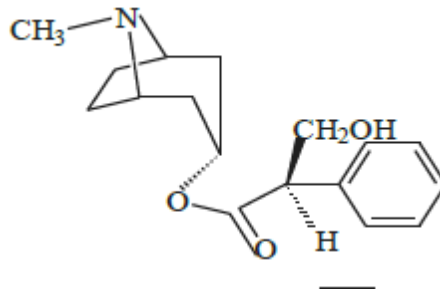


Figure N°9:La structure de hyoscyamine (Grzegorz *et al.*, 2008).

II -4-3 Extraction et le dosage des alcaloïdes :

II -4-3-1Extraction

Les alcaloïdes se trouvent généralement dans les plantes sous forme de sels solubles dans l'eau et dans l'alcool dilué et susceptibles par conséquent d'être extraits par lixiviation aqueuse ou alcoolique. Lorsqu'ils sont à l'état de bases, il suffit de traiter la plante par l'eau acidulée pour les transformer en sels solubles justiciables du même traitement (Javillier *et al.*, 1959).

Donc l'extraction des alcaloïdes est basée sur la différence de solubilité en milieu acide et alcalin. Ils sont ainsi séparés des autres constituants du végétal qui possèdent les même solubilités quel que soit le pH (Charpentier *et al.*, 1998, 2004).

Le matériel végétal renferme souvent des quantités appréciables de graisses, mais aussi de cires, de terpènes, de pigments et autres substances lipophiles qui peuvent perturber le processus extractif, notamment en induisant la formation d'émulsions. On évitera plus ou moins totalement ces problèmes technologiques en procédant à une dilapidation préalable de la drogue broyée, en utilisant l'éther de pétrole et l'hexane. (Bruneton, 1999). Après avoir pulvérisé la drogue, elle est mise en contact avec des liquides d'extraction (Bruneton, 1999).

Ces derniers entraînent sélectivement les constituants à obtenir. On utilise l'eau, l'alcool à différents titres, l'éther et le vin de liqueur et on aboutit à diverses préparations extractives (Aiache *et al.*, 1989, 2001).

Ils existent deux types généraux d'extraction : extraction par un solvant dans un milieu alcalin et extraction en milieu acide.

➤ Extraction par un solvant en milieu alcalin. (Bruneton, 1999)

1^{ère} étape

La drogue pulvérisée et délipidée est mélangée à une solution aqueuse alcaline qui

Chapitre II Métabolites secondaires des plantes médicinales

déplace les alcaloïdes de leurs combinaisons salines ; les bases ainsi libérées sont ensuite dans un solvant organique. L'agent d'alcalinisation est très souvent l'ammoniaque.

Si la structure des alcaloïdes à extraire comporte un élément fragile, par exemple une fonction ester, l'ammoniaque sera remplacée par un carbonate alcalin. Dans certains cas particuliers, on aura recours à un mélange d'hydroxyde de calcium et d'hydroxyde de sodium.

Le solvant organique peut être un solvant chloré (dichlorométhane, chloroforme), le benzène ou le dioxyde d'éthyle.

L'extraction peut se faire par simple contact ou, et c'est de loin préférable, par contacts multiples dans des installations fonctionnant sur le principe de l'appareil de Soxhlet.

Industriellement, on utilise ce type d'appareil ou, plus efficacement encore, des extracteurs solide-liquide fonctionnant sur le principe du contre-courant.

2^{ème} étape

Le solvant organique contenant les alcaloïdes bases est séparé du marc et si nécessaire, concentré partiellement par distillation sous pression réduite. Le solvant est alors agité avec une solution aqueuse acide : les alcaloïdes se solubilisent dans la phase aqueuse sous forme de sels tandis que les impuretés neutres restent dans la phase organique. L'opération est répétée autant de fois qu'il est nécessaire jusqu'à ce que la phase organique ne contienne plus d'alcaloïdes. Les acides utilisés sont très variables (chlorhydrique, sulfurique, sulfamique, tartrique,...etc) mais sont toujours employés en solutions diluées (1 à 5%).

3^{ème} étape

Les solutions aqueuses de sels d'alcaloïdes, réunies et le cas échéant « lavées » par un solvant apolaire (hexane, oxyde de diéthyle), sont alcalinisées par une base en présence d'un solvant organique non miscible à l'eau. Les alcaloïdes bases précipitent et se dissolvent dans la phase organique. L'épuisement de la phase aqueuse est poursuivi jusqu'à ce que tous les alcaloïdes soient repassés en phase organique. Cette étape de purification peut se faire, comme la précédente et selon les quantités mises en jeu, dans une ampoule à décantation ou dans des appareils plus ou moins complexes : perforateurs, extracteurs centrifuges.

En dernier lieu, le solvant organique contenant les alcaloïdes bases est décanté, débarrassé des traces d'eau qu'il peut renfermer par déshydratation sur un sel anhydre (par exemple le sulfate de sodium) et évaporé sous pression réduite. Il reste alors un résidu sec:

Les alcaloïdes totaux (. **(Bruneton, 1999)**).

II -4-3-2 Dosage

Le dosage des alcaloïdes commence par leur extraction à l'aide d'une méthode générale (**Bruneton, 1999**). De nombreuses méthodes ont été proposées pour le dosage des alcaloïdes dont les principales sont : les méthodes pondérales, ou l'on précipite l'alcaloïde sous forme de sel (silicotungstate), des méthodes volumétriques (soit alcalimétriques soit en utilisant la précipitation des alcaloïdes par le réactif de Valser-Mayer des méthodes colorimétriques basées sur une réaction colorée spécifique de l'alcaloïde, des méthodes physiologiques...etc (**Javillier et al, 1959**).

Il faut distinguer le dosage des alcaloïdes totaux et celui d'un alcaloïde particulier dans une drogue donnée volumétrique. Les méthodes gravimétriques sont facilement mises en œuvre, mais la simple pesée du résidu d'AT manque de précision : l'erreur par excès n'est pas négligeable et la méthode est avantageusement remplacée par d'autres procédés. Dans le cas des méthodes volumétriques on opère soit par acidimétrie directe, soit, le plus souvent, par acidimétrie en retour: dissolution du résidu dans un excès d'acide titré et dosage en retour de l'excès de l'acide par une base de titre connu en présence d'un indicateur coloré. Le cas échéant, on peut recourir à la protométrie en milieu non aqueux (bases faibles).

Pour le dosage d'un constituant ou d'un groupe de constituants dans une drogue déterminée, on aura recours à des techniques spectrophotométriques, colorimétriques, fluorimétriques, densitométriques. Les méthodes spectrophotométriques sont très sensibles et assez fréquemment préconisées : dosage des alcaloïdes de type quinine et de type cinchonine par mesure de l'absorbance à deux longueurs d'onde dans les écorces de quinquina, dosage de la caféine dans la feuille de thé,...etc. Si le dosage ne peut être effectué directement, il est possible de séparer le composé à doser par CCM et de procéder à la mesure de l'absorbance après élution des taches.

Les méthodes colorimétriques peuvent également être appliquées au dosage d'un alcaloïde (ou d'un groupe) (**Bruneton, 1999**).

II -4-3-3 Séparation des alcaloïdes :

Quelle que soit la méthode choisie pour extraire les alcaloïdes, l'extrait obtenu ne présente pas des produits purs mais des alcaloïdes totaux, mélanges complexes de bases qu'il est nécessaire de séparer (**Bruneton, 1999**). La méthode classique utilisée pour la séparation et la purification des alcaloïdes est la chromatographie sur colonne, déjà appliquée à la séparation des alcaloïdes de l'opium par Stolman et Stewart, et des alcaloïdes des Solanacées par Evans et Partridge (**Javillier et al, 1959**).

Aujourd'hui, les techniques les plus utilisées sont l'MPLC, c'est une technique classique d'extraction des alcaloïdes) et la chromatographie sur couche mince figure 07, photo 08) préparative CCM (**Bruneton, 1999**).

II -4-3-9 Les effet des alcaloides

Elle sont très variées. Ces substances agissent sur le SNC (système nerveux central) comme excitants ou dépresseurs (caféine, morphine); sur le SNA (système nerveux autonome).Les alcaloïdes sont actifs à faible dose, mais il peuvent posséder une forte toxicité à très faible dose .D'autre alcaloïdes comme l'atropine, présente dans la belladone (*atropa belladonna*), ont une action direct sur le corps: activité sédatrice, effets sur les troubles nerveux (maladie de parkinson) (**Anton et Lobstein, 2005**)

II-4-3-10 Activités pharmacologiques :

Les alcaloïdes exercent généralement leurs activités pharmacologiques sur les mammifères comme homme. Jusqu'à aujourd'hui, plusieurs médicaments utilisés sont des alcaloïdes naturels, ils affectent chez l'être humain le système nerveux, particulièrement les transmetteurs chimiques tels l'acetylcholine, epinephrine, norepinephrine, acide γ -aminobutyrique (GABA), dopamine et la serotonine.

Les alcaloïdes jouent plusieurs activités pharmacologiques :

Analgésique (cocaine), anti-cholinergique (atropine, scopolamine, galanthamine), anti-malaria (quinine), anti-hypertensive (reserpine), antitussive (codeine), dépressant cardiaque, stimulant centrale (caféine), diurétique, anesthésiant local (cocaine), narcotique (morphine), anti-tumeur, sympathomimétique (ephedrine), ect... (**Bhat, NAGASAMPAGI et Sivakumar, 2005**). Plusieurs alcaloïdes servent de model pour la synthèse d'analogues avec des propriétés meilleur.

Chapitre IV:

L'activité

antibactérienne

IV -1-L'activité antibactérienne

IV -1-1 Rappel sur les bactéries

Une bactérie est un microbe formé d'une seule cellule, visible au microscope, appartenant à une zone de transition entre le règne animal et le règne végétal. Comme toute cellule, les bactéries sont constituées d'un noyau, isolé ou diffus, un protoplasme contenant des granulations et des vacuoles, une paroi parfois d'une capsule. Certaines bactéries sont mobiles grâce à des cils vibratiles. Selon leur mode de nutrition et leur comportement vis-à-vis de l'oxygène, les bactéries sont classées en aérobies et en anaérobies.

Les bactéries se reproduisent selon deux modes :

La division simple ou scissiparité la sporulation, la spore représentant la forme de résistance et de dissémination du germe. Pour croître, les bactéries doivent trouver dans le milieu extérieur des conditions physico- chimiques favorables qui leur sont nécessaires et les aliments couvrant leurs besoins énergétiques élémentaires et spécifiques. Sur le plan pratique, ces besoins sont satisfaits dans des milieux élaborés par l'homme en vue d'étudier les bactéries et sont appelés de ce fait, milieux de culture (**Mogode D, 2005**).

IV -1-2 La structure bactérienne

Une bactérie est composée d'un noyau, contenant dans un seul chromosome, le patrimoine génétique de la cellule, d'un cytoplasme, contenant des ribosomes, siège des protéiques et éventuellement des plasmides d'une paroi, ou membrane, lui donnant sa forme, sa rigidité et ses antigènes, le constituant essentiel d'une paroi bactérienne est mucopeptid (**Rozier, J Bolnot, V .Carlier, 1985**).

IV -2-Classification des bactéries d'intérêt médical

IV -2-1 Bactéries en forme de sphère : les cocci

IV -2-1-1 Cocci Gram positif

Nous avons les genres Staphylococcus, Streptococcus, Microcoques, Pneumocoques, Enterococcus.

IV -2-1-2 Cocci Gram négatif

Nous avons le genre Neisseria.

IV -2-2 Bactéries en forme de bâtonnet : les bacilles

IV -2-2-1 Bacilles Gram positif

Nous avons les genres Listeria, Erysipelothria, Bacillus, Cynetobacter, Actynomyces.

IV -2-2-2 Bacilles Gram négatif

Nous avons les genres Enterobacter, Pasteurella, Haemophilus, Bordetella, Brucella, Francisella, Pseudomonas, Acinetobacter.

IV-2-2-3 Bacilles acido-alcoolo résistants (Baar)

Ici, nous retrouvons le bacille de la tuberculose et celui de la lèpre.

IV -2-3 Bactéries en forme de spirale : les spirochètes

Nous avons les genres Treponema, Leptospira, Borrella, Spirillum.

IV -2-4 Flore bactérienne anaérobie

IV-2-4-1 Gram positif

Nous avons les genres Clostridium, Peptococcus Peptostreptococcus, Propionobacterium.

IV-3-4-2 Gram négatif

Nous avons les genres Veillonella, Fusobacterium, Bacteroides (**Mogode D, 2005**).

IV-3- Les infections bactériennes

Une infection bactérienne est un ensemble de troubles qui résultent de la pénétration d'une bactérie pathogène dans un organisme Elle peut être, locale, lorsqu'elle se manifeste uniquement au niveau où les germes ont pénétré.

générale, lorsqu'un germe franchit les barrières opposées par l'organisme à son entrée (Peau, muqueuses) ou au niveau des ganglions, il pénètre dans le sang et se dissémine par celui-ci dans tout l'organisme. focale : c'est l'infection en foyer dans les tissus ou organes où les germes sont apportés par la circulation sanguine (**Mogode D, 2005**).

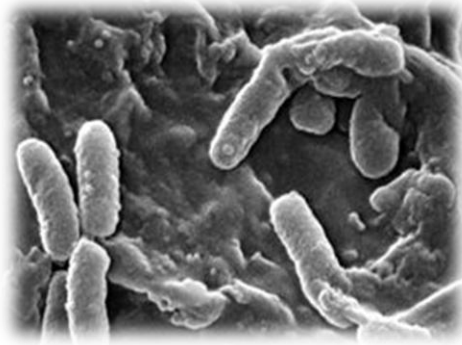
IV-4-Les caractéristiques des souches microbiennes utilisées

Les caractéristiques de souches utilisées sont représentées dans le tableau suivant :

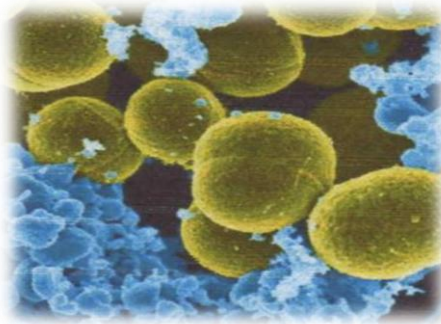
Chapitre IV l'activité antibactérienne

Tableau N° : Les caractéristiques des souches utilisées et les principales maladies qu'ils peuvent causer chez l'homme.

Espèce microbienne	Code	Caractéristiques	Maladies provoquées	Auteurs	Provenance
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	S1	Bacille aérobie, gram négatif, très mobile	d'infections nosocomiales (germe ubiquitaire)	(Becker,K,et al ,2004)et (Murry,P,Ret al,2003)	Laboratoire de Microbiologie à l'hôpital de la wilaya de O.E.B. d'aira AIN BEIDA
<i>Staphylococcus Aureus</i>	S2	Cocci, immobile, gram positif, disposés en amas ou en grappe de raisin.	Infections cutanées suppurées (furuncles, abcès à localisation variées...), toxi-infection alimentaire.	(Avril ,J,L,199) et (Donnenberg, M,2002)	
Staphylococcus subsp.aureus	S3	<i>anaérobies</i> , Ce sont des coques à Gram positif, immobiles, non sporulés, non sporulés, d'un diamètre de 0,8 à 1 µm	pathogène pour les ovins et les caprins mais ni pour la souris ni pour le cobaye ni pour le lapin. responsables de la "maladie des abcès" chez les petits ruminants maladie de Morel	(NCBI BioProject: bp,2007)	
<i>Escherichia Coli</i>	S4	Bacille, mobile, gram négatif, pathogène.	Diarrhées, infection urinaire, méningite, septicémies	(Avril ,J,L,19 92) et (Donnenberg, M,2002)	



PhotoN°3 : pseudomonas aeruginosa au microscope électronique
(Schroeter, 1872)



PhotoN°4 : Staphylococcus aureus au microscope électronique (G,R,D,J,Wise,2004)



PhotoN°5: Escherichia coli au microscope électronique (Anonyme,2008)



PhotoN°6: Staphylococcus subsp.aureus au microscope électronique (NCBI BioProject:
bp,2007)

IV-5- l'antibiotique :

On appelle « Antibiotique » toute substance naturelle d'origine biologique élaborée par un organisme vivant, substance chimique produite par synthèse ou substance semi synthétique obtenue par modification chimique d'une molécule de base naturelle ayant les propriétés suivantes :

- *Activité antibactérienne
- *Activité en milieu organique
- *Une bonne absorption et bonne diffusion dans l'organisme

Les antibiotiques ont la propriété d'interférer directement avec la prolifération des microorganismes à des concentrations tolérantes par l'hôte. (**Boissier et al ,1993 ;Acar,1998; Derety, 1999**).

IV-6-Antibiogramme

Un **antibiogramme** est une technique de laboratoire visant à tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques supposés ou connus.

Le principe consiste à placer la culture de bactéries en présence du ou des antibiotiques et à observer les conséquences sur le développement et la survie de celle-ci. On peut par exemple placer plusieurs pastilles imbibées d'antibiotiques sur une souche bactérienne déposée dans une boîte de Petri. Il existe trois types d'interprétation selon le diamètre du cercle qui entoure le disque d'antibiotique : souche ou bactérie sensible, intermédiaire ou résistante.(**Moulin1990et Melton, 2001**) .

Partie

expérimentale

Chapitre I :

Matériel et

méthodes

I-1 Situation géographique de la zone de récolte (la commune d'Arris wilaya de Batna)

La Wilaya de Batna est localisée dans la partie orientale de l'Algérie entre les " 4° et 7° " de longitude Est et les " 35° et 36° " de latitude Nord. d'une Superficie de 12.038,76 km².

Le territoire de la Wilaya de Batna s'inscrit presque entièrement dans un ensemble physique constitué par la jonction des Atlas Tellien au Nord et Saharien au Sud, et c'est ce qui fait la particularité physique principale de la Wilaya, et détermine de ce fait les caractères du climat, et les conditions de vie humaine. (ONS ,2008)

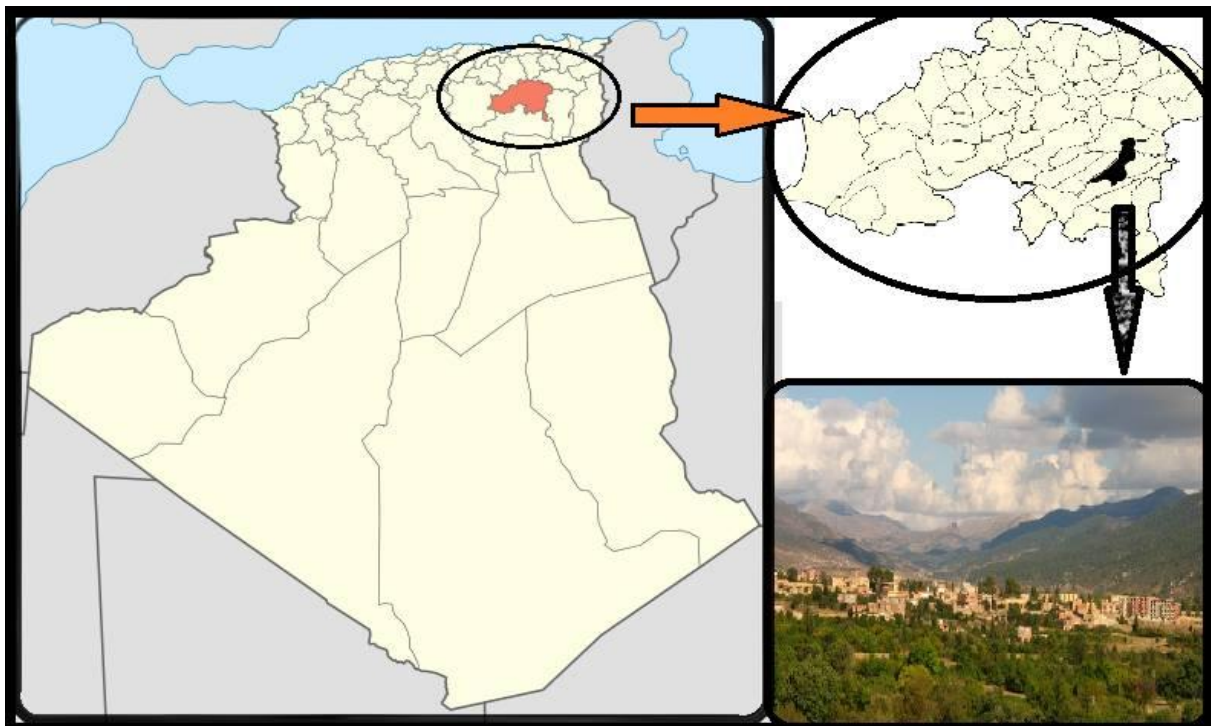
Elle est limitée :

- Au Nord: par les Wilayas d'Oum El Bouaghi, Mila et de Sétif.
- À l'Est: par la Wilaya de Khenchela.
- Au Sud: par la Wilaya de Biskra
- Et à l'Ouest: par la Wilaya de M'sila.

La commune d'Arris est située à une 65Km de la wilaya de Batna (Est d'Algérie).

Elle est limitée par :

- Commune de Oued Taga au Nord.
- Commune d'Ichemoul à l'Est.
- Commune de Thniet El Abed à l'Ouest.
- Commune de Foug Toub au Nord Est.(ONS ,2008) (carte1).



Carte 1 : Situation géographique de la commune d'Arris

I-2 Situation géographique de la zone de récolte (la commune Tassili wilaya d'illizi)

La wilaya d'illizi (Le mot Illizi en Tifinah signifie adolescent.) est située dans l'extrême sud-est du pays de l'Algérie.

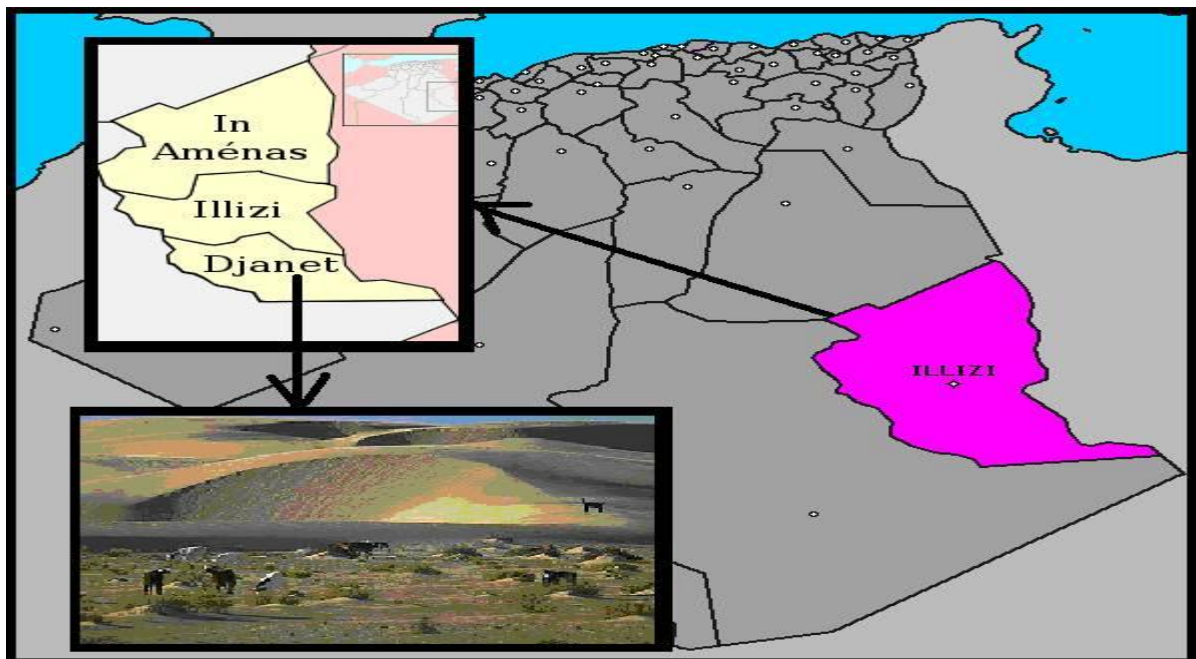
Elle est limitée :

- Au Nord par la wilaya d'Ouargla
- Au nord-est par la Tunisie
- À l'Est par la Libye
- À l'Ouest par la wilaya de Tamanrasset
- Au Sud par Niger.

Elle est située à l'extrême sud-est du pays et elle est limitrophe avec la Tunisie, la Libye et le Niger sur 1 233 km de frontière.

Le Chef lieu de la wilaya est située à 1 877 km au Sud est de la capitale, Alger. Ouargla est le chef-lieu de wilaya le plus proche de la ville d'illizi ; elle est située à plus de 1 050 km.

Djanet : est une commune de la wilaya d'illizi en Algérie. C'est une oasis et elle est la principale ville du sud-est du Sahara algérien, située à 2 300 km d'Alger non loin de la frontière avec la Libye et à proximité de l'oasis libyenne de Ghat. La commune est peuplée essentiellement de Touaregsajjers (ou azjar). Djanet est la capitale du Tassili avec une population d'environ 10 000 habitants. Elle était connue sous le nom de **Fort Charlet** du temps de l'Algérie Localisation de la commune dans la wilaya de d'illizi (ABID ,2014).



Carte2 : Situation géographique de la commune d'illizi

II-3 Les données climatiques

Les données météorologiques de 11 ans (2004 - 2014) des villes de Batna et Djanet sont résumées dans le tableau 02.

II-3-1 Etude climatique de la Zone de Batna

Tableau 01 : Données climatiques de la wilaya de Batna (2004 - 2014).

Bilan 11 ans	Température Max (°C)	Température min (°C)	Température moy (°C)	Précipitation (mm)
Janvier	19.3	-2.4	6.5	22.9
Février	20.5	-3.2	7	24.2
Mars	25.8	-3.3	10.2	31.4
Avril	29.2	-0.4	13.6	38
Mai	33.3	3.1	17.6	46
Juin	39.03	6.6	22.9	20.8
juillet	41.4	11.6	26.9	5
Aout	40.9	12.3	26.4	18.6
Septembre	36.5	8.09	21.8	30.8
Octobre	29.4	2.7	17.5	15.2
Novembre	25.5	-1.4	11.1	28.7
décembre	20.5	-3.1	7.1	29.1

II-3-1-1 Température :

La température est un facteur climatique très important qui réagit directement, en interaction avec les autres facteurs météorologiques (précipitation, humidité, etc.), le développement de la végétation et le phénomène de l'évapotranspiration. **(Belabed, 2010)**. L'évolution et le changement permanent de la température atmosphérique au cours des saisons de l'année agissent directement sur la température de l'eau superficielle et donc sur sa qualité et ses habitats. Le paramètre température est en fonction de l'altitude, de la distance de la mer, et de la position topographique. **(Toubal Boumaza, 1986)**

En se basant sur les données du tableau ci-dessus. Nous constatons que la saison chaude est bien marquée. La température maximale est enregistrée durant le mois de juillet où elle atteint 41.4°C et que février est le mois le plus froid avec une température minimale de - 3.2°C.

II-3-1-2 Précipitations :

Le terme de précipitation désigne tout type d'eau qui tombe du ciel, sous forme liquide ou solide. Cela inclut la pluie, la neige, la grêle. **(Dajoz, 2000)**. Djebaili (1978) définit la pluviosité comme étant le facteur primordial qui permet de déterminer le type de climat.

D'après les données climatiques, la précipitation annuelle est de 290.7mm où mai est le mois le plus pluvieux avec 46 mm ; et le mois de Juillet est le mois le plus sec avec une précipitation moyenne de 4 mm.

- **Diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gausсен :**

Le diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gausсен est une méthode graphique qui permet de définir les périodes sèche et humide de l'année, où sont portés en abscisses les mois, et en ordonnées les précipitations moyennes (P) exprimées en millimètres et les températures (T) en degrés Celsius, avec $P = 2T$. Une période peut être considérée sèche si $P < 2T$, c'est-à-dire si le total des précipitations est inférieur ou égal au double de la température moyenne. Quand la courbe ombrique (de ombros = pluie) passe sous la courbe thermique on est précisément dans cette situation où $P < 2T$. (**Bagnouls et Gausсен, 1957**)

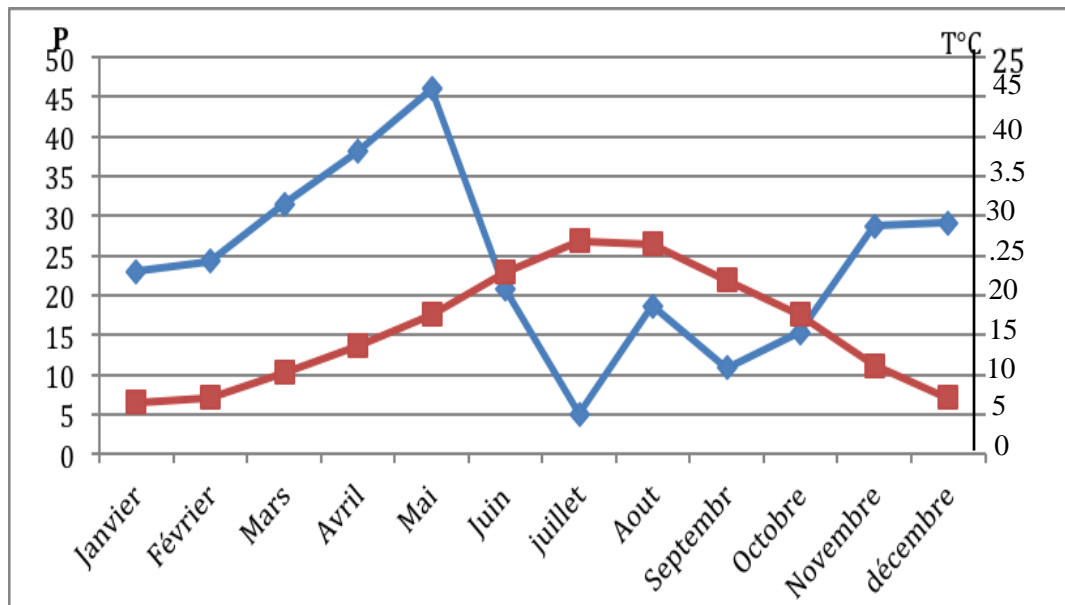


Figure N° 1 : Diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gausсен de la région de Batna (2004 - 2014).

L'analyse du diagramme (**Fig.1**) montre que la période sèche est d'environ 05 mois. Elle s'étend du mois de Juin jusqu'au mois d'Octobre, tandis que la période humide est d'environ 7 mois, s'étend du mois de Novembre jusqu'au mois de Mai

- **Quotient pluviométrique d'Emberger :**

L'indice pluviométrique d'Emberger nous aide à définir les cinq étages de climat méditerranéen du plus aride jusqu'à celui de haut montage. (**Emberger, 1955**)

Son principe se base sur le régime des précipitations et des températures qui s'exprime selon la formule suivante:

$Q_2 =$ Quotient pluviométrique d'Emberger.

$P =$ Précipitation annuelle moyenne (mm).

$$Q_2 = \frac{1000 \cdot P}{\left[\frac{M + m}{2} \right] (M - m)}$$

M = Température des maxima du mois le plus chaud ($^{\circ}K$).

m = Température des minima du mois le plus froid ($^{\circ}K$).

Pour déterminer l'étage bioclimatique de la région d'étude, il faut procéder au calcul du quotient pluviométrique d'Emberger (Q_2).

Le calcul du Q_2 quotient pluviométrique d'Emberger donne la valeur 21.69 indique que la région de Batna appartient à l'étage bioclimatique de végétation semi-aride avec hiver très froid

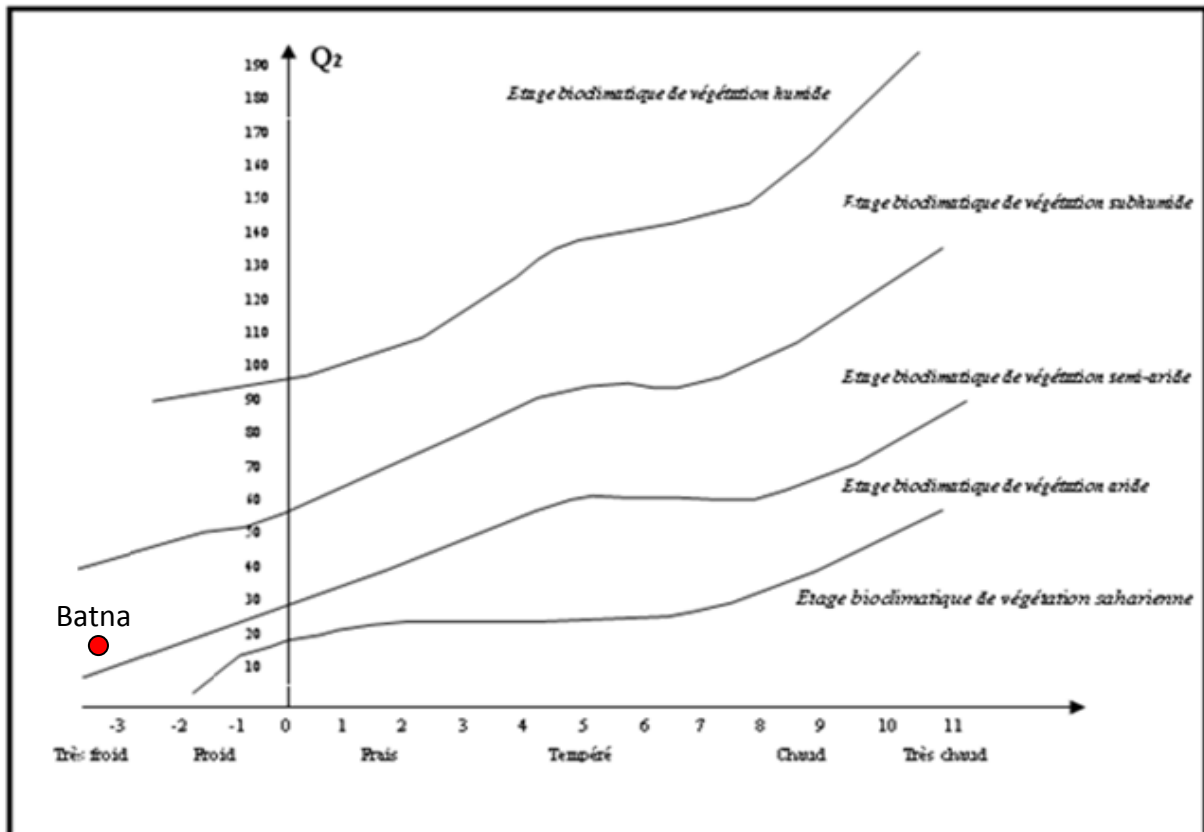


Figure N°2: Situation de la wilaya de Batna dans le climagramme d'Emberger. (2004 - 2014)

II-3-2 Etude climatique de la Zone de Djanet**Tableau 02 : Données climatiques de la Zone de Djanet (2004 - 2014).**

Bilan 11 ans	Température Max (°C)	Température min (°C)	Température moy (°C)	Précipitation (mm)
Janvier	26.5	-1.3	12.04	0.5
Février	29.7	-1.3	15.5	50
Mars	34.6	0.2	20.1	1.5
Avril	35.4	10.9	25.4	-
Mai	40.5	15.5	29.2	0.5
Juin	42.3	18.2	31.6	3.3
juillet	41.6	20.6	31.2	1.09
Aout	41.6	20.1	31.01	0.2
Septembre	39.5	16.5	27.1	0.4
Octobre	36.03	11.6	24.8	1.09
Novembre	31.2	7.5	18.7	-
décembre	27.5	-0.4	13.7	0.3

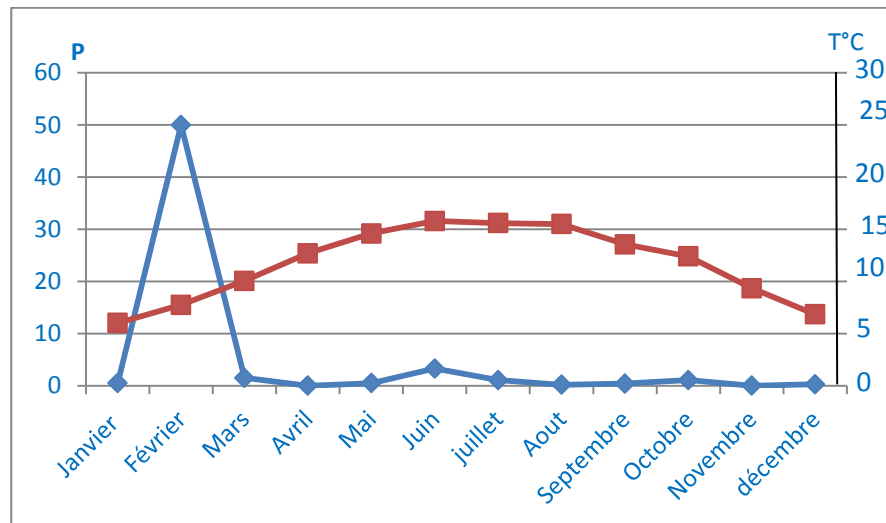
II-3-2-1 Température :

En se basant sur les données du tableau ci-dessus. Nous constatons que la saison chaude est bien marquée. La température maximale est enregistrée durant le mois de juin où elle atteint 42.3°C et que les mois de janvier et février sont les mois les plus froids avec une température minimale de -1.3°C.

II-3-2 -2 Les Précipitations :

D'après les données climatiques, la précipitation annuelle est de 58.88 mm où Février est le mois le plus pluvieux avec 50 mm.

- Diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gausсен :

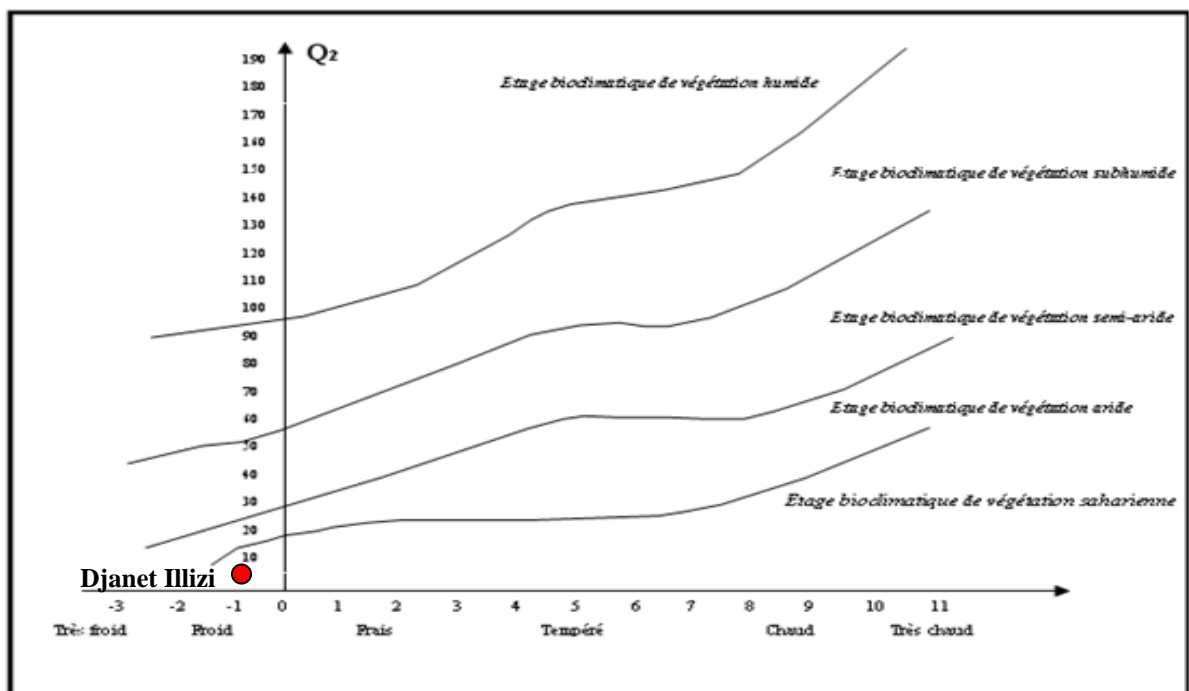


FigureN°3: Diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gausсен de la région de Djanet (2004 - 2014).

Le diagramme (Fig.3) montre que la période sèche est d'environ 11 mois. Elle s'étend sur toute l'année. (l'exception di moi de Février)

- Quotient pluviométrique d'Emberger :

Le calcul du Q_2 quotient pluviométrique d'Emberger donne la valeur 4.59 indique que la région de Djanet appartient à l'étage bioclimatique de végétation saharienne avec hiver très froid



FigureN°4 : Situation de la Commune de Djanet (Illizi) dans le climagramme d'Emberger.(2004 - 2014)

II-4 Etude phytochimique

L'étude phytochimique (présentée dans la figure N° :5)des deux espèces *Hyoscyamus albus* L. ,*Hyoscyamus muticus* L.

passé impérativement par ces étapes :

Récolte de la plante.

Conservation.

Broyage.

Extraction.

Séparation et identification structurale des produits isolés.

Ce travail a été effectué au cours de l'année 2015 au le laboratoire -1- de biologie et physiologie végétale, département de biologie végétale et écologie, faculté des sciences de la nature et de la vie, Université de Constantine 1.

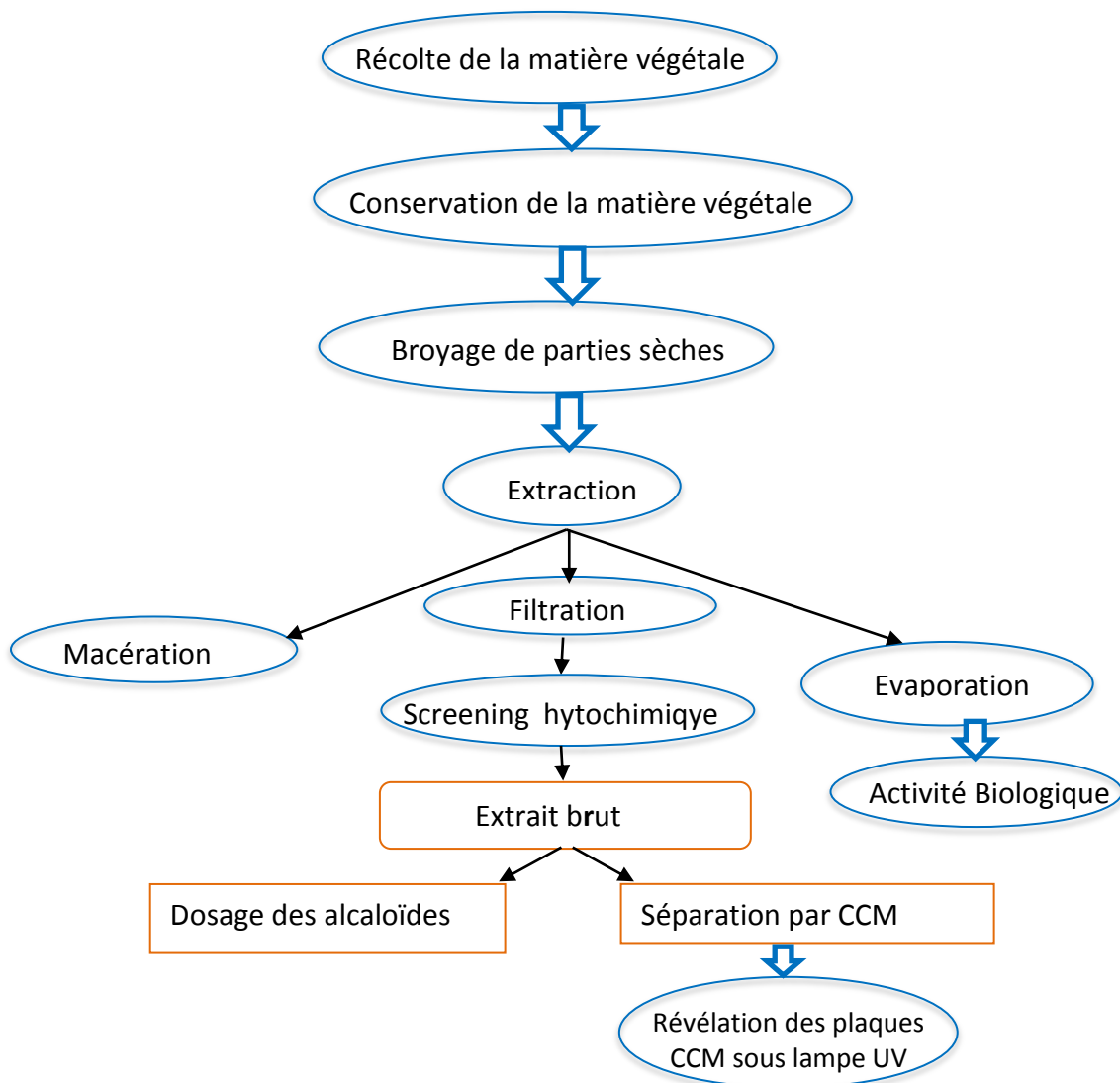


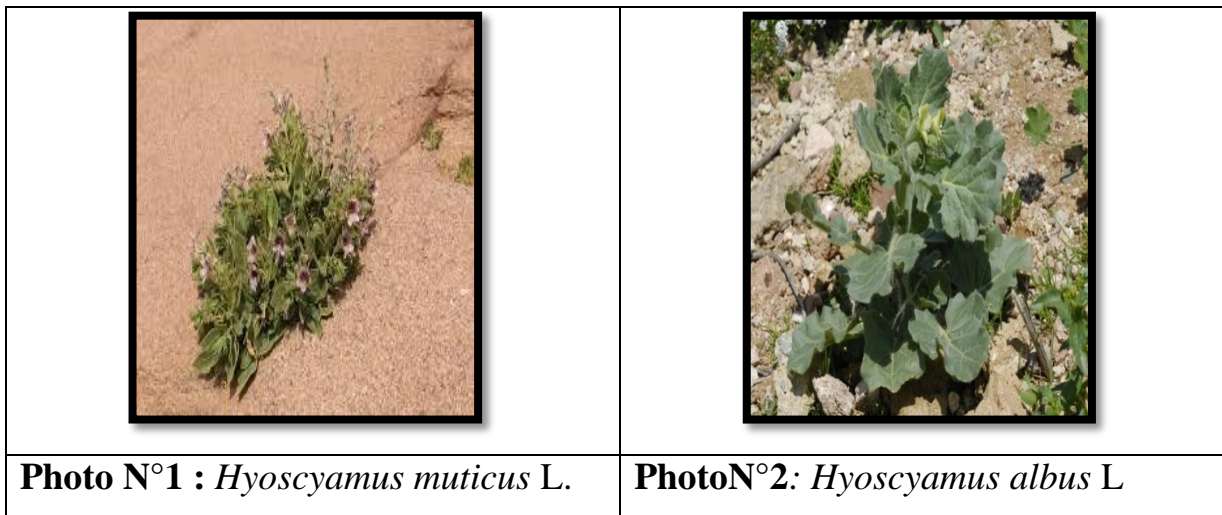
Figure N°5:Organigramme d'étude phytochimique

II-4-1 Le matériel végétal :

Notre étude apportée sur la partie aérienne de deux espèces de la famille *Solanaceae* :

la première espèce : *Hyoscyamus albus* L.

la deuxième espèce : *Hyoscyamus muticus* L.



II-4- 1-2Réculte de la matière végétale :

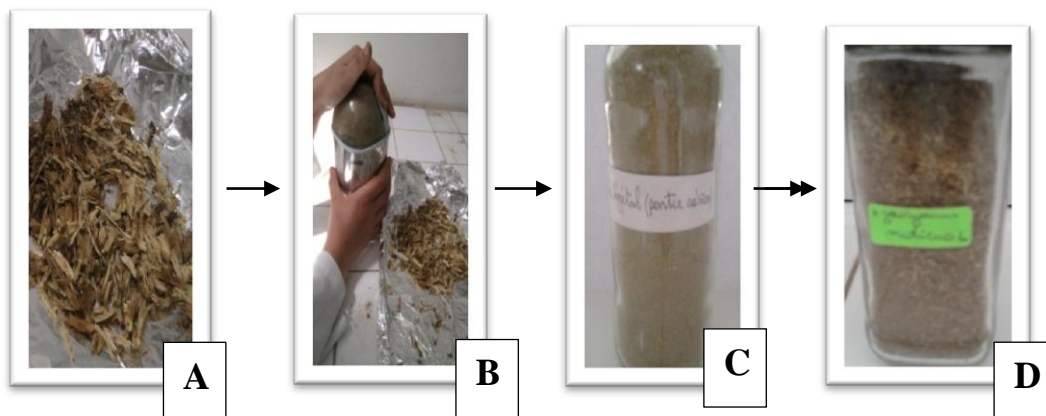
Les deux espèces ont été récoltées à partir de deux régions différentes.

la première espèce(*Hyoscyamus albus*) a été récolté dans la région de Arris (Wilaya de Batna) le 26/04/ 2014 .

la deuxième espèce (*Hyoscyamus muticus*) a été récolté dans la région de Tassili(wilaya de Ilizi) durant le mois de la période de pleine floraison, le mois de avril

II-4-1-3 Séchage et Broyage :

Après séchage à une température ambiante et à l'abri de la lumière solaire, pendant trois semaines. Afin de préserver au maximum l'intégrité des molécules, le matériel végétal de chacune des deux plantes est Broyé grossièrement dans un moulin électrique, pour obtenir une poudre fine pour réaliser notre étude phytochimique et l'évaluation de l'activité antibactérienne.



A : Matériel séchée

B : Matériel broyé

C : La poudre fine de *Hyoscyamus albus*

D : La poudre fine de *Hyoscyamus muticus*

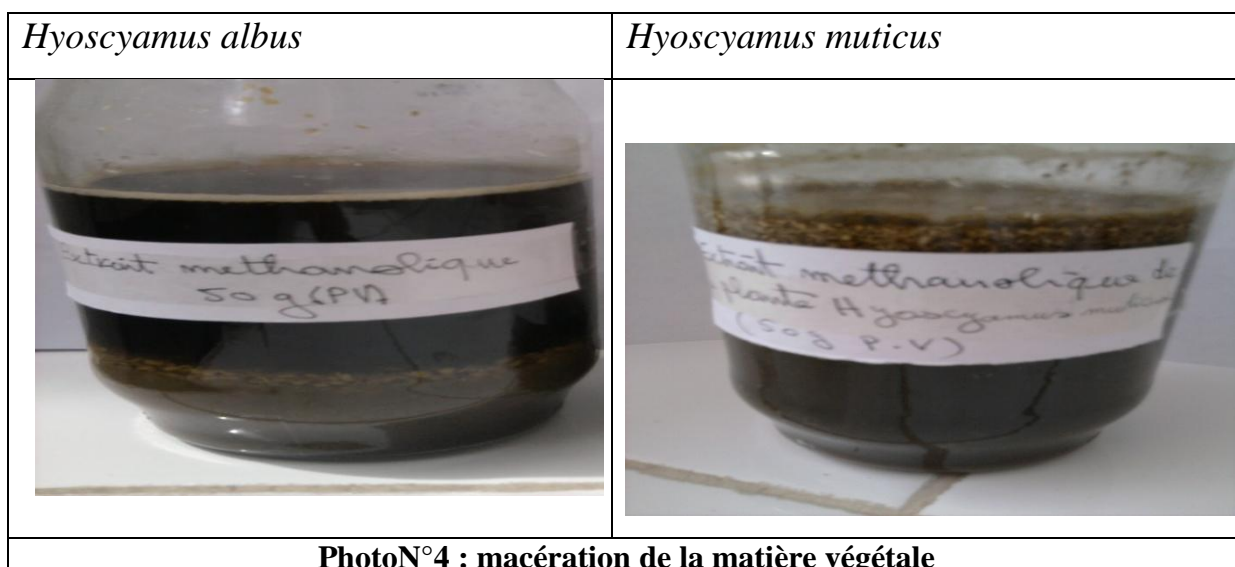
Photo N°3 : Broyage de la matière végétale

II-4-1-4 Macération de la matière végétale :

La macération est une opération qui consiste à laisser la poudre du matériel végétale en contact prolongé avec un solvant, pour extraire les principaux actifs (Djamel et al, 2012).

Le protocole d'extraction est le même pour les deux espèces.

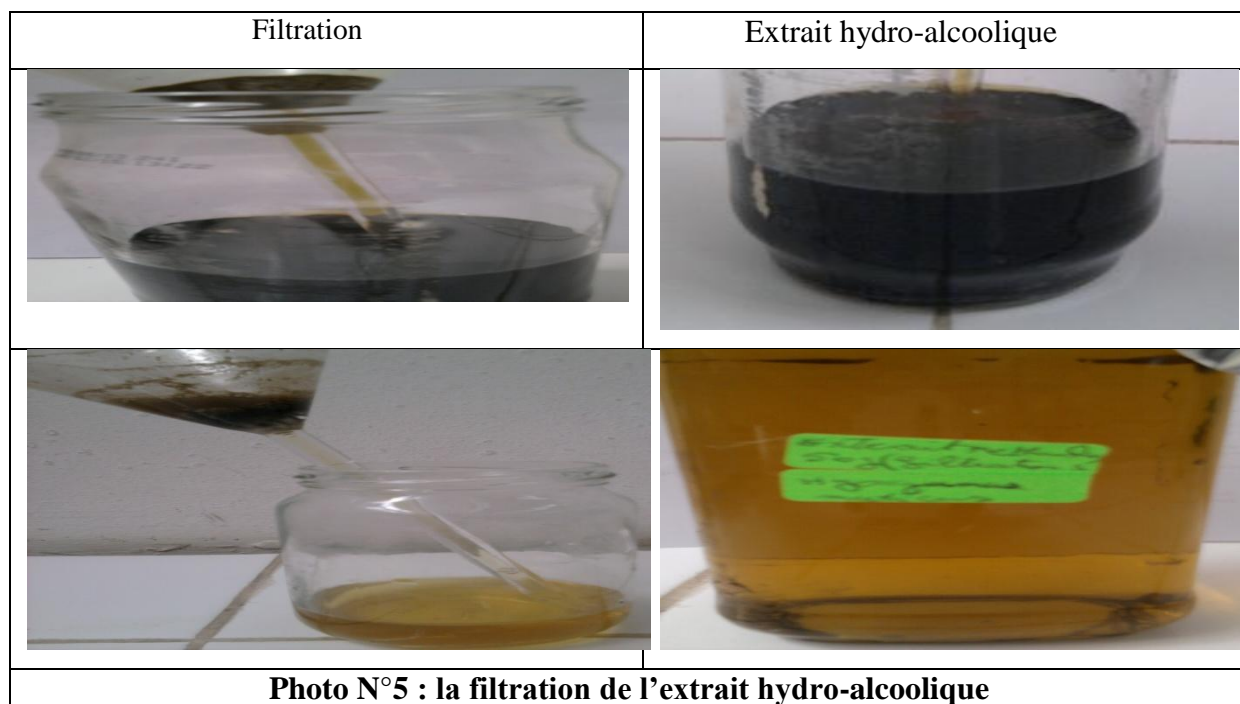
Après le broyage du matériel végétal ; dans un mortier on prend 50 g de la matière sèche de chaque partie aérienne des deux espèces dans 500ml de Solution hydro-alcoolique Méthane +eau (7 :3 , V/V) et on les laisse macérer dans des flacons de petite taille pendant 2 jours (48h), avec renouvellement du solvant chaque (24h), avec agitation de temps en temps, ceci pour permettre une meilleure extraction des composés chimiques



PhotoN°4 : macération de la matière végétale

II-4-1-5 Filtration

Après la macération d'une période de 48 h, le macérât a été filtré à l'aide d'entonnoir sur papier Wattman N°1 pour obtenir un extrait hydro-alcoolique



III-1 Criblage des métabolites secondaires

III-1-1 Criblage des flavonoïdes

Le criblage des flavonoïdes se réalise à partir de l'extrait hydro-alcoolique de la partie aérienne de chaque plante et il est réparti en deux tubes, chacun d'eux est proprement étiqueté (*Hyoscyamus albus.L / Hyoscyamus muticus.L*) pour ajouter quelques gouttes des réactifs suivants les deux tests (de Wilstater de Bate- Smith). (Benkhedimallah, 2014).

- **Test de Wil stater :**

Traiter 5 ml de l'extrait préparé avec 1 ml de l'HCL concentré et ajouter une quantité de tournures de mg (3-4 graines) et laisser agir. La présence des flavones est confirmée par l'apparition d'une couleur virage au rouge pourpre (flavonals), rouge violacées (flavonones et flavonols) (Bruneton, 1993).

- **Test de Bate-Smith :**

Traiter les extraits avec HCL concentré et portait au Bain-marie pendant 30 minutes, l'apparition de couleur rouge au brun confirme la présence des anthocyanes.

III-1-2 criblage des Tanins

100mg d'extrait hydro-alcoolique sont dissout dans 25ml de l'eau distillée chaude puis additionner de trois à quatre gouttes de Na Cl 10%, la solution ainsi obtenue est filtrée, le filtrat est ensuite réparti dans 6 tubes à essai le 4^{ème} tube servant de témoin (**Rizk, 1982**).

Tube n°=1 : addition de 4 à 5 goutte de gélatine à 1%.

Tube n°=2 : addition de 4 à 5 gouttes de gélatine salée : gélatine (1%) +Na Cl (10%).

L'apparition d'une précipitation par la gélatine signifie la présence de tanins.

Tube n°=3 : de 4 à 5 gouttes de FeCl₃ en solution méthanolique, une coloration.

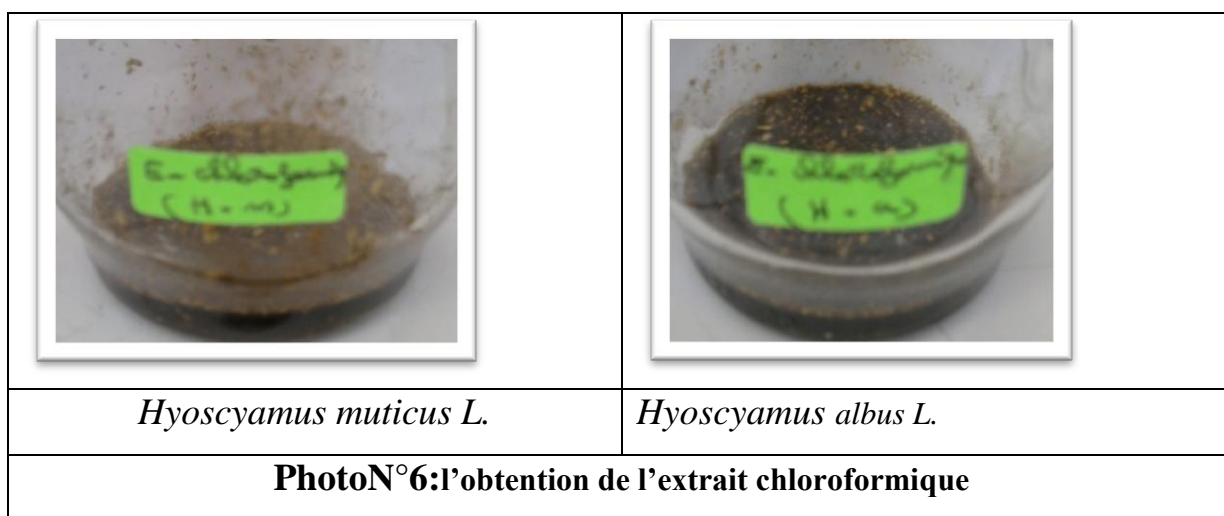
Bleu – vert ou vert noir est dû aux tanins du type catéchols.

Noir Blue mâter signifie la présence de tanins de type pyrogalls.

Une réaction négative à la salée accompagnée d'une coloration verte ou bleu noir avec FeCl₃ : sont dues à la présence de deux types de composés phénoliques.

III-1-3 Criblage des anthraquinones

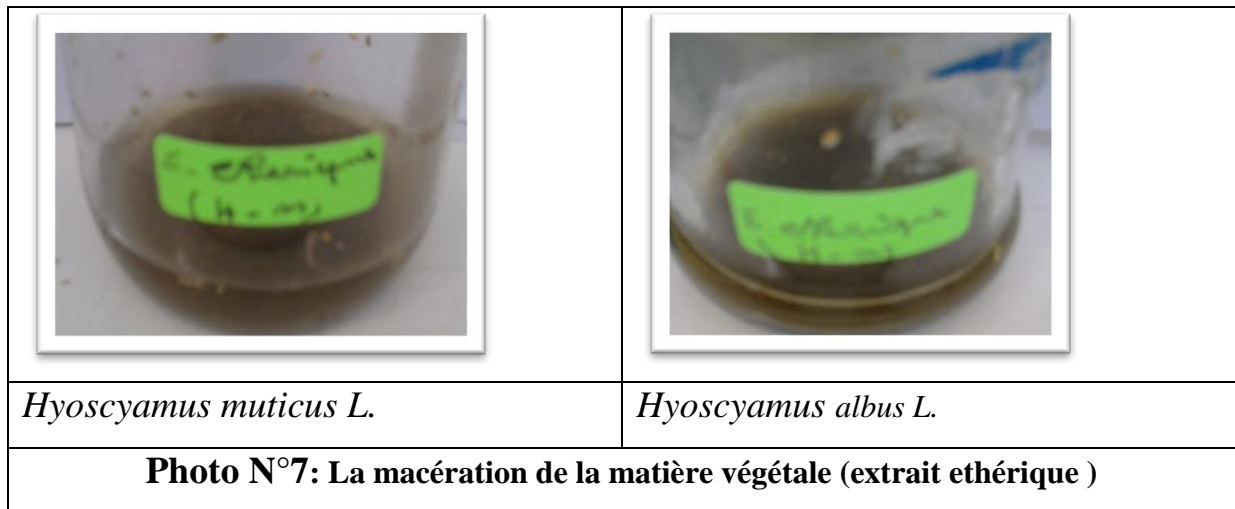
L'extrait chloroformique de chaque espèces .On ajoute KOH aqueux 10 %, après agitation la présence des anthraquinones est confirmée par un virage de la phase aqueuse au rouge (**RIZK ,1982**).



III-1-4 Criblage des quinones :

1g de matériel végétale sec et broyé et placé dans des tubes avec 15à30 ml d'éther de pétrole après agitation et un repose de 24heures, après les extraits sont filtrés.

La présence de quinones libers est confirmée par l'ajoute quelque goutte de NaOH 10% lorsque la phase aqueuse vire au jaune, rouge ou violet (**Ribérreau, 1968**).



III-1-5 Criblage des Alcaloïdes

Il consiste à introduire dans un tube à essai :

- 200 mg environ de poudre végétale.
 - 10 ml environ de l'acide sulfurique diluée à 10%.
 - Agiter pendant 2 minutes puis filtrer sur papier filtre .
 - Partager le filtrat entre 3 tubes :
 - Le 1^{er} tube servira de témoin.
 - Le 2^{ème} tube ajouter quelques gouttes de réactif de MAYER.
 - Le 3^{ème} tube ajouter gouttes de réactif de DRAGENDORFF.
 - Observer les précipitations caractéristiques
- **Test de MAYER**

0.5g de matériel végétal en poudre, on ajoute 15 ml d'éthanal 70%, après une agitation de 5 mm, on laisse reposer l'extrait jusqu'à décantation complète, suivie d'une filtration et d'une évaporation à sec.

Le résidu est repris dans quelque ml d'HCL 50%, la formation d'un précipite jaune, après ajout de quelques gouttés du réactif de MAYER (10 g de KI et 2.70 g de Agcl₂ dissous dans 20 ml d'eau). (Memelink et al, 2001).
 - **Test de Dragendorff**

Une chromatographie sur couche mince que nous appelons CCM (gel de Silice type Cemag Ch-U123 Muttering, plaque de 200*200 mm d'épaisseur, support plastique) est effectué pour quelque µl l'extrait-méthanolique le Solvant de migration est :

 - MeOH/ NH₄OH 50% (1.5 :100).
 - CHCl₃/ MeOH (9 :1).

Après migration, les spots fluorescents à 365 nm sont pulvérisée avec le réactif de Dragendroff(85 g sous nitrate basique de bismuth +8 d d'Iodure potassium +10 ml d'Acide citrique glaciale + 70 ml eau distillée),

l'apparition en lumière visible de taches orange témoigne de la présence d'alcaloïde.

III-1-6 Criblage des Saponosides :

On met 2 g de la poudre végétale pour chaque espèce dans des tubes d'essais puis on ajoute quelque gouttes des réactifs suivants ces tests

- Test 1 : introduire 2 g de du matériel végétal dans un tube à essai, mélanger avec 10 ml d'eau distillée en ajoutant pendant 2-3 minutes (**Karumi et al, 2004**).
- Test 2 : 2 g du matériel végétal sont mélangés avec 10 ml de Meog dans un tube à essai, agiter puis laisser reposer (Benmahdi, 2000).
- Test 3 : 2 g du matériel végétal sont mélanger avec 10 ml de CHCl_3 , agiter pendant quelque minutes (Edeager, 2005),

On fait bouillir dans un bain marie pendant 15 à 20 minutes, les trois tests sont réalisés sur chaque partie aérienne des 2 espèces.

La formation d'une mousse persistante après 15 minutes confirme la présence des saponosides.

- Pas de mousse : test négatif
- Mousse moins de 1 cm : test positif
- Mousse de 1 à 2 cm : test positif
- Mousse plus de 2 cm : test très positif.

III-1-7 Criblage des coumarines :

Protocole 1 : la présence de coumarines (composées polyphénolique) est réalisée en évaporant à sec 5 ml d'extrait étheré, 2ml d'eau chaude sont ajoutés puis 1ml de NH_4OH 25%, le mélange est observé sous UV à 366 nm.

L'observation d'une fluorescence bleue intense indique que leur présence (**Bachiaga M., 2011**).

Protocole 2 : test de détection :2 g de matériel végétal en poudre sont mélangés à 10ml de CHCl_3 , après un chauffage de quelques minutes et une filtration, les extraits chloroformiques sont soumis à une CCM et le solvant étant le mélange toluène /ACEL (90 :10) se fait en 365 nm.



Photo N°8 : le développement de la CCM

III-2 La Chromatographie Analytique sur Couche Mince (CCM)

III- 2-1 Evaporation :

Elle est réalisée à l'aide d'un évaporateur rotatif (Rotavapor) à une température comprise entre 35 à 45 c° afin d'obtenir un extrait sec.



Photo N°9 : évaporateur rotatif (Rotavapor).

III-2-2 La séparation par CCM :

Principe :

Chromatographie d'absorption sur couche mince permet d'analyser l'avancement d'une réaction (**EritaBourquet, 2008**) lorsque la plaque sur laquelle on a déposé l'échantillon est placée dans la cuve, l'éluant monte à travers la phase stationnaire, et chaque composant de l'échantillon se déplace à sa propre vitesse cet dernier est relié d'une part avec les forces électrostatiques retenant les composants sur la phase stationnaire et d'autre part de sa solubilité dans la phase mobile (**Karbouche, 2007**).

III-2-3 protocole

La phase stationnaire

Utilise les plaques commerciales (gel de Silice 60 nm imprimé sur une plaque d'aluminium)

La phase mobile

1- Choix du solvant : l'élution est commencée avec des solvants peu polaires puis poursuivie par les solvants plus polaires (**G. Wenola et al, 2011**).

2- Système solvant essayés

Système 1 : Acétate d'éthyle / Méthanol/ eau (10 : 1 :0.5)

Système 2 : Ether de pétrole / Acétate d'éthyle(8 :2)

Système 3 : Hexane/ Acétate d'éthyle (7 :2).

Système 4 : Butanol/ Acétateacétique (4:5)

Système 5 : Chloroforme /Méthanol (9 :1)

a- Dépôt d'échantillon

Le dépôt d'échantillons sur la plaque, il est conseillé de tracer une ligne étroite parallèle au bord inférieur et d'y placer les marques des futurs dépôts, espacés d'un minimum de 0.5 cm, le dépôt doit être effectué de façon homogène à l'aide d'un capillaire sans creuser le support solide (**Erika et al, 2008**).



PhotoN°10 :Dépôt d'échantillon

b- Développement de la plaque :

La plaque est placée en position verticale dans une cuve et le solvant (éluant) qui recouvre le front monte par capillarité, lorsque la position du front du solvant arrive à environ 1 cm de l'extrémité supérieure la plaque retirée de la cuve, le niveau atteint par le solvant est marqué par un trait fin, puis la plaque est séchée à l'air libre (**Kabouchue, 2007**).



PhotoN°11 : Développement de la plaque

c- Révélation :

Si les constituants sont colorés, ils seront directement visible sur la plaque, sinon la révélation peut se faire soit aux UV ou bien par des méthodes chimiques :

Révélation aux UV : La révélation des plaques se réalise sous une lampe U.V à la longueur d'onde utilisée 260 et 360 nm (Erik et al, 2008).

Révélation par des méthodes chimiques : ces méthodes consistent à mettre en contact de la plaque un réactif plus ou moins spécifique qui donne un produit coloré par réaction chimique avec les substances à révéler (Latifou, 2005)

III-4Extraction des alcaloïdes (Bruneton, 1999)

La poudre végétale (50g) obtenue est mise à macérer dans un mélange Hydro alcoolique Ethanol + Eau (70%, 30% V / V 500ml). Cette macération est répétée 2 fois avec renouvellement du solvant, chaque fois elle dure 24 heures puis on filtre.

Après filtration, le filtrat obtenu est concentré à l'évaporation sous vide est réalisée (Rota vapeur) à 50 °C, la solution a subi des extractions successives de type liquide-liquide en utilisant le solvant de chloroforme (50ml) ; HCl (50ml) et l'hydroxyde d'ammonium (50ml), l'extraction est répétée trois fois.

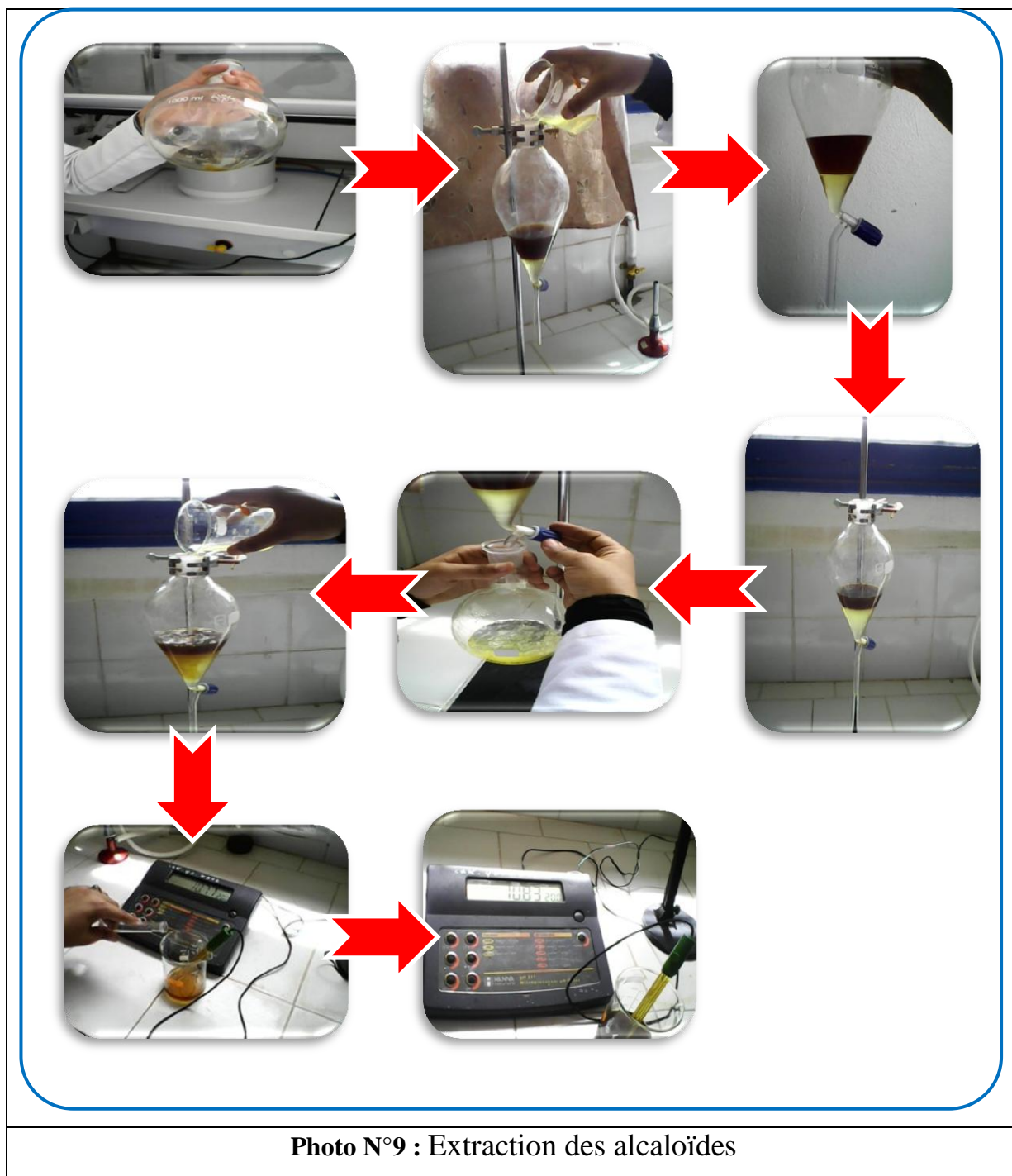


Photo N°9 : Extraction des alcaloïdes

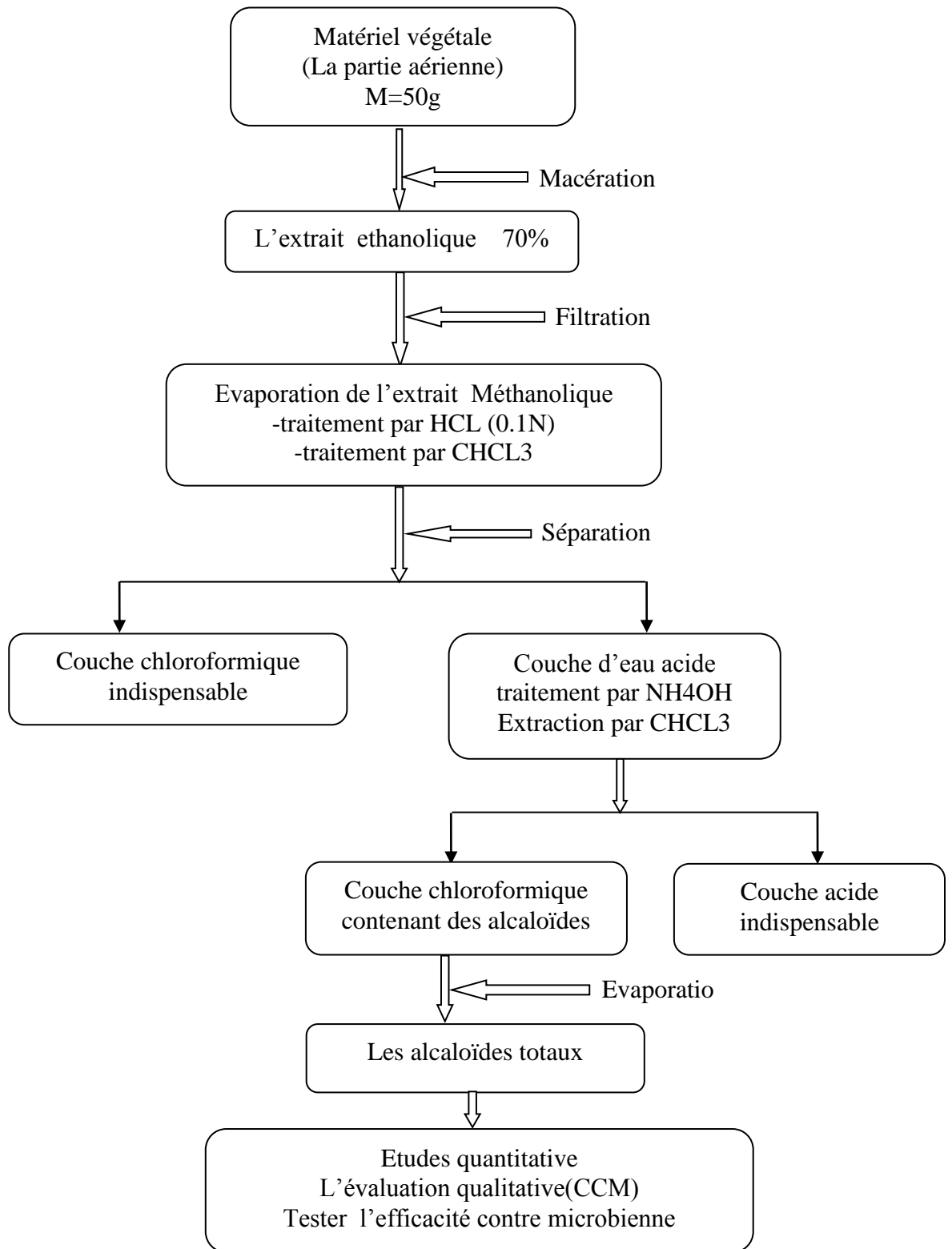


Figure N°5: Organigramme de l'extraction des alcaloïdes

III-5 Détermination des alcaloïdes totaux (Bruneton, 1999)

L'estimation des alcaloïdes des extraits végétales par dosage par volume, mettre les Alcaloïdes totaux dans volume de HCL0.2N et ajouter le Ka OH 0.2N en présence de rouge de méthyle comme témoin jusqu'à le changement de la couleur.

On calcul le pourcentage de chaque échantillon (l'échantillon considérée comme hyoscyamine) selon la loi des médicaments égyptien(1971):

$$\text{Volume d'acide (0.2N)-volume de base (0.2N)}$$

$$\% \text{ des alcaloïdes} = \frac{\text{Volume d'acide (0.2N)-volume de base (0.2N)}}{\text{Poids d'échantillon (g)}} \times 0.00587\%$$

$$\text{Poids d'échantillon (g)}$$

IV-Etude de l'activité antibactérienne

C'est une méthode de mesure in- vitro du pouvoir antibactérien des composées. La technique utilisée est la technique de contact direct qui compte deux méthodes, la méthode des puits et la méthode de diffusion, nous avons adopté la dernière, qui est vieille méthode, mais toujours d'actualité puisqu'elle est encore utilisée fréquemment dans les laboratoires de bactériologie pour la mesure du pouvoir antibactérien des antibiotiques de synthèse. (Mabkhota et Younsi, 2005).

IV-1 Méthode des disques

C'est une vieille méthode pour mesurer le pouvoir antibactérien des antibiotiques de synthèse .la méthode est appelée aromatoigramme par référence à l'antibiogramme, la seule différence est quel 'antibiotique est remplacé par les composés étudiés:(l'aromatoigramme est à la détruits par la diffusion de composés.

La sensibilité phytothérapie ce que l'antibiogramme décrit par la pharmacopée française des antibiotiques est à la médecine) (Girault, 1971).

Inspiré de la méthode de SHROEDER et MESSING (1949), l'aromatoigramme consiste à utiliser des disques de papier filtre imprégnés dans les solutions et placés à la surface des gélosesensemencées. Après incubation, les diamètres d'inhibition sont mesurés en mm ; ils correspondent aux zones ou les germes avaient été inhibés ou d'un germe est nulle quand le diamètre est inférieur ou égal à 8 mm (N).

Elle est limitée pour un diamètre compris entre 8et 14 mm (L) et moyenne.

Pour un diamètre entre 14 et 20 mm (M) .Pour un diamètre supérieur ou égal à 20 mm, le germe est très sensible (S) (Girault , 1971).

IV-2 Cueillette de souches testées

Les effets de l'activité biologique des plantes sont étudiés sur les souches bactériennes: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus subsp aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* provenant de laboratoire de Microbiologie à l'hôpital de la wilaya de O.E.B. d'AIN BEIDA

Les tests d'activité biologique sont réalisés au niveau de laboratoire -1- de biologie et physiologie végétale, département de biologie végétale et écologie, faculté de sciences de la nature et de la vie, Université de Constantine 1.

IV-3 Préparation des solutions tests

Pour la préparation des solutions de différentes concentrations, on a utilisé éthanol comme solvant de dilution pour les composés et l'eau distillée comme solvant de dilution pour les extraits.

IV-4 Préparation des disques

Cette préparation se fait à partir du papier wattman n°3 qui est découpé en disques de 06 mm de diamètre, Ces disques seront placés dans un tube à vis pour stérilisation à l'étuve pendant 30 mn à 130°C.

On a les disques de :

- Test négatif.
- Test positif (oxacilline)
- Extrait brut des deux plantes
- Extrait des alcaloïdes des deux plantes

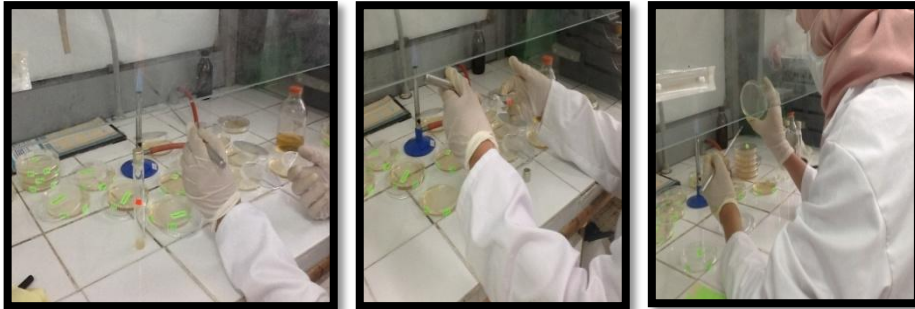
IV-5 Milieux de culture

Cette étape consiste à faire couler les boîtes de pétri avec le milieu chaud Mueller Hinton pour les souches bactériennes, l'épaisseur de la gélose doit être de 4mm.



IV-6 L'ensemencement

L'ensemencement se fait par inondation de façon à recouvrir entièrement la surface gélosée. L'excès est ré aspiré. Les boîtes ainsi ensemencées sont mises à sécher 15 Mn à 37°C.



PhotoN°11 : L'ensemencement de la souche bactérienne

IV-7 Application des disques

Les disques chargés de principe actif a testée sont déposés a l'aide d'une pince a la surface du milieu gélosés, préalablement ensemencé a 15 mm du bord de la boîte de pétri.

Ils doivent être parfaitement appliqués à plat sans glissement en appuyant légèrement sur la surface de la gélose.

Il est important d'observer une pré diffusion du principe actif de 30 mn a température ambiant avant de porter les boîtes à l'étuve a 37°C, pendant 18 heures pour les souches bactéries.



PhotoN°12 : Dépôt des disque

IV-8 Lecture

Après la culture, la lecture s'effectue en mesurant sur chaque disque le diamètre d'inhibition du principe actif. Cette distance millimétrique est ensuite reportée sur l'échelle de concordance afin que la souche soit interprétée en sensible, intermédiaire ou résistante vis-à-vis de principe actif étudié.

IV-9 Analyse statistique des données

Les analyses de variance des résultats de l'activité antibactérienne ont été réalisées par le logiciel statistique MINITAB. Les différences considérées hautement significatives à $p < 0.01$.

Chapitre II :

Résultats et

discussion

II-1 Résultats des caractérisations phytochimiques

Les résultats du screening phytochimique sont classés en fonction des différents critères d'observation, entres autres :

- Réaction fortement positif : +++
- Réaction positif : ++
- Réaction faiblement positif : +
- Réaction négatif : -

II-1-1 Criblage des flavonoïdes

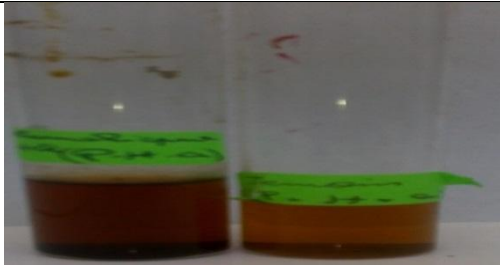
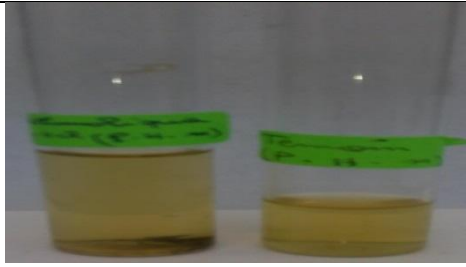
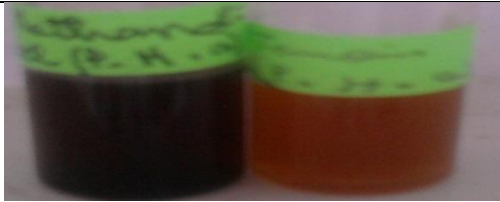
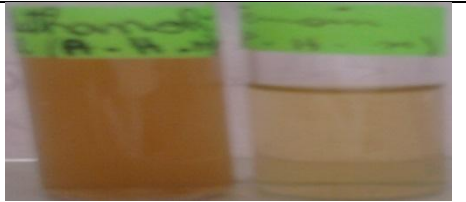
Les résultats du criblage phytochimique des flavonoïdes indiqués dans les tableaux 1 et 2 montrent la présence de ces métabolites secondaires positivement dans l'espèce *Hyoscyamus Albus L.*, elles sont présentent sous les deux formes flavonales et les anthocyanes (Rouge pourpre) ; par contre dans l'espèce *Hyoscyamus muticus L.* on observe une présence des flavonoïdes sous forme d'anthocyanes (brun) (Rouge pourpre) et une absence totale des flavonoïdes sous la forme de flavonales

Tableau N° : 1 : flavonoïdes

Classe de composé recherché	Tests	Extraits	Réactifs	Espèces utilisées	
				Hyoscyamus Albus L.	Hyoscyamus muticus L.
Flavonoïdes	wilstater	Méthanolique	HCl concentré et Mg	++	-
	Beth Smith	Méthanolique	HCl concentré et porter au bain marie (30min)	++	++

+ : est fonction de l'intensité de la coloration et/ou des précipités.- : Test négatif. ++ : Test positif. +Test faiblement positif. +++ : Test fortement positif.

Tableau N ° :2 : photographie des résultats des flavonoïdes

Réactifs	Hyoscyamus albus	Hyoscyamus muticus
HCl concentré et Mg		
HCl concentré et porter au bain marie (30min)		

II -1-2-Criblages des tanins

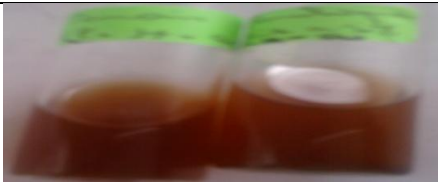

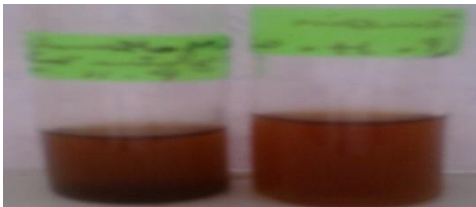


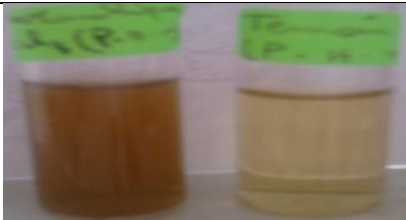
Les résultats du criblage des tanins sont présentés dans les tableaux 3 et 4. Ces résultats montrent qu'il y a une précipitation et une coloration vert-noire et décolorée qui indiquent la présence des tanins.

Tableau N°3 : tanins

Classe de composé recherché	Extraits	Réactifs	Espèces utilisées	
			Hyoscyamus Albus	Hyoscyamus muticus
tanins	Méthanolique	4 à 5 gouttes de gélatine 1%	+	+
		4 à 5 gouttes de gélatine salée (gélatine 1% + NaCl 10%)	+	+
		FeCl ₃	++	++

- : Test négatif. ++ Test positif. + Test faiblement positif. +++ : Test fortement positif.

Tableau N°4 : photographie des résultats des tanins

Réactifs	<i>Hyoscyamus albus</i> L.	<i>Hyoscyamus muticus</i> L.
4à5 gouttes de gélatine 1%		
4à5 gouttes de gélatine salée (gélatine 1%+NaCl10%)		
FeCl3		

II-1-3 Criblage des saponosides

Les résultats du criblage des saponosides de la partie aérienne des deux espèces sont illustrés dans les tableaux 3 et 4


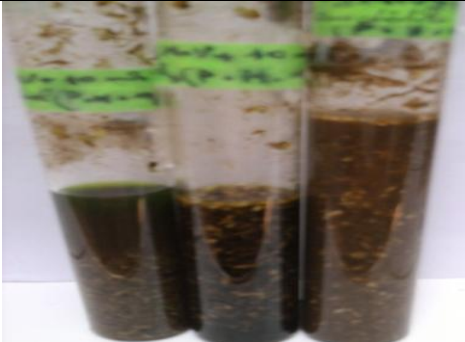
Les résultats montrent que les deux espèces contiennent les saponosides

Tableau N°5:les résultats du criblage des saponosides

Classe de composé recherché	N°des tubes	Test	Espèces utilisées	
			<i>Hyoscyamus albus</i> L.	<i>Hyoscyamus muticus</i> L.
saponosides	Tube1	Matériel végétal+eau distillée	++	++
	Tube2	Matériel végétal+MeOH	-	-
	Tube3	Matériel végétal+CHCL3	-	-

- : Test négatif. ++ Test positif. +Test faiblement positif. +++ : Test fortement positif.

Tableau N°6 : photographie des résultantes des saponosides

	Hyoscyamus Albus l.	Hyoscyamus muticus L.
Matériel végétal +eau distillée		
Matériel végétal +MeOH		
Matériel végétale+CHCL3		

II -1-4Criblage des Alcaloïde


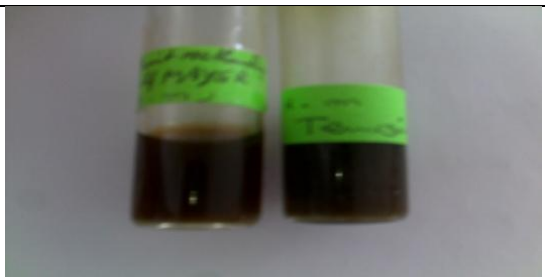

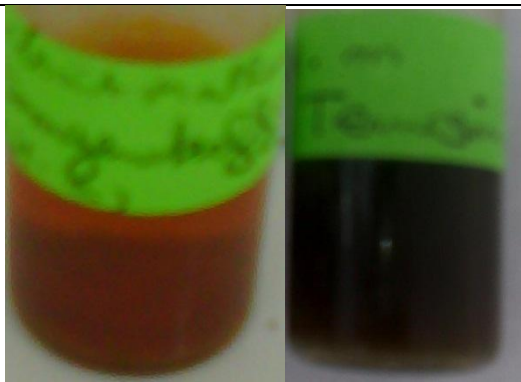
Les résultats du criblage des alcaloïdes sont mentionnés dans les tableaux 7et 8
Tous les réactifs utilisés ont donné des résultats fortement positifs, les précipités obtenus étaient très intenses. D’après la littérature les deux espèces sont très riches en alcaloïdes, ce qui est prouvé par ces tests.

Tableau N°7:les résultats du criblage des Alcaloïdes

			Espèce utilisées	
Classe décomposé	Extrait	Réactif	<i>Hyoscyamus Albus L.</i>	<i>Hyoscyamu smuticus L.</i>
alcaloïdes	methanolique	MAYER	+++	+++
		DRAGENDORFF	+++	+++

- Test négatif. ++ Test positif. +Test faiblement positif. +++ : Test fortement positif.

TableauN°8 : photographie des résultats des alcaloïdes

Réactif	Hyoscyamus Albus	Hyoscyamusmuticus
MAYER		
DRAGENDORFF		

TableauN°9 : CCM des Alcaloïdes

Grâce à une étude de recherche que nous avons terminé, comme il est précisé dans le contexte de ce que les résultats de *Hyoscyamus albus* L . , *Hyoscyamus muticus* L.

Contiennent des alcaloïdes efficaces que les matériaux avec CCM

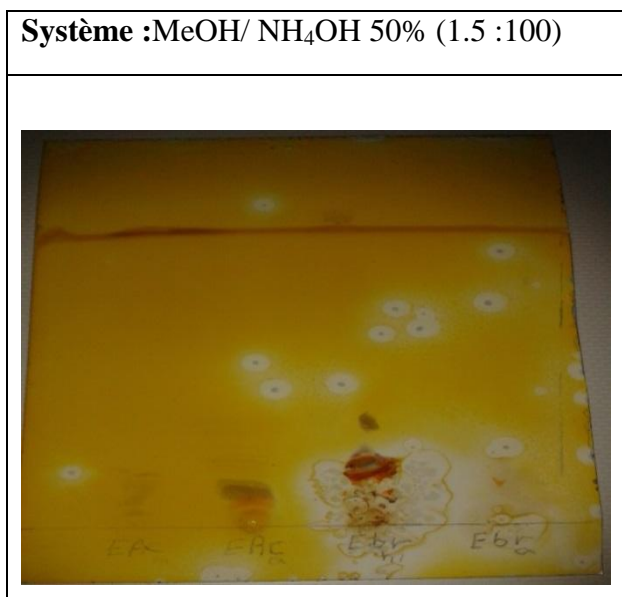


Figure : Résultat du Chromatogramme deSystème :MeOH/ NH₄OH 50% (1.5 :100)

Le tableau suivant montre la couleur et le Rf des taches détectées sous UV 254 nm

Tableau N°10 : Couleur et Rf des alcaloïdes observés

Système	L'extrait	Nbr :des spots	La couleur	Rapporte frontale (Rf)	Type ses alcaloïdes
S1MeOH/ NH ₄ OH 50% (1.5 :100) :	Ebra	1	Orange	0,138	/
	Ebrm	1	Orange	0,00	Belledonne
		2	Orange	0,2	Atropine
		3	Orange	0,53	Scopolamine
	EACa	1	Orange	0,00	Belledonne
		2	Orange	0,09	Belledonne
	EACm	1	Orange	0.16	/

Ebra : extrait brut de l'espèce *Hyoscyamus albus* L.

Ebrm : extrait brut de l'espèce *Hyoscyamus muticus* L.

EACa : extrait Alcaloïde de l'espèce *Hyoscyamus albus*L.

EACm : extrait Alcaloïde de l'espèce *Hyoscyamus muticus* L.

La chromatographie sur couche mince des l'extrait brut et l'extrait Alcaloïdique de deux espèces *Hyoscyamus albus* L.et *Hyoscyamus muticus* L. permis de séparer les Alcaloïdes sous forme de spots colorés après révélation, par dragendroff

On observe que les systèmes essayés montre que les taches qui ont la même couleur (orange) et des Rf voisins pourront être les mêmes alcaloïdes.

D'après les résultats présente par Docteur KADI 2010 dans son étude par la CCM de l' extrait de la partie aérienne et souterrain de l'espèce *Hyoscyamus albus* L. à été trouvée que cette espèce caractérisée ces alcaloïdes

D'après, la comparaison, on peut confirmer que les trois grandes taches révélée de DRAGINDROFF et avec le tableau de professeur Yahia Abd el Waheb

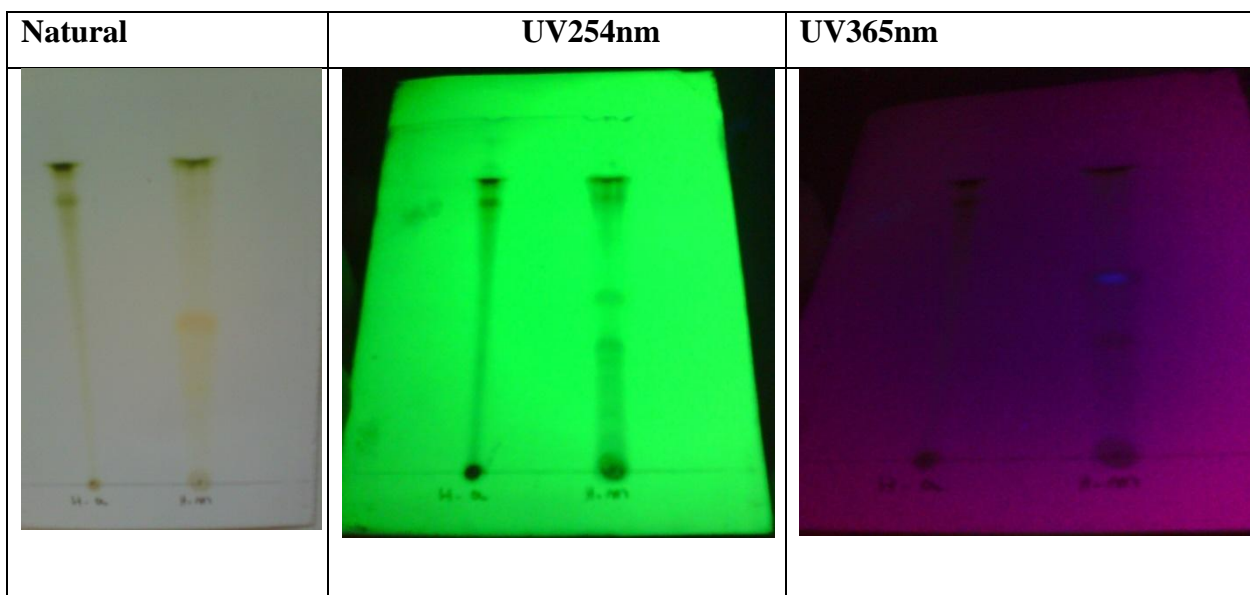
$$Rf = 0,00 \quad Rf = 0.5 \quad Rf = 0,2$$

Qui identifier les alcaloïdes suivants : Belledonne, Scopolamine et l'Atropine.

II-1-5 Criblages des coumarines

Le criblage des coumarines par la méthode de CCM avec deux méthodes révéla la présence d'une fluorescence bleue marque l'existence des coumarines dans les deux espèce *Hyoscyamus albus* L. et *Hyoscyamus muticus* L.

Tableau N°11 :photographie des résultats des coumarines



II-1-6 Criblage des anthraquinones :


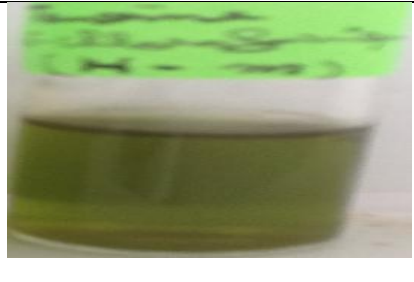


Le réactif KOH utilisé pour la détection des Anthraquinone a démontré que l'espèce *Hyoscyamus muticus* L. sont riches en ces métabolites secondaires par contre l'espèce *Hyoscamus albus* L. faiblement

Tableau N°12:anthraquinones

Classe de composé recherché	Extrait	Réactif	Les espèces utilisées	
			<i>Hyoscyamus Albus</i> L.	<i>Hyoscyamus muticus</i> L.
anthraquinones	chlorophormique	KOH à 10%	+	+++

- : Test négatif. ++ Test positif. +Test faiblement positif. +++ : Test fortement positif.

Tableau N°13 : photographie des résultantes des anthraquinones

Réactif	<i>Hyoscyamus Albus</i> L.	<i>Hyoscyamus muticus</i> L.
KOH à 10%	Témoin	
		
	Test	
		

II-7 Criblages des quinones :





Le réactif NaOH utilisé pour la détection des quinone a démontré que l'espèce *Hyoscyamus albus* L. sont riches en ces métabolites secondaires par contre l'espèce *Hyoscamusmuticus* L. faiblement

Tableau N°14: resulttats du criblage des quinones

Classe décomposée recherchées	Extrait	Réactif	Les espèces utilisée	
			<i>Hyoscyamus Albus</i>	<i>Hyoscyamusmuticus</i>
quinones	chlorophormique	NaOH 10%	++	-

- : Test négatif. ++ Test positif. +Test faiblement positif. +++ : Test fortement positif.

Tableau N°15 : photographie des résultats des quinone

Réactif	<i>Hyoscyamus albus</i> L.	<i>Hyoscyamus muticus</i> L.
NaOH à 10%	Témoin	
		
	Test	
		

+ : est fonction de l'intensité de la coloration et/ou des précipités.

Tableau N°16

Recherche	Résultats
Les flavonoïdes	Apparition d'une couleur jaune (+)
Les saponosides	Formation d'une mousse persistante(+)
Les alcaloïdes	Présence de précipitation (++)
Les tanins	Apparition d'une coloration bleue noir(+)
Les anthraquinones	confirmée par un virage de la phase aqueuse ou rouge
Les quinones	la phase aqueuse vire au jaune, rouge ou violet


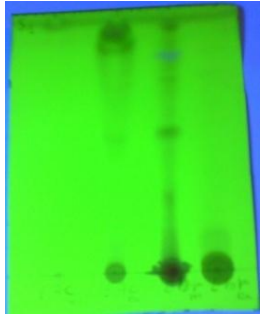


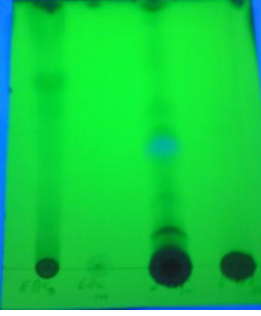
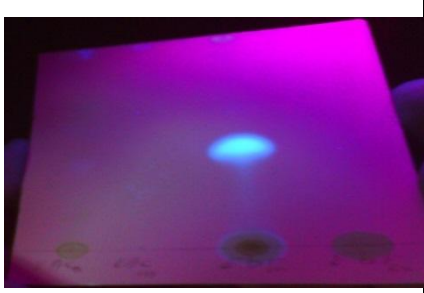

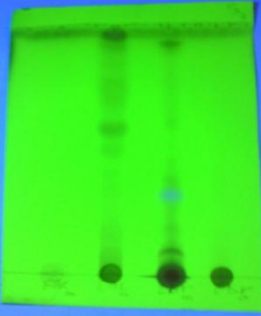
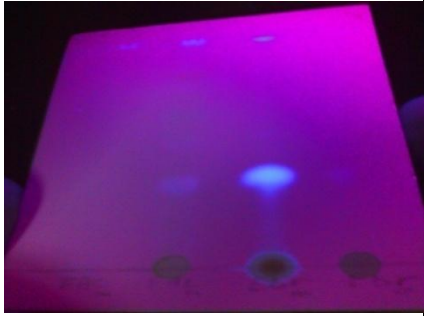

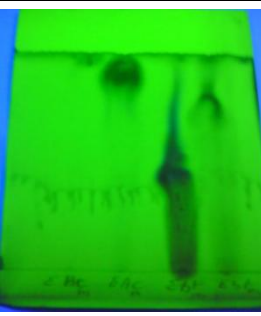


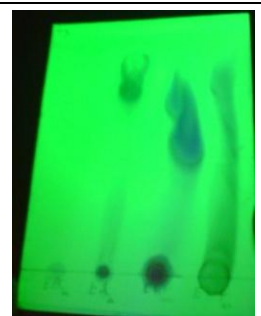
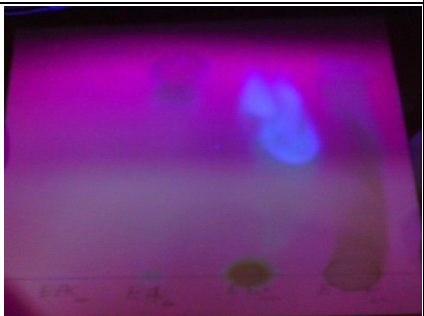
L'étude phytochimique des extraits de la partie aérienne des deux espèces a montré que les deux espèces : *Hyoscyamus albus* L. récoltée d'ARRIS et *Hyoscyamus muticus* L. récoltée de Djanet, contiennent : des flavonoïdes, des quinones, des anthraquinones, des saponosides, des tanins et des alcaloïdes . Ce qui confirme les travaux de Tabti (2006), qui ont révélé la présence de flavonoïdes, saponosides, tanins et alcaloïdes chez l'*Hyoscyamus albus* L. et aussi chez l'*Hyoscyamus muticus* L.

La richesse de ces espèces en métabolites et composés chimiques actifs pourrait expliquer l'utilisation traditionnelle des deux espèces contre.

Résultats de la chromatographie sur couche mince

La CCM nous a permis d'avoir les empreintes de nos extraits de la partie aérienne des deux espèces *Hyoscyamus albus* L. et *Hyoscyamus muticus* L. . Les résultats sont notés dans le tableau .

Tableau N° 17 : les différentes observations des plaques CCM

Systèmes	Naturel	UV254nm	UV365nm
1			
2			
3			
4			
5			

Systeme S1 : Acétate d'éthyle / Méthanol/ eau (10 : 1 :0.5),

Systeme S2 : Ether de pétrole / Acétate d'éthyle(8 :2),

Systeme S3 : Hexane/ Acétate d'éthyle (7 :2).

Systeme S4 : Butanol/ Acétateacitrique (4 :1 :5),

Systeme S5 : Chloroforme /Méthanol (9 :1)

Cinq systèmes de solvant ont été utilisés, les chromatogrammes résultants comportent une série de spots (tableau) et l'identification de ces spots (taches) était basée sur la comparaison des Rf ; les plaques sont visualisées avec UV254 , UV 366, dont les résultats des Rf des différents spots apparus avec les différents systèmes utilisés sont mentionnés dans le tableau ci-dessous .

Tableau N°18: Résultats de la CCM de différents extraits.

Système	L'extrait	Les taches	Rapporte frontale
S1	Ebra	Tache1	-
	Ebrm	Tache1	0.512
		Tache2	0.76
		Tache3	0.87
	EACa	Tache1	0.865
	EACm		-
S2	Ebra	Tache1	-
	Ebrm	Tache1	0.125
		Tache2	0.437
	EACa	Tache1	0.687
	EACm	Tache	-
S3	Ebra	Tache1	-
	Ebrm	Tache1	0.09
		Tache2	0.32
		Tache 3	0.92
	EACa	Tache1	0.54
		Tache2	0.585
		Tache3	0.87
	EACm	Tache	-
S4	Ebra	Tache 1	0.733
	Ebrm	Tache 2	0.4
	EACa	Tache 3	0.84
	EACm		-
S5	Ebra	Tache 1	0.73
		Tache 2	0.44
		Tache 3	0.15
	Ebrm	Tache 1	0.54
	EACa	Tache 1	0.85
		Tache 2	0.74
	EACm		-

Ebra : extrait brut de l'espèce *Hyoscyamus albus* L.

Ebrm : extrait brut de l'espèce *Hyoscyamus muticus* L.

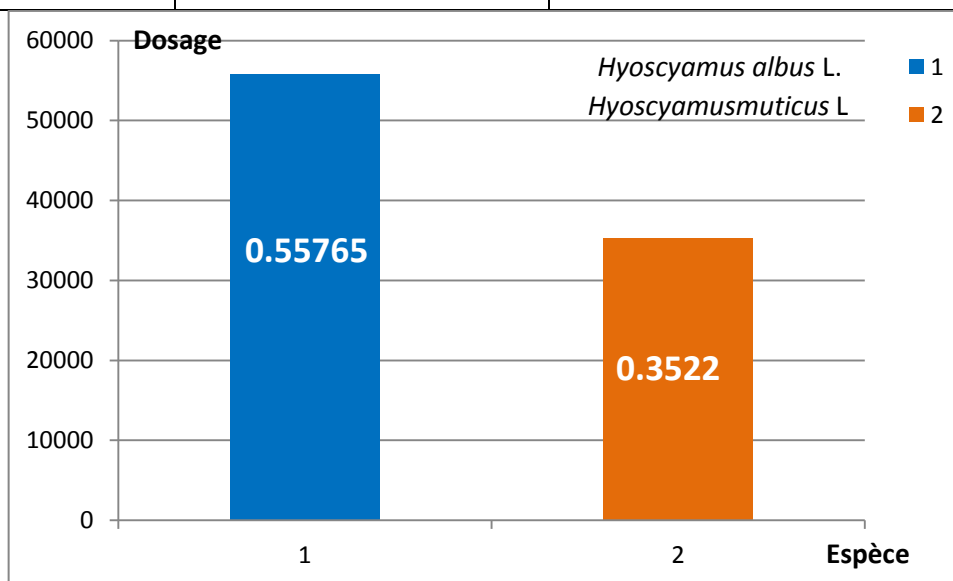
EACa : extrait Alcaloïde de l'espèce *Hyoscyamus albus* L.

EACm : extrait Alcaloïde de l'espèce *Hyoscyamus muticus* L.

Trois taches révélées par le système S4 et le système S5, dont leurs Rfs /0.4 0.8/0.7 sont, et en comparaison avec les résultats de la CCM on trouve que les spots de Rfs sont de couleur marron, vert noir

Dosage des Alcaloïdes :

L'espèce	<i>Hyoscyamus albus</i> L.	<i>Hyoscyamus muticus</i> L.
Dosage %	0.55765	0.3522



Le tableau montre les résultats de l'estimation de la quantité d'alcaloïdes totaux dans les espèces *Hyoscyamus muticus* L. et *Hyoscyamus albus* L.

Les feuilles de l' *Hyoscyamus albus* L. contiennent 0,2 à 0,56 %, d'alcaloïdes totaux composés d'hyoscyamine et de scopolamine. d'ailleurs, si les espèces à alcaloïdes sont relativement peu nombreuses dans les zones arides, dont la teneur en alcaloïde est parfois très élevée.

La variation de la teneur en alcaloïde exprimé) montre que la meilleure production et accumulation de cette substance bioactive chez la jusquiame blanche (*Hyoscyamus albus* L.) récoltée de la région d'ARRIS (W. Batna) est de 0.51% cette dernière qui se caractérise par un climat du milieu semi aride où les conditions climatiques sont les plus favorables pour avoir cette teneur. Par contre la teneur en alcaloïdes chez l'*Hyoscyamus muticus* L. est de 0.35% et cette variation peut être due aux caractéristiques spécifiques des espèces ou bien l'influence des conditions climatiques sur l'accumulation des substances actives.

De très nombreuses recherches ont été effectuées sur diverses plantes médicinales en vue de déterminer les conditions les plus favorables à l'obtention d'un rendement maximum en principe actif. Nous renvoyons pour cette question aux rapport du colloque de Wageningen en 1957 partiellement consacré à l'influence des facteurs externes ainsi qu'au des critiques de Fluck, (1955) concernant l'influence du sol et du climat sur les principes actifs des plantes médicinales(Chopra et al ,1960).

L'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des extraits (Extrait méthanolique brut, extrait alcaloïdique) de la partie aérienne des deux espèces *Hyoscyamus muticus* L. et *Hyoscyamus albus* L. est testée vis-à-vis quatre souches bactériennes via la méthode de diffusion sur l'agar.

La moyenne du diamètre d'inhibition a été calculée à partir de trois répétitions pour chaque concentration.

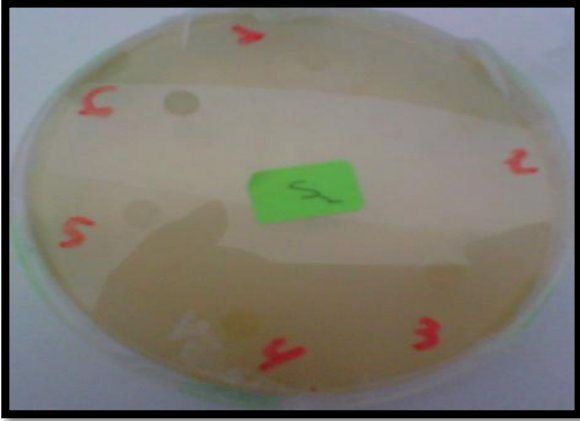



Les résultats qu'on a pu obtenu indiquent que la zone d'inhibition est différente d'un extrait à l'autre, d'une souche à l'autre.

L'aromatogramme est le résultat de l'étude de la sensibilité d'un micro-organisme aux divers extraits. Il renseigne sur les activités bactériostatiques des extraits.

La sensibilité ou la résistance de la bactérie est appréciée en mesurant autour du disque contenant l'antibiotique c'est le diamètre de la zone d'inhibition de sa croissance. Le diamètre varie avec la concentration (ou l'extrait) et le pouvoir de diffusion des antibiotiques employés (Delafontaine. P et al., 1966).

Chapitre II..... Résultats et discussion

Les résultats de l'activité antibactérienne sont illustrés dans le tableau ci-dessous

Les souches testées	Les extraits	Diamètre (mm)	Photographie
Pseudomonas aeruginosa	EMe :test(-)	-	
	Oxa :test(+)	13±1.42	
	EACa	7±1.41	
	EACm	9±0.7	
	Ebra	-	
	Ebrm	-	
Staphylococcus aureus	EMe :test(-)	-	
	Oxa :test(+)	15±0.70	
	EACa	7±2.12	
	EACm	8±0.84	
	Ebra	10±0.54	
	Ebrm	9±1.82	
<i>Staphylococcus subsp aureus</i>	EMe :test(-)	-	
	Oxa :test(+)	9±1.32	
	EACa	8±2.42	
	EACm	7±2.1	
	Ebra	-	
	Ebrm	-	
<i>Escherichia coli</i>	EMe :test(-)	-	
	Oxa :test(+)	13±0.86	
	EACa	7±1.24	
	EACm	7±2.42	
	Ebra	7±1.24	
	Ebrm	12±0.7	

Toutes les souches bactériennes testées (*Pseudomonasaeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus subspaureus*, *Escherichia coli*) se sont révélées sensibles aux extraits alcaloïdiques des deux espèces dont le meilleur diamètre de la zone d'inhibition est de (9 ± 0.7 mm) présenté par l'extrait alcaloïdique de la plante *Hyoscyamus muticus* L. contre la souche *Pseudomonas aeruginosa*.

Les souches *Staphylococcus subsp aureus* et *Pseudomonasaeruginosa* possèdent un potentiel de résistance contre l'action antibactérienne des extraits bruts des deux espèces, par contre les souches : *Staphylococcus aureus* et *E. coli* sont sensibles aux mêmes extraits.

Cette sensibilité peut s'expliquer par la probabilité de la sensibilité des bactéries Gram (+) aux changements environnementaux externes, tels que la température, le pH, et les extraits naturels due à l'absence de la membrane externe (**Balentine et al., 2006**), ainsi que les extraits bruts contiennent plus que les *alcaloïdes*, d'autres composés actifs tel que les *flavonoïdes* qui sont connus par leur grande activité antibactérienne, car il peut y avoir des effets synergiques des composés chimiques dans la plante.

L'antibiotique est également plus actifs sur les bactéries à gram positif que sur les bactéries à gram négatif (**Hogan et Kolter, 2003 ; Perry et al., 2004**).

La paroi des bactéries Gram+ est riche en protéines tandis que chez les souches Gram- elle est surtout assemblée en *lipopolysaccharides* (LPS), la membrane extérieure de ces dernières constitue une barrière de perméabilité efficace. Le LPS, grâce à ses charges négatives de surface, empêche la diffusion des molécules hydrophobes, et les protéines excluent le passage des molécules hydrophiles de poids moléculaire élevé. Alors que les bactéries Gram+ sont moins protégées contre les agents antibactériens, le peptidoglycane n'entrave que la diffusion des molécules supérieures à plus de 50 000 D (**Ousslahet et al., 2007**).

Conclusion

Conclusion

Les propriétés médicinales des plantes sont dues à des produits chimiques. Les plantes synthétisent de nombreux composés appelés métabolites secondaires dont la fonction est loin de faire l'humanité. De nombreux métabolites secondaires sont des «antibiotiques » au sens large, car ils protègent les plantes contre les champignons, les bactéries, les animaux et même les autres plantes.

Toutefois, il ne s'ensuit pas nécessairement que les mêmes composés sont aussi toxiques ou bénéfiques lorsqu'ils se trouvent dans la plante que lorsqu'ils en sont extraits, car il peut y avoir des effets synergiques des composés chimiques dans la plante.

Le screening phytochimique a révélé que la partie aérienne des deux plantes *Hyoscyamus muticus* L. et *Hyoscyamus albus* L. révèlent presque toutes les classes des métabolites secondaires, elles contiennent des flavonoïdes, des quinones, des anthraquinones, des saponosides, des tanins et des alcaloïdes sels et les coumarines.

L'étude quantitative et qualitative des extraits de deux plantes montre que la teneur en alcaloïdes totaux varie d'une espèce à l'autre et d'une région à l'autre et d'un climat à l'autre.

L'Hyoscyamus albus L. présente un taux d'alcaloïdes (0.51%) supérieur à ce présenté chez l'*Hyoscyamus muticus* L. (0.32%).

Qualitativement, L'analyse effectuée par CCM des extraits a montré leur richesse en alcaloïdes surtout l'atropine et la scopolamine.

Au cours de cette étude nous avons réalisé un test antibactérien vis-à-vis de quelques germes pathogènes, les résultats ont montré que tous les extraits alcaloïdiques testés sont actifs vis-à-vis les souches testées.

Sachant que notre pays possède une biodiversité immense et chaque plante se caractérise par un réservoir assez important de métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques particulières qui nécessitent d'être exploitées par les recherches.

Liste des Abréviations

UV: Ultra violet

g : Gramme

ml: Millilitre

H₂SO₄: Acide sulfurique

KI: Iodure de potassium

HgCl₂: Chlorure de mercure

mn: Minute

FeCl₃: Chlorure de fer

NaOH: Hydroxyde de sodium

HCl : Acide chlorhydrique

T° : Température

m/V : Masse à Volume

V/V : Volume à Volume

CH₃-OH :Methanol

CHCl₃ :Chloroforme

CH₃COCH₃ :Acétone

FeCl₃ :Chlorure ferrique

NH₄OH10% :Hydroxyde d'ammonium

AcOH :acide acétique

HydrochlorideHCl

NaOH :Hydroxyde de sodium

KOH :Hydroxyde de potassium

H₂SO₄ :acide sulfurique

Ebra : extrait brut de l'espèce Hyoscyamus albus

Ebrm : extrait brut de l'espèce Hyoscyamus muticus

EACa : extrait Alcaloïde de l'espèce Hyoscyamus albus

EACm : extrait Alcaloïde de l'espèce Hyoscyamus muticus

Liste des figures

Première partie

Chapitre II :

Figure N°1 : La voie de shikimate (Floss, 1997)

Figure N°2: La voie de phénylpropanoïde (Hoffmann *et al*, 2004)

Figure N°3 : Structure de base de flavonoïde. (**Moufouk,2008**)

Figure N°4 : Classification des tanins (Wilfred et Ralph., 2006).

Figure N°5: La biosynthèse des alcaloïdes selon (Klein ,2006).

Figure N°6: La structure de molécule d'Atropine (Arroo et al,2007)

Figure N°7: La biosynthèse des alcaloïdes tropaniques (Lei et al ;2007)

Figure N°8: La structure de molécule d'Atropine (Arroo et al,2007)

Figure N°9: La structure de Scopolamine (Alexander *et al.*, 2008).

Figure N°10: La structure de hyoscyamine (Grzegorz *et al.*, 2008).

Deuxième partie : Expérimentale

Chapitre I :

Figure N° 1: Diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gaussen de la région de Batna

Figure N°2: Situation de la wilaya de Batna dans le climagramme d'Emberger.(2004 - 2014)

Figure N°3: Diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gaussen de la région de Djanet (2004 - 2014).

Figure N°4: Situation de la Commune de Djanet (Illizi) dans le climagramme d'Emberger.(2004 - 2014)

Figure N°5: Organigramme d'étude phytochimique

Figure N°6: Organigramme de l'extraction des alcaloïdes.

Liste des tableaux

Première partie

Chapitre II :

Tableau N° 1 : Principaux acides hydroxybenzoïques (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006)

Tableau N°2: Principaux acides hydroxycinnamiques (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006)

Tableau N° 3 : Principaux types de coumarines (Macheix *et al*, 2005)

Tableau N° 4: principales classe des composés phénolique(Merghem.2009)

Tableau N°5: Principales classes des flavonoïdes (Narayana *et al*, 2001; W- Erdman *et al*, 2007)

Tableau N°6 : Les caractéristiques des souches utilisées et les principales maladies qu'ils peuvent causer chez l'homme.

Deuxième partie : Expérimentale

Chapitre I :

Tableau 01 : Données climatiques de la wilaya de Batna (2004 - 2014).

Tableau 02 : Données climatiques de la Zone de Djanet (2004 - 2014).

Chapitre II

Tableau N° 1 : Flavonoïde

Tableau N ° 2 : Photographie des résultats des flavonoïdes

Tableau N°3 : Tanins

Tableau N°4 : Photographie des résultats des tanins

Tableau N° 5: Saponosides

Tableau N°6 : Photographie des résultantes des saponosides

Tableau N°7 : Alcaloïde

Tableau N°8: Photographie des résultats des alcaloïdes

Tableau N°9 : CCM des Alcaloïdes

Tableau N°10 : Couleur et Rf des alcaloïdes observés

Tableau N°11 : Photographie des résultats des comarines

Tableau N°12 : Anthraquinones

Tableau N°13 : Photographie des résultantes des anthraquinones

Tableau N°14 : Quinones

Tableau N°15 : Photographie des résultats des quinone

Tableau N°16 : Les différentes observations des plaques CCM

Tableau N°17 : Résultats des produit séparés par CCM

Tableau N°18 : Dosage des alcaloides

Tableau N°19 : L'activité antibactérienne.

Liste des photos

Première partie

Chapitre I :

Photo N° 1: *Hyoscyamus albus* L.(visoflora ,2015

Photo N°2 : *Hyoscyamus muticus* L .(AlvarezCrus ,N.C.2008)

Photo N°3 : pseudomonas aeruginosa aureus au microscop électronique(Schroeter, 1872)

Photo N°4 : Staphylococcus aureus au microscope électronique(G,R,D,J,Wise,2004)

Photo N°5: Escherichia coli au microscope électronique(**Anonyme,2008**)

Photo N°6: Staphylococcus subsp.aureus au microscope électronique (**NCBI BioProject: bp,2007**)

Deuxième partie : Expérimentale

Chapitre I

Photo N°1 : *Hyoscyamus muticus* L.

PhotoN°2: *Hyoscyamus albus* L

Photo N°3 : Broyage de la matière végétale

Photo N°4 : Macération de la matière végétale

Photo N°5 : La filtration de l'extrait hydro-alcoolique

Photo N°6: L'obtention de l'extrait chloroformique

Photo N°7: La macération de la matière végétale (extrait éthérique)

Photo N°8 : Le développement de la CCM

Photo N°9 : Evaporateur rotatif (Rotavopor).

Photo N°10 : Dépôt d'échantillon

Photo N°11 : Développement de la plaque

Photo N°12 : Extraction des alcaloïde

Photo N°10 : L'écoulement de la milieu –Hinton dans les boites pétries

Photo N°11 : L'ensemencement des souche bactériennes

Photo N°12 : Dépôt des disque

Chapitre II :

Photo N°1 : *Hyoscyamus muticus* L.

PhotoN°2: *Hyoscyamus albus* L

Photo N°3 : Broyage de la matière végétale

Photo N°4 : Macération de la matière végétale

Photo N°5 : La filtration de l'extrait hydro-alcoolique

PhotoN°6: L'obtention de l'extrait chloroformique

Liste des photos

Photo N°7: La macération de la matière végétale (extrait éthérique)

Photo N°8 : Le développement de la CCM

Photo N°9 : Evaporateur rotatif (Rotavapor).

Photo N°10 : Dépôt d'échantillon

Photo N°11 : Développement de la plaque

Photo N°12 : Extraction des alcaloïde

Photo N°10 : L'écoulement de la milieu –Hinton dans les boîtes pétries

Photo N°11 : L'ensemencement des souche bactériennes

Photo N°12 : Dépôt des disque

Carte 1 : Situation géographique de la commune d'Arris

Carte2 : Situation géographique de la commune d'Illizi

Référence Bibliographique

- 1-Awa N.**2003. étude de l'activité antidiabétique des extraits acétoniques, méthanoliques et hexaniques de *vernonia colorata* (willd/ drake) composées chez des rats wistar. *Thèse de docteur en pharmacie*. Université Cheikh Anta Diop de Dakar.
- 2-Alexander J.,** Benford D., Cockburn A., Cravedi J. P., Dogliotti E., DiDomenico A., Féranandez-Cruz M. L., Furst P., Fink-Gremmels J., Lodovico G. C., Grand J. P., Gzyl J., Heinemeger G., Johansson N., Mutti A., Schlatter J., Van Leluwen R., Van Peteghem C., Verger P. 2008. Tropane alkaloids from *Datura* sp as
- 3-Allain P.** 1999. Pharmacologie des médicaments, CdM Edition.
- 4-Arroo R., Woolley J., Oksman-Caldentey K.M.** 2007. II.3 Henbane, Belladonna, *Datura* and *Duboisia*. *Biotechnology in Agriculture and Forestry*, Vol. 61. Barka S et Ben Attallah S, « L'effet de deux plantes médicinales sur quelques Bactéries pathogènes », Mémoire de fin d'étude d'ingénieur (université de Ouargla), 2010, P3-P13
- 5-A.CBenchehelah.Hbouziane.M.Maka.Couelés** « La fleur de sahara »(voyage ethnobotanique avec les touaregs Tassili.P214
- 6-Alibert, G. Ranjeva, R. et Boudet, M.A. (1977)**,Organisation subcellulaire des voies de synthèse des composés phénoliques. *Physiol.Veg.* 15 :pp. 279-301 Agence Nationale de Développement de l'Investissement (ANDI)-2014 ANISZEWSKI T.; 2007; *Alkaloids Secrets of Life*; Ed 1: ELSEVIER; p: 61- 88.
- 7-Bahaz M et Rachdi H,** « Quantification des principes actifs (Les composés phénoliques) de *Rhinolobus* *Lonadoides* Coss (Tichert) », Mémoire de fin d'étude d'ingénieur (université de Ouargla), 2010.
- 8-Barka S et Ben Attallah S,** « L'effet de deux plantes médicinales sur quelques Bactériespathogènes », Mémoire de fin d'étude d'ingénieur (université de Ouargla), 2010, P3-P13
- 9-Bruneton,J.**(2003).plantes thérapeutique.4^{ème}Edit. Tec. &Doc.,Lvoisier,paris.
- 10-Bougandoura, N. (2010)** Pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits d'espèces végétales *Satureja calamintha* ssp. *nepta* (nabta) et *Ajugaiva* L. (chendgoura) de l'ouest d'Algérie. Université Abou BakrBelkaid-Tlemcen, 83p.
- 11-Bruneton, J. (1999)** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème Edition. Tec & Doc (Ed). Paris, 575p.
- 12-Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales – 3ème Ed Techniques et documentations. Paris. pp: 227-310-312-313-314.494.
- 13-Bruneton J.** pharmacognosie,phytochimie, plantes médicinales. Paris , 3 ème Edition Lavoisier(2009)

Référence Bibliographique

Badiaga M. 2012. Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali. *Thèse de docteur d'université*, Mali.

14-Benarous K., « Effets des extraits de quelques plantes médicinales locales sur les enzymes:

a- amylase, trypsine et lipase », Mémoire de fin d'étude d'Ingénieur d'état en génie biologique (université Amar Telidji Laghouat), 2009.

15-Baba Arbi H., « Importance relative d'exploitation des plantes médicinales dans la pharmacopée traditionnelle à l'Est du Sahara septentrional (cas de Ouargla et Touggourt », Mémoire de fin d'étude d'ingénieur (université de Ouargla), 2010.

16-Bahaz M et Rachdi H, « Quantification des principes actifs (Les composés phénoliques) de *Rhazinolepis Lonandoides* Coss (Tichert) », Mémoire de fin d'étude d'ingénieur (université de Ouargla), 2010.

17-Becker, K., Harmsen, D., Mellmann, A., Meier, C., Schumann, P., Peters, G., & von Eiff, C. (2004). Development and evaluation of a quality-controlled ribosomal sequence database for 16S ribosomal DNA-based identification of *Staphylococcus* species. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(11), 4988-4995. doi : 10.1128/JCM.42.11.4988-4995.2004

18-Bruneton,J.(2003).plantes thérapeutique.4^{ème}Edit. Tec. &Doc.,Lvoisier,paris.

19-Conde.,silva P.,FontesN ., pires D.A.CTavares R.M., sousa,M.J., Agasse ,A., Delrot S .and H.Geros ,2007 :Biochemicl changes throughout grape berry development and fruit and wine quality.Food1:global science Books.

20-Cowan, N. M. (1999),Plant products as anti microbial agents. *Clinical microbiology Reviews*, 12,4,pp.564-582

21-Drager B. 2002. Analysis of tropane and related alkaloids. *Journal of Chromatography A*, 978; 1–35.undesirable substances in Animal feed. Scientific Opinion of the Panel on Contamination in the food Chain, pp 1-55.

22-Dixon, R.A. (2004),Phytoestrogens. *Annu. Rev. PlantBiol.* 55, pp. 225-261.

23-Emerenciano V. P., Barbosa K. O., Scotti M. T. et Ferriro M. J. P. 2007. Self organising maps in chemotaxonomic studies of Asteraceae : a classification of tribes using flavonoid data. *Journal of brazilian chemical society.*, **18** (5) : 891-899.

24-Ford Y.Y., Ratcliffe R. G., Robin R. J. 1996. In vivo NMR analysis of tropane alkaloid metabolism in transformed root and de-differentiated cultures of *Datura stramonium*. *Phytochemistry*, Vol. 43, No. 1, pp115-120.

Référence Bibliographique

- 25-Fabre R., Truhaut R.** 1961. Précis de toxicologie. Tome 2. *Société d'édition d'enseignement supérieur*, Paris, pp 379-454.
- 26-Floss H. G.** 1997. Natural products derived from unusual variants of the shikimate pathway. *Natural Product Reports.*, **14** : 433-434.
- 27-Facchini P.J., St-Pierre B.** 2005. Synthesis and trafficking of alkaloid biosynthetic enzymes. *Current Opinion in Plant Biology*, 8:657–666.
- 28-JUDD W.S., CAMPBELL C.S., KELLOGG E.A. et STEVENS P.;** 2002; Botanique Systématique: une perspective phylogénétique; Ed 1: DEBOECK; p: 84-336.
- 29-Hoffmann L., Besseau S., Geoffroy P., Ritzenthaler C., Meyer D., Lapierre C., Pollet B. et Legrand M.** 2004. Silencing of hydroxycinnamoyl coenzyme A shikimate / quinate hydroxycinnamoyltransferase affects phenylpropanoid biosynthesis. *Plant cell.*,**16** (6) : 1446-1465. Hachette ,1998.
- 30-Harborne, J.B. (1988)** The flavonoids, advances in research since 1980. Ed. Chappman et Hall. London.
- 31-Hollman J. P., L –Keen C., Mazza G., Messina M., Scalbert A., Vita J., Williamson G. et Burrowes J.** 2007. Flavonoids and heart health : Proceeding of the ILSI North America flavonoids workshop, may 31-june 1, 2005, Washington. *Journal of Nutrition.*, **137** (3 suppl) : 718 s-737 s.
- 32-Harborne, J.B., and Williams, C.A. (2000),**Advences in flavonoid research since 1992, *Phytochemistry*, 55, pp. 481-564.
- 33-Harborne, J.B., and Williams, C.A. (2000),**Advences in flavonoid research since 1992, *Phytochemistry*, 55, pp. 481-564.
- 34-Harborne, J.B. (1985),**Phenolics and plant defence; In: Van Sumere-C.F. Lea P.J. Ed. *Annual Proceedings of the phytochemical society of Europe*. Oxford: Clarendon Press, pp.393-408.
- 35-Hurabielle M., and Eberle J. (1982).** Flavonoids of *Artemisia campestris ssp. glutinosa*. *Planta Med.* **46** (2):124–125.
- 36-Hosseini N., Ebrahimi S., Salehi P., Asghari B. Ahmadi M.** 2011. Simultaneous determination of atropine and scopolamine in different parts of *Hyoscyamus arachnoideus* Pojark plants by high-performance liquid chromatography (HPLC). *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 5(15), pp. 3552-3557.
- 37-Hanming Z.; Xiaofen S.; Wansheng C.; Kexuan T. (2007).** Tropane alkaloids production in transgenic *Hyoscyamus niger* hairy root cultures over-expressing Putrescine N-methyltransferase is methyl jasmonate-dependent. *Planta* .**225**: 887–896

Référence Bibliographique

- 38-Henintsoa RAKOTOARIVELO** ,2011Contribution à l'étude phytochimique de *Datura stramonium* Linné (Solanaceae), Mémoire de Recherche pour l'obtention du Certificat d'Aptitude Pédagogique de l'Ecole Normale « C.A.P.EN», p3.4.5
- 39-Ghestem,A.**, Seguin,E.,paris,M.oreechioni,A ,M(2001),le préparteur en pharmacie2 botanique,pharmacognosie- phytothérapie –homéopathie.EditionTECetDOC.
- 40-Guignard J. L.** 2000. Biochimie végétale. 2ème édition. *Edition Dunod*, Paris, pp 198-207.
- 41-Guignard J. L., Cosson L., Henry M.** 1985. Abrégé de phyto-chimie. *Masson*, Paris, pp 175-191
- 42-Guignard J. L., Cosson L., Henry M.** 1985. Abrégé de phyto-chimie. *Masson*, Paris, pp 175-191.
- 43-Gafner, S., Wolfender, E.F., Mavi, S. and Hostettman, K. (1996)**,Antifungal antibacterial chalcones from *Myrica serrata*. *Planta Medica*, 62, pp. 67-69.
- 44-Gurib-Fakim A.**, (2006). Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow.Molecular Aspects of Medicine 27, 91-93
- 45-Khanbabae K and Ree T.R.** (2001). Tannins:Classification and Defenition. *Journal of RoyalSociety of Chemistry*. **18**: 641-649.(cited in Djemai Zoueglache S, 2008).
- 46-Kone D.** 2009. Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes –extraction identification d'alcaloïdes- caractérisation, quantification de polyphénols : étude de leur activité antioxydante. *thèse docteur de l'université de Bamako*
- 47-Kabouche Z**,2013,antibacterial activity and chimical composition of the essential oil of saturejz *clamintha* ssp .*sylvvatica* from jijel ,Algeria .Der pharmcia Lettre ,5(2):224-227.
- 48-Karaali A., Boyacioălu D., Gőnez G. et Őzçelik B.** 2004. Flavonoids in fruit and vegetables : their impact on food quality, nutrition and health–STREP or CA. European commision's the 6th framework programme for research. Istanbul technical university. Turkey.
- 49-Kening Y., Vincenzo D. L. et Normand B.** 1995. Creation of a metabolic sink for tryptophan alters the phenylpropanoid pathway and the subsceptibility of potato to *Phytophthora infestans*. *The plant cell*,**7** : 1787-1799.
- 50-Lhuillier A.**, (2007).contribution à l'étude de quatre plantes Malgaches : *Agauria salicifoli* HOOK.F EX OLIVER, *Agauria polyphylla*. BAKER (Ericaceae), *Tambourissa trichophylla* BAKER (Monomiaceae) et *Embellia conccina* BAKER (Myrsinaceae). Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse.

Référence Bibliographique

- 51-Lei Z.; Bin Y.; Beibei L.; Guoyin N.; Zinan W.; Yang X.; Ruxian D.; Hanming Z.; Xiaofen S.; Wansheng C.; Kexuan T. (2007).** Tropane alkaloids production in transgenic *Hyoscyamus niger* hairy root cultures over-expressing Putrescine *N*-methyltransferase is methyl jasmonate-dependent. *Planta* .**225**: 887–896.
- 52-La phytothérapie de A à Z. la santé par les plantes. (2005).Edition Alpen, pp. 1-4.M
- 53-MAKKAR H.P.S., SIDDHURAJU P. et BECKER K.; 2007;** Plant Secondary Metabolites, *Methods in Molecular Biology* 393; Ed: HUMANA PRESS; p: 67-111.
- 54-Macheix J J., Fleuriet A. et Jay-Allemand C. 2005.** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed Presses polytechnologiques et universitaires romandes. p4-5.
- 55-Markakis, P. (1982),**Anthocyanins as food colors. Ed. Academic Press. New York.
- 56-Moufouk, S. (2008)** Etude des métabolite secondaire de *Centaurea Pubescens* ssp. *omphalotricha* , Université Hadj Lakhdar, Batna,61 p.
- 57-Merghem R. 2009.** Elément de biochimie végétale, 1ère édition. *Edition Bahaeddine*, pp 149-158.
- .58-M C N A I R , J. B . " The taxonomic and climatic distribution of alkaloids ", *Butt. Torreybot. Cl*, 1935, 62, 219-226.**
- 59-Murray, P. R., Baron, E. J., Jorgensen, J. H., Landry, M. L., Pfaller, M. A., & Tenover, R. C. (Eds.). (2003).** *Manual of Clinical Microbiology* (8th ed.). Herdon, VA, United States of America : American Society for Microbiology.
- 60-Mabkhota M et Younsi W** « caractérisation et activité antibactérienne des.2005
- 61-Narayana K. R., Reddy M. S., Chaluvadi M. R. et Krishna D. R. 2001.** Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian journal of pharmacology.*, **33** : 2-16.
- 62-Nitsch, J.P. et Nitsch, C. (1961),**Synergistes naturels des auxines et des gibberellines. *Bull. Soc. Fr.* 26 : pp.2237-2240.
- 63-Paris M et Hurabielle. (1981).** Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie. Tome 1. Ed Masson. Paris.pp: 102-103-104-107.
- 64-Paris M., Hurabielle M. 1981.** Abrégé de matière médicale (pharmacognosie). Tome 1. *Masson*, Paris, pp256-284.
- 65-PARIS et G. DILLEMANN PARIS et G. DILLEMANN LES PLANTES MÉDICINALES DES RÉGIONS ARIDES.1960.**
- 67-Roland,J.C.(2002)**Des plantes et des hommes,F75647cedex3,109p.
- 68-Rozier, J Bolnot, V .Carlier. Bases Microbiologique de l'hygiène des Aliments .Maison**

Référence Bibliographique

Alfort paris .1985 .

69-Sarni-Manchado P. et Cheynier V. 2006. Les polyphénols en agroalimentaire. Ed Lavoisier. p2- 10.

70-Urquiaga I. et Leighton F. 2000. Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. *Biological Research.*, **33** (2) : 55-64.

71-Vilain,M.(1989) la production végétal la maitrise technique de la production volume1TcC&Doc

72-Wilfred .V et Ralph .N. (2006). Phenolic compound biochemistry Ed Springer .USA. 24p.

73-WALTON N.J. et BROWN D.E.; 1999; Chemical from Plants: Perspectives on plant secondary products; Ed: WORLD SCIENTIFIC; p: 1-14.

Brown JH, « Theobald Smith 1859-1934 », *J Bacteriol*, vol. 30, no 1, 1935, p. 1–3 2009

74-Wilaya de Batna : répartition de la population résidente des ménages ordinaires et collectifs, selon la commune de résidence et la dispersion Données du recensement général de la population et de l'habitat de 2008 sur le site de l'ONS.

75-W –Erdman J., Balentine J. D., Arab L ., Beecher G., Dwyer J. T., Folts J., Harnly.

76-Zenk H., Juenger M. 2007. Evolution and current status of the phytochemistry of nitrogenous compounds. *Phytochemistry* 68; 2757-2772.

Le site :

1-<https://sites.google.com/site/medicinalesplantes/historique-des-plantes-medicinales>

2-<http://bacmap.wishartlab.com/organisms/608>

المراجع باللغة العربية

عطيات احمد فرح .(1995).النباتات الطبية والعطرية في الوطن العربي .الطبعة الاولى .المؤسسة العربية للدراسات النشر. ص: 56-78

هيكل محمد س .(1993) النباتات الطبية و العطرية. كميأؤها. انتاجها وفوائدها، الطبعة الثانية، منشأة المعارف الاسكندرية. ص: 34-120.

مجاهد احمد محمد.(2001) علم البيئة النباتية. الطبعة الثانية. النشر العلمي والمطابع. المملكة العربية السعودية.ص9

Résumé :

Les plantes médicinales sont considérées comme une source très importante des métabolites secondaires et donc des molécules bioactives. Les solanacées sont riches en alcaloïdes.

Notre étude comparée entre deux espèces *hyoscyamus albus* L. et *Hyoscyamus muticus* L. récoltées de deux régions de climat défère respectivement Ariss wilaya de Batna, Djanet wilaya de Illizi

Le screening phytochimique a révélé que les parties aérienne des deux plantes *Hyoscyamus muticus* L. et *Hyoscyamus albus* L. révèlent presque toutes les classes des métabolites secondaires, elles contiennent des flavonoïdes, des quinones, des anthraquinones, des saponosides, des tanins, les coumarines et des alcaloïdes sels.

L'étude quantitative et qualitative des extraits de deux plantes montre que la teneur en alcaloïdes totaux varie d'une espèce à l'autre et d'une région à l'autre et d'un climat à l'autre.

L'*Hyoscyamus albus* L. présente un taux d'alcaloïdes (0.51%) supérieur à ce présenté chez L'*Hyoscyamus albus* L. (0.32%).

Au cours de cette étude nous avons réalisé un test antibactérien vis-à-vis de quelques germes pathogènes, les résultats ont montré que tous les extraits alcaloïdiques testés sont actifs vis-à-vis les souches testées. *Escherichia coli* , *Staphylococcus subsp aureus*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Mots clés :

Hyoscyamus albus L
Hyoscyamus albus L
Alcaloïde
Activité anti bactérienne
CCM.
Screening

Summary :

Medicinal plants are considered a very important source of secondary metabolites and therefore bioactive molecules. Solanaceae are rich in alkaloids.

Our comparative study between two species *Hyoscyamus albus* L. and *Hyoscyamus muticus* L. harvested two climate regions respectively defers Ariss wilaya of Batna wilaya of Djanet Illizi.

The phytochemical screening revealed that aerial parts of the plants two *Hyoscyamus muticus* L. and *Hyoscyamus albus* L. reveal almost all classes of secondary metabolites they contain flavonoids, quinones, anthraquinones, saponins, tannins, and coumarins salts alkaloids.

The quantitative and qualitative study of extracts from two plants shows that the total alkaloid content varies from one species to another and from one region to another and from one climate to another.

The *Hyoscyamus albus* L. presents alkaloid levels (0.51%) higher than that presented in the *Hyoscyamus muticus* L. (0.32%).

In this study we performed an antibacterial test vis-à-vis some pathogens, the results showed that all tested alkaloid extracts are active vis-à-vis the strains tested. *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* subsp, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Keywords:

Hyoscyamus albus L
Hyoscyamus muticus L
Alkaloid
Anti-bacterial activity
CCM.
Screening