



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine

Faculté des Science de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة

كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم الكيمياء الحيوية و البيولوجية الخلوية و الجزئية

Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

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

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Filière : Science biologique

Spécialité : Biochimie Moléculaire et Santé

Intitulé :

---

Essais bio-guidés du percolât de *Cinnamomum zeylanicum*

---

Présenté et soutenu par :

Le : 15/06/2016

BENALILECHE Meryem ET BENALILECHE Yamina

Jury d'évaluation :

Président du jury : Pr. KHELIFI Douadi

Rapporteur : Dr. MOUAS Toma Nardjes

Examineur : Dr. BELLIL Ines

Année universitaire

2015-2016

# Remerciements

*Nous tenons tout d'abord à remercier **DIEU tout puissant**, qui en son nom et avec sa protection, nous avons réussi à réaliser ce travail.*

*Nous souhaitons remercier Madame **Mouas Toma Nardjes** pour nous avoir accueilli au sein du département de Biochimie de l'Université des Frères Mentouri pour effectuer ce travail de recherche et le valoriser au mieux.*

*Nous remercions les professeurs **Khlelifi. D** professeur à l'université des Frères Mentouri Constantine et **BELLIL. Ines** docteur à l'université des Frères Mentouri Constantine de nous faire l'honneur de juger ce travail.*

*Un merci bien particulier adressé également à **Monsieur Khlelifi. D**, professeur à l'université Frères Mentouri, Constantine, pour nous avoir accueillies dans son laboratoire GBBV.*

*Nous adressons nos sincères remerciements à tous les professeurs, intervenants et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé nos réflexions jusqu'à l'obtention du diplôme de master.*

*Nous finissons par remercier nos chers parents pour l'aide qu'ils nous ont apporté tout au long de notre vie.*

**BENALILECHE MERYEM**

**BENALILECHE YAMINA**

## *Dédicace*

*J'ai l'honneur de dédie ce modeste travail tous d'abord :*

*À mes très chers parents qui m'ont soutenue et encouragés durant toute la période de mes études et à qui je souhaite une longue et heureuse vie « un grand merci pour tout ».*

*Avec très grande joie à mon cher mari Zaki, à qui je souhaite la bonne santé et plus de réussites ensemble.*

*À mes chers sœurs : Lamia, Meriem, Loubna et leurs maris et leurs petits enfants : Yasmine, Hiba, Hadil, Zin Eldine, Aissa Abd Elmoumen, Zakaria Abd Elrahman, douaà.*

*À mes frères :*

*\*Mesbah, sa femme Nadjette et leurs enfants : Ahlem, Alaà edine, Fatima Elzohra.*

*\* Mohamed, sa femme Hadjer et son fils : Yahiya*

*\* Mourad, Elbahi .*

*À mes grands pères et grandes mères.*

*À toute ma famille paternelle Benalileche et maternelle Boukhamla.*

*À ma chère amie et ma sœur : Meryem.*

*À mes amies : Hakima, Racha, Leila, Fatima, Asma, Khadidja, et mes amies d'université : Hiba, Amina, Sara et Ahlem.*

*À tous mes enseignants depuis le primaire Jusqu'à l'université.*

*En fin, à tous ceux qui m'aime.*

**YAMINA**

## *Dédicace*

*Je dédie ce modeste mémoire :*

*À mes très chers parents en remerciant Dieu de les  
avoir protégé pour être témoins de ma réussite.*

*À mes frères : Mohamed et Adem.*

*À ma sœur : Asma et son mari Salah et ma sœur Maroua qui ont été un  
soutien morale généreux et précieux pendant toutes mes années d'études.*

*À tous mes vraies amies : Yamina, Rayane, Hadjer, Ahlem, Hiba, Amina,  
Sara, qui ont répandues présentes à chaque fois que j'avais besoin  
d'elles.*

*À toute la famille BENALILECHE ET REBEHI*

Meryem

Sommaire.....	I
Abréviation.....	I
Liste des Figures.....	I
Liste des Tableaux.....	I
<b>Introduction.....</b>	<b>1</b>

## CHAPITRE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Origine Historique de la Cannelle .....	3
2. Caractéristiques de la Plante .....	4
2.1. Origine Géographique de Cannelle de Ceylan .....	4
2.2. Taxonomie .....	5
2.3. Aspect botanique de <i>Cinnamomum Zeylanicum</i> .....	5
2.3.1. Description .....	5
2.3.2. Parties Utilisées.....	8
3. Aspects Phytochimiques .....	8
3.1. Feuilles.....	8
3.2. Ecorce.....	9
4. Aspects Pharmacologiques.....	9
5. Travaux Antérieurs.....	11
6. Méthodes d'Analyses .....	11
6.1. Etude Phytochimique.....	11
6.1.1. Collecte.....	11
6.1.2. Séchage.....	12
6.1.3. Extraction .....	12
7. Essais Bio-guidés .....	14
8. Les métabolites Secondaires .....	15
8.1. Composés Phénoliques .....	15
8.2. Les flavonoïdes .....	18
8.3. Les anthocyanes.....	19
8.4. Les tanins .....	19
8.5. Les saponines.....	20
9. Etudes Physico-chimiques .....	21
9.1. Extraction Liquide-Liquide.....	21
9.2. Profile Chromatographique .....	21

9.2.1. Chromatographie sur Couche Mince (CCM).....	21
9.2.2. Spectrométrie UV-Visible .....	23
10. Technique d'Etude de l'Activité Antimicrobienne .....	23
10.1. L'antibiogramme .....	23
10.2. L'aromatogramme .....	23
10.3. Méthode de Dilution.....	24
10.4. Méthode du Puits ou Cylindre.....	24
11. Les Microorganismes Testés.....	24
11.1. Bactérie Gram (+).....	24
11.2. Bactérie Gram (-).....	25
11.3. Champignons.....	27

## CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

1. Matériel d'étude.....	28
1.1. Matériel Végétal.....	28
1.2. Matériel Biologique.....	28
1.3. Matériel de Laboratoire.....	29
2. Méthode d'étude.....	29
2.1. Extraction .....	29
2.1.1. Broyage.....	29
2.1.2. Extraction par Soxhlet .....	30
2.1.3. Evaporation .....	30
2.2. Purification du <i>Cinnamomum zeylanicum</i> .....	31
2.2.1. Extraction liquide-liquide .....	31
2.2.2. Criblage par Chromatographie liquide sur couche mince .....	32
2.3 Identification et quantification des métabolites secondaires dans les extraits de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> .....	33
2.4. L'application biologique .....	35
2.4.1. Technique d'étude de l'activité antimicrobienne de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> .....	35
2.4.2. Protocole de l'étude de l'activité antimicrobienne de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> .....	35
2.4.2.1 Préparation des dilutions.....	35
2.4.2.2 Ensemencement des souches microbiennes .....	36
2.4.2.3 Application des extraits végétales sur les disques .....	36

**CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION**

1. Purification de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> .....	37
1.1. Extraction.....	37
1.1.1 Broyage.....	37
1.1.2. Extraction par Soxhlet .....	37
1.1.3 Evaporation.....	37
1.2. Purification de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> .....	38
1.2.1. Extraction liquide-liquide .....	38
1.2.2 Criblage de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> par CCM.....	38
2. Analyse qualitative et quantitative du percolât de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> .....	41
2.1 Analyse par la Spectrophotométrie UV-Vis.....	41
3. Evaluation de l'activité antimicrobienne du <i>Cinnamomum zeylanicum</i> .....	44
4. Antibiogramme.....	55
CONCLUSION GENERALE .....	56
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE .....	57
ANNEXE .....	65
ABSTRACT .....	71
الملخص .....	72
RESUME.	

AlCl <sub>3</sub>	Le chlorure d'aluminium
CCM	chromatographie sur couche mince
D	distances
DMSO	diméthylsulfoxyde
DO	densité optique
E.coli	Escherichia coli
FeCl <sub>3</sub>	Folin-ciocalteu
H <sub>3</sub> PW <sub>12</sub> O <sub>4</sub>	acide phosphotungstique
H <sub>3</sub> PMO <sub>12</sub> O <sub>4</sub>	acide phosphomolybdique
Kleb	Klebsiella
MH	mueller Hinton
ml	Millilitre
mm	Millimètre
Mo <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	Molybdène
Nm	Nanomètre
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Sulfate de sodium
Rf	rapport frontale
Sp	Species
SM	Solution mère
C.z	Cinnamomum zeylanicum
T	Témoin
UV	ultrat violet
%	Pourcentage
°C	degré Celsius
CMI	concentration minimale d'inhibition
E.Ch	Extrait chloroformique
E.A.E	Extrait d'Acetate d'Ethyle
E.B	Extrait 1.Butanol

<b>Figure N°1 :</b> Feuilles de Cannelier de Ceylan ( <i>Cinnamomum zeylanicum</i> ) .....	6
<b>Figure N°2 :</b> Fleurs de Cannelier de Ceylan ( <i>Cinnamomum zeylanicum</i> ) .....	6
<b>Figure N°3 :</b> Fruit de Cannelier de Ceylan ( <i>Cinnamomum zeylanicum</i> ) .....	7
<b>Figure N°4:</b> Bâtonnets d'écorce de Cannelier de Ceylan .....	7
<b>Figure. N°5 :</b> Quelques phénols et acides phénoliques.....	17
<b>Figure N°7:</b> Acide coumarique.....	18
<b>Figure N°8 :</b> Flavonoïde.....	18
<b>Figure N°9:</b> Anthocyanidines: pélagonidine (R=H),cyanidine (R=OH).....	19
<b>Figure N°10 :</b> Tanin.....	20
<b>Figure N°11 :</b> Saponine.....	21
<b>Figure N° 12:</b> Exemple d'élution en CCM.....	22
<b>Figure N° 13 :</b> Broyage de cannelle.....	29
<b>Figure N°14 :</b> Extraction par Soxhlet.....	30
<b>Figure N°15:</b> Evaporation de l'extrait brut .....	31
<b>Figure N°16:</b> Extraction liquide-liquide.....	31
<b>Figure N°17:</b> Protocole d'extraction.....	32
<b>Figure N°18:</b> CCM des extraits de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> .....	33
<b>Figure N°19 :</b> Dosage des phénols totaux.....	34
<b>Figure N°20:</b> Dosage des flavonoïdes totaux.....	35
<b>Figure N°21:</b> La gamme des dilutions pour chaque extrait.....	36
<b>Figure N°22:</b> Ensemencement des souches microbiennes sur boites de pétries.....	36
<b>Figure N°23 :</b> Les plaques CCM après développement, avant et après visualisation par la lampe UV pour les différents extraits.....	39
<b>Figure N°24:</b> Dosage des phénols.....	41
<b>Figure N°25:</b> Analyse des phénols par le spectrophotomètre.....	42
<b>Figure N°26:</b> Droite d'étalonnage de l'acide gallique.....	42
<b>Figure N°27:</b> Dosage des flavonoïdes.....	43
<b>Figure N°28</b> Analyse des flavonoïdes par le spectrophotomètre.....	43
<b>Figure N°29 :</b> Droite d'étalonnage de la quercétine .....	44
<b>Figure N°30:</b> Effet de l'E.Ch sur <i>Staphylococcus aureus</i> .....	46
<b>Figure N° 31:</b> Effet de l'E.Ch sur <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	46

<b>Figure N°32</b> : Effet de l'E.Ch sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	46
<b>Figure N°33</b> : Effet de l'E.Ch sur <i>Citrobacter freundii</i> .....	46
<b>Figure N° 34</b> : Effet de l'E.Ch sur <i>Escherichia coli</i> .....	46
<b>Figure N°35</b> : Effet de l'E.Ch sur <i>Enterobacter aerogenes</i> .....	47
<b>Figure N°36</b> : Effet de l'E.Ch sur <i>Acinetobacte rbaumannii</i> .....	47
<b>Figure N°37</b> : Effet de l'E.Ch sur <i>Pseudomonas aeruginosa.1</i> .....	47
<b>Figure N°38</b> : Effet de l'E.A .E sur <i>Enterobacter aerogenes</i> .....	49
<b>Figure N°39</b> : Effet de l'E.A .E sur <i>proteus</i> .....	49
<b>Figure N°40</b> : Effet de l'E.A .E sur <i>Kleb pneumoniae</i> .....	50
<b>Figure N°41</b> : Effet de l'E.A .E sur <i>Pseudomonas aeruginosa2</i> .....	50
<b>Figure N°42</b> : Effet de l'E.A .E sur <i>Citrobacter freundii</i> .....	50
<b>Figure N° 43</b> : Effet de l'E.A .E <i>Pseudomonas aeruginosa3</i> .....	50
<b>Figure N°44</b> : Effet de l'E.A .E sur <i>Le candida albicans</i> .....	50
<b>Figure N° 45</b> : Effet de l'E.B sur <i>proteus SP</i> .....	52
<b>Figure N°46</b> : Effet de l'E.B sur <i>Pseudomonas aeruginosa1</i> .....	52
<b>Figure N°47</b> : Effet de l'E.B sur <i>Citrobacter freundii</i> .....	52
<b>Figure N°48</b> : Effet de l'E.B sur <i>Enterobacter aerogenes</i> .....	52
<b>Figure N° 49</b> : Effet de l'E.B sur <i>Kleb pneumoniae</i> .....	53
<b>Figure N° 50</b> : Effet de l'E.B sur <i>Pseudomonas aeruginosa2</i> .....	58
<b>Figure N°51</b> : Effet de l'E.B sur <i>Le candida albicans</i> .....	58
<b>Figure N°52</b> : soxhlet NS 45/40 PRECISO WITEG GERMANY 100ML.....	69
<b>Figure N°53</b> : Schéma de l'extracteur Soxhlet.....	69
<b>Figure N°54</b> : Rotavapor BUTCHI de type R II.....	70
<b>Figure N°55</b> : Protocole d'extraction liquide-liquide à l'ampoule à décanter.....	71
<b>Figure N°56</b> : La lampe UV de type UVSL-58.....	72
<b>Figure N°57</b> : Le spectrophotomètre UV, JENWAY 6300 BIOCHIMIE (RDC)....	73
<b>Figure N°58</b> : l'étuve MEMMENT.....	47

<b>Tableau N°1:</b> Taxonomie de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> .....	5
<b>Tableau N°2:</b> Les propriétés des feuilles de Ceylan © Books of Dante – novembre 2014.....	6
<b>Tableau N°3:</b> Les propriétés des écorces de Ceylan © Books of Dante – novembre 2014 .....	8
<b>Tableau N°4:</b> Les nutriments d'une portion de cannelle.....	10
<b>Tableau N°5:</b> Ensemble des solvants nécessaires aux extractions végétales, chacun en fonction de sa polarité.....	13
<b>Tableau N° 06:</b> Les principales classes de composés phénoliques .....	16
<b>Tableau N°7:</b> Les systèmes solvant utilisées.....	33
<b>Tableau N°8:</b> L'extraction de ( <i>Cinnamomum zeylanicum</i> ).....	38
<b>Tableau N°9:</b> Choix des systèmes solvant pour l'élution en CCM .....	40
<b>Tableau N°10:</b> La concentration des phénols par rapport de l'acide gallique .....	45
<b>Tableau N°11:</b> La concentration des flavonoïdes par rapport de la quercétine.....	47
<b>Tableau N°12:</b> L'activité antimicrobienne de ( <i>Cinnamomum zeylanicum</i> ) avec le chloroforme.....	45
<b>Tableau N°13:</b> L'activité antimicrobienne de ( <i>Cinnamomum zeylanicum</i> ) avec l'acétate d'éthyle.....	49
<b>Tableau N°14:</b> L'activité antimicrobienne de ( <i>Cinnamomum zeylanicum</i> ) avec le 1-butanol.....	52
<b>Tableau N° 15:</b> Les résultats de l'antibiogramme.....	55

# **INTRODUCTION**

La phytothérapie ou soins par les plantes a retrouvé ces dernières décennies un regain d'intérêt considérable, portée par les recettes connues des herboristes et les expériences des guérisseurs, qui constituaient déjà une grande source de connaissances ainsi que la pharmacognosie qui présente aujourd'hui une plateforme essentielle pour les pharmacopées modernes et la médecine.

En effet, les plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments, elles sont considérées comme source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments **(Maurice, 1997)**.

Malgré son ancienneté, l'étude de la chimie des plantes connaît toujours un grand essor, cela tient principalement au fait que le règne végétal représente une source importante d'une immense variété de molécules bioactives. Cette matière végétale contient un grand nombre de molécules qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie alimentaire, en cosmétologie et en pharmacie. Parmi ces composés on retrouve, les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tannins, les terpènes et les flavonoïdes **(Bahorun et al., 1996)**. Les polyphénols par exemple, sont doués de plusieurs vertus thérapeutiques, ils jouent un rôle très important, principalement, dans la lutte contre les cancers, les maladies cardiovasculaires et la peroxydation lipidique, cela explique leur grande utilisation dans la fabrication des médicaments. Ils interviennent aussi dans la protection des plantes contre les différentes attaques microbiennes (surtout fongiques) risquant de causer la perte d'une grande quantité de végétation **(Bruneton, 1999)**.

Ainsi, l'évaluation des propriétés phytopharmaceutiques, antioxydante et antimicrobienne demeure une tâche très intéressante et utile, en particulier pour les plantes d'une utilisation rare ou moins fréquente ou non connue dans la médecine traditionnelle. Ces plantes représentent une nouvelle source de composés actifs **(Teixeira da Silva, 2004)**.

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre travail à savoir l'étude du genre (*Cinnamomum zeylanicum*) et d'estimer la teneur de cette espèce végétale en composés actifs essentiels, et d'en évaluer le pouvoir biologique *in vitro* ; car d'après une récente étude ethnobotanique menée au laboratoire GBBV, cette espèce n'est utilisée en Algérie que dans le domaine culinaire sauf dans la région de Constantine où elle est aussi connue en médecine traditionnelle pour ses vertus thérapeutiques .

Pour mener à bien nos objectifs, nous nous sommes consacrées dans ce mémoire à présenter un screening du contenu et de la richesse en métabolites secondaires de différents extraits de notre plante, leur identification ainsi que leur quantification afin de les soumettre à des essais bioguidés, pour l'évaluation de leur potentiel antimicrobien. Pour se faire nous avons divisé notre mémoire en trois grandes parties :

- Une première partie bibliographique qui portera sur des notions d'histoire et d'origine de *Cinnamomum zeylanicum*, les travaux phytochimiques et pharmacologiques antérieures, les principes des méthodes de criblage et quantification utilisées, ainsi que les souches microbiennes testées.
- Une deuxième partie matériel et méthodes où nous établirons les différents protocoles nécessaires à : l'extraction, la purification, l'identification, la quantification, et enfin l'évaluation du spectre antimicrobien comparé à celui d'un antibiogramme.
- Une troisième partie qui discutera les résultats obtenus, tout en les commentant, afin d'aboutir à une conclusion générale sur cette première approche d'étude, tout en projetant d'autres perspectives de recherche pour l'avenir.

**REVUE  
BIBLIOGRAPHIQUE**

## 1- Origine historique de la cannelle :

Plusieurs civilisations se sont épanouies principalement en Egypte, au Moyen-Orient, en Inde et en Chine grâce à l'utilisation des plantes à des fins médicinales. Au cours des siècles, leur utilisation s'est développée et même devenu de plus en plus élaborée.

Connue depuis plus de 4500 ans, la Cannelle fait partie des épices renommées les plus anciennes. Outre son rôle de condiment, la « Casse » (synonyme français de la Cannelle de Chine), est déjà utilisée dans son pays d'origine la Chine pour ses propriétés médicinales au début du 3ème millénaire avant notre ère. L'exportation de la Cannelle est courante à cette époque et emprunte le chemin de la route de la soie, Babylone faisant office de plaque tournante de ce négoce. Une fois dans le bassin méditerranéen, ce sont les phéniciens qui reprennent à leur compte le commerce de la cannelle.

Chaque année, les commerçants asiatiques prennent la mer en Inde avec un chargement d'épices à destination de l'Arabie. Cette entreprise est quelque peu hasardeuse dans la mesure où ces commerçants n'ont pour seul moyen de transport des radeaux sans gouvernail ni voiles. Par conséquent, beaucoup de ces expéditions échouent. Toutefois, cette forme de négoce va perdurer pourtant jusqu'au XVIIIème siècle.

Les Grecs et les Romains emploient déjà les deux sortes de Cannelle, qu'ils utilisent entre autre pour aromatiser le vin. De plus, les égyptiens l'associent à l'aloès, la myrrhe et à d'autres substances pour l'embaumement des cadavres ou dans la confection d'essence de Cannelle, de parfums et plus tard dans celle de l'huile sainte (<http://nature.jardin.free.fr>).

Avec la diversification des voies commerciales pendant le Moyen Age, le volume des importations de nouvelles plantes exotiques a augmenté. Le négoce de la Cannelle échoue dans les mains de différentes nations européennes, parmi lesquels les Portugais et les Hollandais qui réussirent à en maintenir le prix élevé.

En Europe, la Cannelle est une épice de luxe prisée, que l'on apprécie également en Pharmacopée, notamment pour soigner les maladies du foie et les angines de poitrine. Certains patients qui en possèdent, l'utilisent dans l'hypocras (boisson tonique faite de vin sucré dans lequel on fait infuser de la cannelle, du gingembre et des clous de

girofle), d'autres, portent sur eux des petites boites remplies d'aromates – dont la Cannelle – pour se préserver des maladies contagieuses.

Cet engouement est justifié par Chamberland, en 1887, qui atteste selon lui que trois essences ont « à la fois le plus grand pouvoir antiseptique, soit qu'elles agissent par leurs vapeurs, soit qu'elles agissent en solution, ce sont celles de cannelle de Ceylan, de cannelle de Chine, d'Origan » (Valnet, 1990).

## 2- Caractéristiques de la plante :

En dehors de son origine historique et culturelle, la Cannelle a aussi une origine et une situation géographique bien spécifiques, de par son origine nous retiendrons deux appellations :

A - Cannelle de Chine : *Cinnamomum cassia*.

B - Cannelle de Ceylan : *cinnamomum zeylanicum*.

Dans notre étude nous nous sommes intéressées à la Cannelle de Ceylan : *cinnamomum zeylanicum* identifiée comme telle par l'herboriste qui nous l'a fourni.

### 2.1- Origine géographique de la cannelle de Ceylan :

Originaire du Sri Lanka et du sud de l'Inde, la Cannelle de Ceylan (*Cinnamomum zeylanicum*) pousse dans les forêts tropicales de Ceylan, de l'Inde orientale, de Java, de Madagascar... jusqu'à 500 mètres d'altitude. Elle est cultivée de manière intensive dans toutes les régions tropicales, notamment aux Philippines et aux Antilles. On la multiplie par bouturage et, tous les deux ans, à la saison des pluies, on taille les arbrisseaux au ras du sol. L'écorce est récoltée sur les nombreux rejets et mise à fermenter pendant 24 heures. L'écorce interne peut alors être séparée de l'écorce externe (Encyclopédie des Plantes Médicinales, 2001).



## 2.2. Taxonomie :

D'un point de vue étymologique, le nom générique du Cannelier de Ceylan vient du grec « kinnamômou » ou « kinnamomon » qui désigne cette Lauracée aromatique, « Kinein » signifiant enroulé, et « Zeylanicum » désignant son origine de Ceylan. (tab n°1).

**Tableau N°1 - Taxonomie de *Cinnamomum zeylanicum***  
D'après Presl (1825)

<b>Règne</b>	Plante
<b>Sous-règne</b>	<i>Tracheobionta</i>
<b>Division</b>	<i>Magnoliophyta</i>
<b>Classe</b>	<i>Magnoliopsida</i>
<b>Sous-classe</b>	<i>Magnoliidae</i>
<b>Ordre</b>	<i>Laurales</i>
<b>Famille</b>	<i>Lauraceae</i>
<b>Genre</b>	<i>Cinnamomum</i>
<b>Nom binominal</b>	<i>Cinnamomum zeylanicum</i>

## 2.3. Aspect botanique de *Cinnamomum zeylanicum* :

### 2.3.1. Description :

Le Cannelier de Ceylan est aussi appelé « Arbre à cannelle », ou nommé par les anglophones « Cinnamon ». Son nom latin est : *Cinnamomum zeylanicum* Nees, synonymes *Cinnamomum verum* Presl., *Cinnamomum aromaticum* J.Grah. « L'Arbre à cannelle » est un arbre au tronc droit de 10 à 15 m, toujours vert, avec une écorce grisâtre en dehors, rougeâtre au-dedans (**Encyclopédie des Plantes Médicinales, 2001**). Son port est arrondi et dense. Il possède un feuillage persistant, aromatique, vert brillant au revers plus clair et glauque.

Les feuilles sont longues (15 cm) lisses, simples, coriaces, opposées de 10 à 18 cm de large et de 4 à 5 cm de long, ovales à lancéolées, marquées de trois nervures plus claires. Les jeunes pousses sont rouge vif (Figures n°1).



**Figure N°1 :** Feuilles de Cannelier de Ceylan (*Cinnamomum zeylanicum*)

**Tableau N°2 :** Les propriétés des feuilles de Cannelier de Ceylan

© Books of Dante – novembre 2014

	<b>Cannelier de Ceylan «feuilles»</b>
<b>Partie végétale Utilisée</b>	Feuilles
<b>Couleur</b>	jaune ambré
<b>Odeur</b>	poivrée, typique du clou de girofle
<b>Rendement</b>	0,4 à 0,8 %
<b>Densité</b>	1,05

Les fleurs sont blanches à jaune pâle et ont une odeur désagréable. Elles sont groupées en panicules terminales à l'aisselle des feuilles. La fleur est petite, tubulaire unisexuée à corolle évasée et à six lobes arrondis et duveteux (Figure N°2).



**Figure N°2:** Fleurs de Cannelier de Ceylan (*Cinnamomum zeylanicum*).

Le fruit est une baie charnue enserrée dans une cupule rigide, pyriforme (1,5 – 2 cm), vert foncé virant à maturité au pourpre – rouge marron. Il n'est pourvu que d'une seule graine (Figure N°3).



**Figure N°3** : Fruit de Cannelier de Ceylan (*Cinnamomum zeylanicum*).

La croissance du Cannelier de Ceylan est moyenne et l'arbre peut atteindre six à dix mètres de hauteur. Le sol sablonneux est son terrain de prédilection et le Cannelier nécessite de la chaleur, de l'humidité pour bien se développer et préfère les emplacements au soleil ou légèrement à l'ombre.

Dans les plantations, les arbres sont taillés tous les deux ans, pour les forcer à drageonner. Ces drageons sont démasclés. La partie interne de l'écorce est récupérée puis séchée, au séchage elle reprend une forme tubulaire. La récolte s'effectue durant la saison des pluies en mai/juin et octobre/novembre (<http://nature.jardin.free.fr>).

Les bâtonnets de *Cinnamomum cassia* sont facilement différenciables par rapport à ceux de *Cinnamomum zeylanicum* car ils sont plus fins, plus sombres et plus ternes. D'un point de vue du goût, les bâtonnets de la Cannelle de Chine sont plus piquants, moins sucrés et légèrement plus amères que ceux du Cannelier de Ceylan (Figure N°4) (<http://botanical.com>).



**Figure N°4** : Bâtonnets d'écorce de Cannelier de Ceylan (*Cinnamomum zeylanicum*).

**Tableau N°3 : Les propriétés des écorces de Ceylan.**  
© Books of Dante – novembre 2014

	<b>Cannelier de Ceylan «écorce»</b>
<b>Partie végétale Utilisée</b>	Ecorce
<b>Couleur</b>	jaune clair à rougeâtre
<b>Odeur</b>	épicée, chaude, suave, sucrée
<b>Rendement</b>	0,2 à 0,4 %
<b>Densité</b>	1,03

### 2.3.2. Partie utilisée :

C'est l'écorce intérieure des nouvelles pousses, lorsqu'elles ont la taille d'un doigt, que l'on exploite tous les deux ans. Les fragments d'écorce, séchés, sont emboîtés, pour constituer les petits cylindres vendus dans le commerce (**Valnet, 1990**). L'écorce interne est utilisée dans diverses préparations. On la distille pour en extraire l'huile essentielle (**Encyclopédie des Plantes Médicinales, 2001**).

L'huile de Cannelle (*Cinnamomum zeylanicum*, *Cinnamomum verum*) : 60 kg de feuilles donnent, après distillation à la vapeur d'eau, 1 kg d'huile essentielle de Cannelle.

150 kg d'écorce séchée donnent, après distillation à la vapeur d'eau, 1 kg d'huile essentielle d'écorce de Cannelier.

### 3. Aspects phytochimiques :

D'après (**Jean Valnet, 1990**) le Cannelier de Ceylan (*Cinnamomum zeylanicum*) est très riche en nombreux composants qu'ils subdivisent en 2 parties :

#### 3.1. Feuilles :

- Phénols (eugénol 70-90%, isoeugénol, phénol, 2-vinylphénol)
- Esters (acétate d'eugényle 5%, benzoate de benzyle 1-5%, acétate d'eugényle 1-5%..)
- Sesquiterpènes (beta-caryophyllène 2-7%, alpha-humulène 0-2%, alpha-ylangène 0-1%)
- Alcools phénolés (alcool cinnamique 0-8%, cinnam-alcool, alcool benzylique)
- Aldéhydes aromatiques (méthoxycinnamaldéhyde 0-6%, cinnamaldéhyde 0-2%)
- Dioxydes (safrol 0-3%)
- Cétones : aucune

Furanocoumarines : aucune (**Gedane - [www.gedane.com](http://www.gedane.com)**).

### 3.2. Ecorce :

- Aldéhydes aromatiques (cinnamaldéhyde 30-80%, hydroxy-cinnamaldéhyde, benzaldéhyde, cuminaldéhyde)
- Phénols (eugénol 1-35%)
- Alcools monoterpéniques (linalol 2-10%, alpha-terpinéol, terpinène-4-ol)
- Sesquiterpènes (beta-caryophyllène 0-6%, alpha-humulène 0-2%, copaène 0-1%)
- Acides (acide cinnamique 2-3%)
- Pyranocoumarines (coumarine 0-1%)
- Cétones : aucune
- Furanocoumarines : aucune (**Secrets et Vertus des Plantes Médicinales, 1985**).

### 4. Aspects pharmacologiques :

Du fait du grand nombre de ses propriétés, la Cannelle est indiquée dans un grand nombre de pathologies ou de désordres organiques et fonctionnels.

En usage interne, elle est indiquée dans l'asthénie, les courbatures fébriles, la grippe, les affections dues au refroidissement et les syncopes. En Inde comme en Europe, la Cannelle est utilisée pour « réchauffer » l'organisme en cas de refroidissement, souvent en association avec le gingembre. Elle stimule la circulation, notamment périphérique (doigts et orteils).

- Mais elle est aussi employée dans les désordres intestinaux de toute sorte comme : les infections intestinales (choléra), l'atonie gastrique, les digestions lentes, les parasites intestinaux, les spasmes digestifs, les colites spasmodiques et les diarrhées.
- La plante peut favoriser l'arrivée des règles. En Inde, elle est utilisée comme contraceptif après l'accouchement. Elle peut être indiquée aussi dans les métrorragies, et les hémoptysies.

Elle était autrefois, très recommandée en saisons froides aux mélancoliques, aux insuffisants digestifs, aux vieillards.

En usage externe, la Cannelle est utilisée pour combattre la pédiculose, la gale et soigner les piqûres de guêpe et les morsures de serpent.

Les manières d'utiliser la Cannelle sont diverses et variées. Il est possible d'utiliser la Cannelle en usage interne sous différentes formes:

- En infusion d'écorce à la dose de 8 à 15 grammes par litre d'eau.

- En poudre à la dose de 0,50 g à 2 g par jour, en cachets.
- Sous forme d'eau distillée de Cannelle : 10 à 50 g en sirops ou en potions.
- En Teinture au 1/5 : 1,50 à 10 g en sirops ou en potions.
- Sous forme de vin chaud sucré avec de la Cannelle, dans les refroidissements, courbatures fébriles, états grippaux.
- sous forme d'essence : 2 à 3 gouttes, 2 fois par jour, dans du miel (dose moyenne : 0,05 à 0,30 g).
- Contre la grippe : 0,5 cc toutes les 2 heures
- Contre le choléra : 5 à 10 gouttes toutes les ½ heures
- En usage externe, la Cannelle peut s'utiliser, associée à d'autres essences, dans les mélanges pour inhalations (affections des voies respiratoires) (Valnet, 1990).

La cannelle est une source de :

- **Manganèse** : La cannelle moulue est une bonne source de manganèse. Le manganèse agit comme cofacteur de plusieurs enzymes qui facilitent une douzaine de différents processus métaboliques. Il participe également à la prévention des dommages causés par les radicaux libres.
- **Fer** : La cannelle moulue est une source de fer pour l'homme seulement, les besoins de la femme étant supérieurs à ceux de l'homme. Chaque cellule du corps contient du fer, ce minéral est essentiel au transport de l'oxygène et à la formation des globules rouges dans le sang. Il joue aussi un rôle dans la fabrication de nouvelles cellules, d'hormones et de neurotransmetteurs (messagers dans l'influx nerveux). (Santé Canada. *Fichier canadien sur les éléments nutritifs*, 2005.)

**Tableau N° 4:** Les nutriments d'une portion de cannelle

Poids/volume	Cannelle moulue, 2 g (5 ml)
Calories	6
Protéines	0,1 g
Glucides	1,9 g
Lipides	0,1 g
Fibres alimentaires	1,3 g

## Travaux antérieurs :

Les études scientifiques modernes confirment les usages traditionnels de la cannelle et ses principes actifs et ajoutent d'autres propriétés pharmacologiques: les extraits aqueux et hydro-alcooliques présentent un effet antidépresseur (**Emamghoreishi et Ghasemi, 2011**); antiasthmatique par diminution de l'inflammation pulmonaire et/ou la réaction allergique (**Kandhare et al., 2013**); antifongique, antibactérien et antioxydant (**Senhaji et al., 2005; Shan et al., 2005; Singh et al., 2007**); effet antiparasitaire sur les poux humains et leurs œufs (lentes) (**Yang et al., 2005**); antiviral (**Zhuang et al., 2009**); cytotoxique sur des cellules cancéreuses humaines et provoque l'arrêt de la croissance de cellules leucémiques (**Unlu et al., 2010; Sudan et al., 2013; Schoene et al., 2009**); protection des dommages oxydatifs et inflammatoires induits par les radiations gamma (**Azab et al., 2011**); protecteur gastrique antiulcéreux (**Rafatullah et al., 2011**); analgésique (**Arzi et al., 2011**); anti-arthrite et anti-inflammatoire sans effet ulcérogène (**Vetal et al., 2013**); le cinnamaldéhyde est un antidiabétique potentiel par voie orale en agissant comme hypoglycémiant et hypolipidémiant (**Subash Babu et al., 2007**); l'extrait aqueux agit aussi comme antidiabétique (**Abd El. Rahman et al., 2010**).

En usage vétérinaire l'huile est antibactérienne contre certains germes responsables de la mastite (mammite) qui est l'inflammation des glandes mammaires (**Fratini et al., 2014**). L'huile extraite par CO<sub>2</sub> supercritique prévient le brunissement enzymatique et par conséquent c'est un bon conservateur des aliments (**Marongiu et al., 2007**). De plus l'huile possède un effet herbicide et protecteur des cultures contre les insectes et les champignons (**Tworowski, 2002; Dayan et al., 2009**) et un effet insecticide sur les charançons nuisibles des graines en stocks (**Viteri Jumbo et al., 2014**).

## 6. Méthodes d'analyses :

### 6.1. Etude phytochimique :

#### 6.1.1. Collecte :

Dans l'objectif de réaliser une étude phytochimique, les quantités des items à analyser doivent être importantes. En effet, même si les molécules responsables des

activités ont un effet puissant, leur concentration dans l'extrait brut est le plus souvent très faible et l'élucidation structurale nécessite plusieurs milligrammes de la molécule active. Photos, herbiers en duplicate, et dessins doivent accompagner la récolte afin de faciliter l'identification botanique et de pouvoir éventuellement suivre la production des molécules intéressantes. **(Harbone, 1998).**

### **6.1.2. Séchage :**

Après réduction en fragments de la partie de plante récoltée permettant un séchage optimal, les items récoltés sont placés sur des étagères ajourées permettant la circulation de l'air à l'abri impératif du soleil, des insectes et des rongeurs à une température inférieure à 35 °C. Les plantes doivent être retournées pour éviter les moisissures d'abord plusieurs fois par jour puis au moins tous les jours jusqu'à séchage complet. Un séchage complémentaire peut être réalisé dans des étuves ventilées.

### **6.1.3. Extraction :**

Les échantillons séchés sont broyés puis extraits et la solution filtrée correspond à l'extrait brut. Les solvants d'extraction (méthanol, acétate d'éthyle, eau...) sont choisis en fonction du type de molécules qu'on souhaite isoler ou du protocole d'extraction systématique comparative des activités biologiques des différentes parties de plantes étudiées. Les solutions obtenues sont évaporées à sec sous vide et les extraits bruts sont stockés à l'abri de la lumière et à une température inférieure à 4 °C.

✓ **Choix des solvants :**

**Tableau n° 5:** Ensemble des solvants nécessaires aux extractions végétales, chacun en fonction de sa polarité.

<i>Solvants</i>	<i>Caractère Hydrophile - Hydrophobe</i>	<i>Classe chimique</i>
Solvants polaires - Eau - Méthanol - Ethanol Solvants moyennement Polaires : - Isopropanol - Acétonitril - Dichloromethane - Chloroforme - Acetate d'éthyle Solvants apolaires - Ether éthylique - Hexane - Ether de pétrole		Substances très polaires - Alcaloïdes, sels - Oses et osides - Heterosides Flavonoïdes Heterosides - Tanins - Acides Aminés Substances moyennement polaires - Flavonoïdes aglucones - Saponines aglucones Alcaloïdes bases Huiles essentielles Substances apolaires - Quinones - Carotenoïdes - Stérols - Acides gras - Hydrocarbures

✓ **Les différentes techniques d'extraction :**

- **La filtration.** Elle date de la préhistoire et permet, par exemple, au travers d'un lit de sable ou de mousse de rendre une eau boueuse limpide.
- **Le pressage.** Par exemple, il s'agit d'exercer une pression sur une orange pour obtenir le jus, ou d'écraser des fleurs pour extraire les arômes comme le faisaient les égyptiens.

• **La décoction.** On place la racine ou l'écorce d'une plante dans de l'eau froide ; le tout est porté à ébullition et les constituants se dissolvent dans l'eau. Cette méthode est très ancienne.

• **L'enfleurage.** Les fleurs fragiles (violette ou jasmin)<sup>13</sup> sont posées sur des châssis enduits de graisse animale très pure et inodore qui absorbe le parfum des fleurs au contact ; en fin de séchage, les graisses sont imprégnées de substances odorantes que l'on extrait avec de l'alcool.

• **L'infusion.** On verse de l'eau bouillante sur les feuilles ou les fleurs finement hachées puis on les laisse tremper pour dissoudre les principes actifs. Le thé en est un exemple.

• **La macération.** Une substance séjourne à froid dans un solvant organique pour en extraire les constituants solubles dans ce solvant.

• **Entraînement à la vapeur ou hydro-distillation.** Les parfums de la plante (huiles parfumées ou huiles essentielles) sont entraînés par de la vapeur d'eau. Cette technique date de l'Egypte ancienne.

• **Extraction par Soxhlet :**

L'extraction par Soxhlet est une méthode simple permettant de répéter infiniment le cycle d'extraction avec du solvant frais jusqu'à l'épuisement complet du soluté dans la matière première. L'extraction continue jusqu'à l'épuisement de la matière solide chargée dans la cartouche. La séparation du solvant de l'extrait est faite à l'aide de l'appareil appelé Rotavap (**Voir l'annexe**).

## 7. Essais bio-guidés :

Le principe d'un essai bioguidé est de tester les extraits bruts sur différentes cibles biologiques (cellules, parasites, bactéries, champignons, virus...) à plusieurs concentrations afin si possible de déterminer la dose nécessaire inhibant la croissance de 50 % des parasites ou des cellules (dite « Concentration Inhibitrice 50 », CI50). La comparaison de leur activité à celle de substances de références pour cette cible permet ainsi de sélectionner les extraits bruts les plus actifs et qui seront soumis à un fractionnement bio-guidé afin de déterminer la ou les molécules responsables de l'activité biologique.

## 8. Les métabolites secondaires :

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées (**Macheix *et al.*, 2005**).

En effet, à côté des métabolites primaires classiques (glucides, protéines et lipides), les végétaux accumulent fréquemment des métabolites dits « secondaires » dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais qui représente une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire (**Herbert, 1989**).

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.

### 8.1. Composés phénoliques :

Bien qu'étant très diversifiés, ils ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles.

Les composés phénoliques sont une classe constituée de 8000 composés.

Ils constituent un groupe de substances variées et ubiquistes. En font partie les flavonoïdes, les tanins les dérivés phénylpropanoïdes tels que les lignanes, les esters et amides hydroxybenzoïques, les stilbènes, les coumarines, les acides hydroxybenzoïques, les xanthones et de nouveaux composés sont identifiés continuellement (**Marouf, 2000; Hopkins, 2003; Georgé *et al.*, 2005**).

- **Les principales classes de composés phénoliques :**

Les composés phénoliques peuvent être regroupés en de nombreuses classes (Tableau 06) qui se différencient d'abord par la complexité du squelette de base (allant d'un simple C<sub>6</sub> à des formes très polymérisées). Ensuite par le degré de modification de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation et de méthylation, etc.). Enfin par les liaisons possibles de ces molécules de base avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines, etc.) (**Herbert, 1989; Macheix *et al.*, 2005; Beta *et al.*, 2005**). Les formes phénoliques les plus simples présentent des structures chimiques allant de simple phénol en C<sub>6</sub> aux flavonoïdes en C<sub>15</sub> et à des molécules proches.

**Tableau N°6:** Les principales classes de composés phénoliques  
(Harborne, 1980; Macheix *et al.*, 1990).

Squelette Carboné	Classe	Exemple	Origine
C6	Phénols simples	Catéchol	
C6 - C1	Acides hydroxybenzoïques	<i>p</i> -Hydroxybenzoïque	Epices, fraise
C6 - C3	Acides hydroxycinnamiques Coumarines	Acides caféique, férulique Scopolétine, esculétine	Citrus Citrus
C6 – C4	Naphtoquinones	Juglone	Noix
C6 –C2 – C6	Stilbènes	Resvératrol	Vigne
C6 –C3 – C6	Flavonoïdes · Flavonols · Anthocyanes · Flavanols · Flavanones Isoflavonoïdes	Kaempférol, quercétine Cyanidine, pélargonidine Catéchine, épicatechine Naringénine Déidzéine	Fruits, légumes, fleurs Fleure, fruit, rouges Pomme, citrus raisin Soja, pois
(C6 – C3)2	Lignanés	Pinorésinol	Pin
(C6 – C3) n	Lignines		Bois, noyau des fruits
(C15) n	Tannins		Raisin rouge, Kaki

➤ **Les phénols :**

Les phénols simples sont rares dans la nature (catéchol, phloroglucinol **1**...). Les acides phénols sont des dérivés de l'acide benzoïque **2** (composés en C6-C1) tels que l'acide gallique **3** élément constitutif des tanins hydrolysables ou de l'acide cinnamique (composés en C6-C3) comme l'acide caféique **4** qui sont souvent estérifiés.

L'artichaut (*Cynara scolymus* L., Asteraceae) ou encore le romarin (*Rosmarinus officinalis* L. Lamiaceae) contiennent des esters de l'acide caféique **4**. L'acide chlorogénique **5**, ester de l'acide quinique, largement présent dans le règne végétal, et qui a des propriétés proches de celles des tanins.



**Fig. n°5 :** Quelques phénols et acides phénoliques

Ils ont généralement des actions antiseptiques, antibactériennes et antihelminthiques. Le plus simple est le phénol (antimicrobien) présent dans l'huile de thym. Il y a aussi l'acide salicylique (aspirine), on le trouve dans l'écorce du saule blanc et la reine des près. Les acides phénoliques ont une action anti-oxydante et protectrice contre les maladies cardiovasculaires et le cancer. D'autres phénols sont analgésiques, anti-inflammatoires, hypocholestérolémiant, hypotensifs, anticoagulants, antiallergiques, hypotensifs et hépatoprotecteurs (<http://www.maplante.com/>).

#### ➤ Les coumarines :

Les coumarines sont des 2H-1-benzopyran-2-ones, lactones des acides *ortho*-hydroxy-Z-cinnamiques. Près d'un millier d'entre elles ont été décrites, et si les plus simples sont très largement distribuées dans le monde végétal, les plus complexes sont surtout décrites chez les Apiaceae et les Rutaceae. Les coumarines sont fréquemment hydroxylées en position 7 et ces hydroxyles peuvent être méthylés ou engagés dans une liaison hétérosidique.

L'esculoside **6**, présent dans l'écorce du Marronnier d'Inde, est considéré comme vasculoprotecteur et veinotonique ; c'est le principe actif de médicaments antihémorroïdaires.

La prénylation du noyau benzénique des coumarines aboutit à la formation de furano et pyranocoumarines. Elles sont responsables de la phototoxicité (entraîne une sensibilisation lorsqu'elle est exposée à la lumière ou au rayonnement solaire comme œdème, rougeur et une inflammation) de certaines espèces végétales (Apiaceae ou Rutaceae), qui se manifeste par une dermatite aiguë. Le bergaptène **7** est d'ailleurs utilisé dans le traitement du psoriasis, et certaines coumarines sont aussi utilisées dans les

produits solaires, la coumarine est aussi antimicrobienne, antifongique, anticoagulante et antispasmodique (<http://www.maplante.com/>).

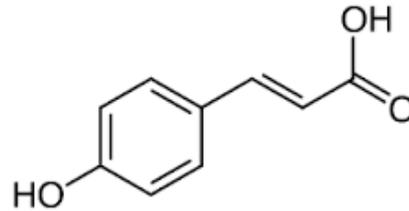


Figure N°7 : Acide coumarique

## 8.2. Les flavonoïdes :

L'ensemble des flavonoïdes de structure générale en C<sub>15</sub> (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>) comprend à lui seul plusieurs milliers de molécules regroupées en plus de dix classes (**Harborne, 1980**).

Ces composés existent sous forme d'hétérosides (**Heller *et al.*, 1998**) dont certains ont une très grande importance biologique et technologique: les anthocyanes pigments rouge ou bleu, les flavones et les flavonols de couleur crème ou jaune clair, les flavanes dont les produits de condensation sont à l'origine d'un groupe important de tanins et les isoflavones qui jouent un rôle dans la santé humaine (**Macheix *et al.*, 2005; Medic-saric *et al.*, 2004**)

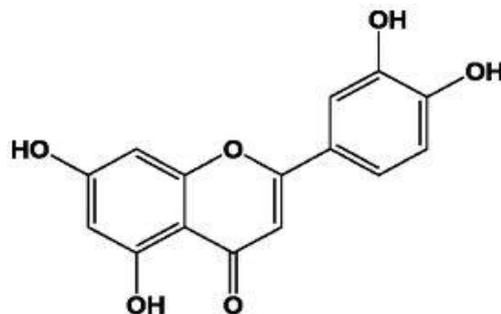


Figure N° 8 : Flavonoïde

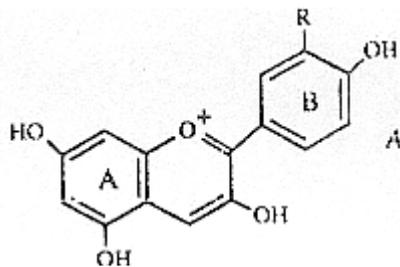
Leur action antioxydante a un effet bénéfique sur le cœur et la circulation, fortifiant et réparant les parois des vaisseaux sanguins et accroissant la résistance au stress. Ils sont anti-inflammatoires, hépatoprotecteurs, antitumoraux, antiviraux et hypotensifs. Les plantes riche en flavonoïdes comme le kaempférol, la myricitine et la quercitrine protègent contre les affections cardiovasculaires et traitent les problèmes

vasculaires tels que l'insuffisance veineuse, les ecchymoses, les hémorroïdes et le saignement nasal. (<http://www.maplante.com/>).

### 8.3. Les anthocyanes:

Le terme « anthocyanes » a une valeur générale désignant, soit les formes naturelles glycosylées, soit les molécules non glycosylées (**Macheix, 2005**).

Chez les anthocyanes, en plus de la position 3 qui est toujours glycosylée, il y a aussi préférentiellement la position 5 qui est aussi glycosylée



**Figure N° 9:** Anthocyanidines: pélagonidine (R=H),cyanidine (R=OH)

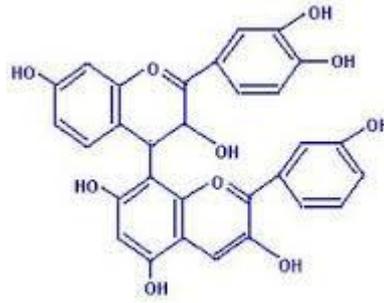
Les anthocyanes sont caractérisés par leurs propriétés antioxydantes, elles sont favorables à notre santé et notamment en ce qui concerne le vieillissement cellulaire : elles améliorent l'élasticité et la densité de la peau. Les anthocyanes évitent aussi les rougeurs en renforçant la résistance des petits vaisseaux sanguins de l'épiderme, améliorent la vision nocturne et l'acuité visuelle en général (<http://www.espritsante.com/>).

### 8.4. Les tanins :

Il est classique de distinguer deux grands groupes de tanins, différents à la fois par leur réactivité chimique et par leur composition (**Haslam, 1989**).

- Les tanins hydrolysables: ce sont des esters de glucose et d'acide gallique (**Guignard, 2000**). Ils sont d'abord caractérisés par le fait qu'ils peuvent être dégradés par l'hydrolyse chimique (enzymatique). Ils libèrent alors une partie non phénolique (souvent du glucose) et une partie phénolique qui peut être soit de l'acide gallique, soit un dimère de ce même acide – l'acide éllagique (**Guignard, 2000**).

- Les tanins condensés: ce sont des oligomères ou des polymères de flavane-3 ol dérivés de la (+) catéchine ou de ses nombreux isomères (**Harborne, 1980; Awika & Rooney, 2004**). Ils ont la propriété de coaguler les protéines du derme, d'où leur utilisation dans le tannage des peaux (**Guignard, 2000**).



**Figure N°10 : tanin**

Ils représentent le plus grand nombre de polyphénols. Elles sont connues pour leurs propriétés astringentes, antioxydantes et cardiovasculaires. (<http://www.maplante.com/>).

### 8.5. Les saponines :

Les saponines constituent un vaste groupe d'hétérosides très fréquents chez les végétaux. Ils se caractérisent par des effets tensio-actifs leur conférant la propriété de former des solutions moussantes lorsqu'ils sont dissous dans l'eau. Ils peuvent être classés en deux groupes selon la nature de leur génine qui peut être stéroïdique ou triterpénique. Les génines stéroïdiques possèdent un squelette en C27 et six cycles. Les saponosides stéroïdiques sont rencontrés dans de nombreuses plantes, mais ils sont aussi caractéristiques des étoiles de mer.

Certains ont servi pendant un temps à la synthèse des stéroïdes (diosgénines des *Dioscorea*), ainsi, la sarsapogénine, provenant de l'hydrolyse du sarsaparilloside, a été utilisée comme matière première de synthèse des stéroïdes.

Les saponosides jouent un rôle de défense du végétal contre les pathogènes microbiens. Les interactions mises en jeu avec les stérols de la membrane ont pour conséquence des propriétés hémolytiques de certaines molécules. Elles sont toxiques pour les animaux à sang froid et en particulier pour les poissons et les mollusques. Certaines drogues à saponosides sont utilisées pour leurs propriétés antitussives (rhizome de la réglisse), mais aussi anti-oedémateuses (cotylédons de la graine de Marronnier d'Inde) ou encore analgésiques (*Platycodon grandiflorum*). Les plantes contenant des saponines peuvent dissoudre les parois des globules rouges, si bien qu'on ne doit jamais les injecter dans le sang. Prises oralement, elles sont à peine absorbées à travers un intestin intact et favorisent la digestion et l'absorption des minéraux tels que le calcium et le silicium. Certaines comme le marronnier d'Inde, ont une action bénéfique sur les parois des

vaisseaux sanguins, d'autres ralentissent la coagulation du sang, diminuent la glycémie et le mauvais cholestérol. Certaines, dont la verge d'or et la prêle, sont diurétiques. D'autres, comme le bouillon-blanc sont expectorantes. Plusieurs, par exemple le ginseng de Corée et la réglisse, ont des effets hépatoprotecteurs et immunomodulateurs. (<http://www.maplante.com/>).

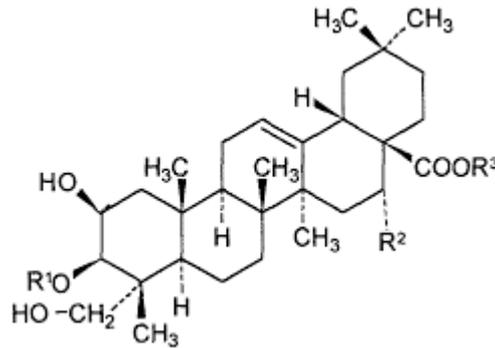


Figure N°11: Saponine

## 9. Etudes physico-chimiques :

### 9.1. Extraction liquide-liquide:

L'extraction liquide-liquide est une méthode de purification qui repose sur la différence d'affinité d'un soluté entre deux phases liquides non miscibles, on utilise habituellement une phase aqueuse et une phase organique.

On choisit, lorsque cela est possible, un solvant d'extraction dans lequel le soluté est très soluble. Les extractions multiples sont plus efficaces que l'extraction simple pour un même volume de solvant. (**Voir annexe**).

### 9.2. Profil chromatographique :

#### 9.2.1. Chromatographie sur couche mince (CCM) :

La chromatographie est une méthode physique de séparation dans laquelle les composés à séparer ; elle est basée sur les différences d'affinité des substances à l'égard de deux phases, l'une stationnaire ou fixe (usuellement du gel de silice, de l'oxyde d'aluminium ou de la cellulose) à laquelle on ajoute souvent un pigment fluorescent pour

permettre une détection des produits à la lumière ultraviolette à 254 nm ou 366 nm , l'autre mobile se déplace dans une direction définie. La CCM est une technique considérée comme technique très pratique vu l'économie de solvant et d'échantillons réalisés en même temps que l'obtention de plusieurs informations sur la composition chimique des extraits et les conditions opératoires optimisées (GRIFFITHS, 1958).

On dépose sur la phase fixe une petite quantité du mélange à séparer et on met cette phase au contact de la phase mobile. La phase mobile migre de bas en haut, par capillarité, le long de la phase fixe en entraînant les constituants du mélange. C'est le phénomène d'élution, qui permet la séparation des constituants du mélange à analyser.

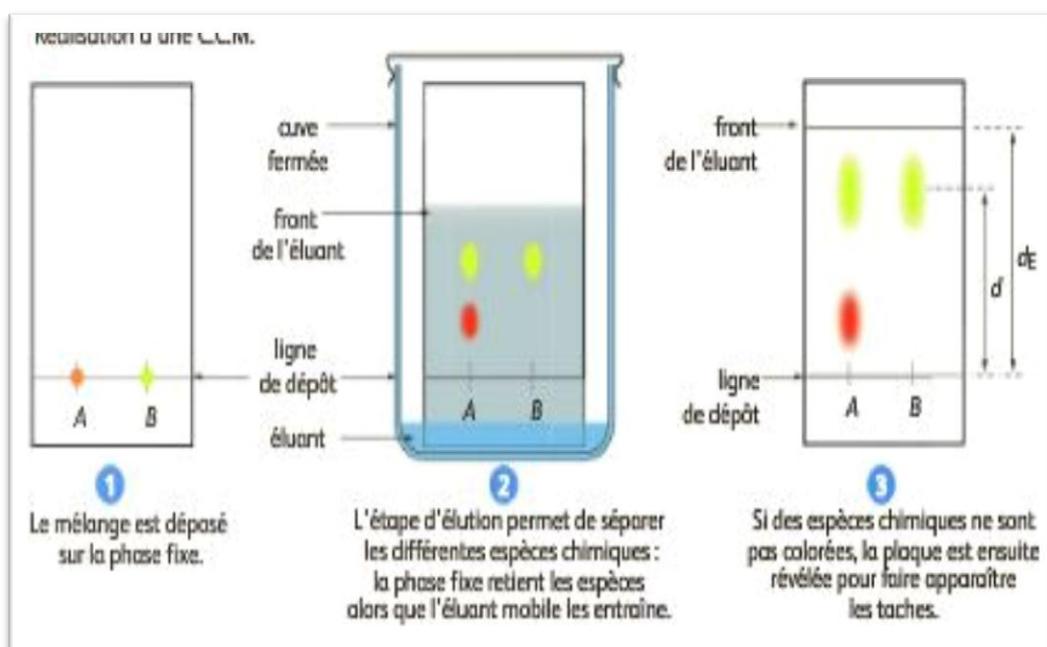


Figure N° 12 : Exemple d'élution en CCM

Chaque constituant migre d'une certaine hauteur, caractéristique de la substance, que l'on appelle rapport frontal ou rétention frontale (Rf) :

$$Rf = \frac{\text{Distance entre l'origine (le dépôt) et la tache du produit A}}{\text{Distance entre l'origine (le dépôt) et le front du solvant B}}$$

Chaque tache correspond à un constituant et on l'identifie par comparaison du Rf avec un témoin (une même substance migre à la même hauteur dans des conditions opératoires identiques; même Rf). (<http://eduscol.education.fr/>).

### 9.2.2. Spectrométrie UV-Visible :

La spectroscopie d'absorption dans l'UV et le visible est une méthode très commune dans les laboratoires. Elle est basée sur la propriété des molécules d'absorber des radiations lumineuses de longueur d'onde déterminée.

✓ UV-visible s'étend environ de 800 à 10 nm.

- Visible: 800 nm (rouge) - 400 nm (indigo)
- proche-UV : 400 nm - 200 nm
- UV-lointain : 200 nm - 10 nm.

## 10. Technique d'étude de l'activité antimicrobienne :

Les activités antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis l'antiquité. Toutefois, il aura fallu attendre le début du XXe siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser. Ces propriétés sont dues d'après (Caillet *et al.*, 2007 ; Bouaoun, 2000) à la fraction des métabolites secondaires contenue dans les plantes.

Les méthodes utilisées pour évaluer l'activité antimicrobienne *in vitro* sont nombreuses et donnent parfois des résultats différents selon les conditions expérimentales adoptées par chaque manipulateur (Suhr et Nielsen 2003).

### 10.1. L'antibiogramme :

Un antibiogramme est une méthode d'analyse qui a pour but de déterminer la concentration minimale d'inhibition (CMI) de la croissance bactérienne face à un ou plusieurs antibiotiques. Elle peut se faire en milieu liquide (dans une culture bactérienne liquide) ou en milieu solide (sur une boîte de pétri gélosée) en ajoutant une concentration connue d'antibiotique. La CMI est la concentration ne permettant aucune croissance bactérienne. ([www.futura-science.com](http://www.futura-science.com)).

### 10.2. Aromatogramme:

L'aromatogramme est une méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode des disques. Le contact se fait par l'intermédiaire du disque de papier sur lequel

on dispose une quantité donnée des extraits de plante. Cette méthode a l'avantage de s'appliquer à un très grand nombre d'espèces bactériennes, et d'avoir été largement évaluée par 50 ans d'utilisation mondiale (**Fauchère et Avril, 2002**). L'aromatogramme se réalise aussi sur un milieu liquide par la méthode des disques (**Belaiche, 1979**).

### **10.3. Méthode de dilution :**

Les produits à tester peuvent également être directement mélangées en concentration connue au milieu de culture, qu'il soit solide ou liquide sans oublier que les techniques de dilutions exigent une dispersion homogène. Le milieu est ensuite inoculé à un taux déterminé de microorganismes et après incubation on note la présence ou l'absence de culture; la lecture peut être visuelle ou spectrophotométrique car le degré d'inhibition est en rapport avec la turbidité du milieu (**Ferhat, 2004**)

### **10.4. Méthode du puits ou cylindre :**

Proposée par **Cooper et Woodman en 1946**, reprise par **Shroder et Messing en 1949**, elle mesure une diffusion radiale de métabolites secondaires à partir d'un puits en donnant une zone d'inhibition claire et facilement mesurable. Elle consiste à découper un tronc circulaire vertical dans la gélose et d'y verser une solution d'huile essentielle de concentration connue. L'huile essentiel diffusant radialement crée une zone d'inhibition circulaire à la surface de la gélose préalablementensemencée avec la suspension bactérienne ou fongique. (**Bousbia, 2004**).

## **11. Les microorganismes testés :**

### **11.1. Bactérie Gram (+) :**

#### **❖ *Staphylococcus aureus***

Les espèces *Staphylococcus aureus* sont des cocci à Gram positif, de forme sphérique, avec un diamètre de 0.8 à 1  $\mu\text{m}$ . Elles sont regroupées en diplocoques ou en petits amas (grappe de raisin). Ce type de bactéries sont immobiles, asporulés, habituellement sans capsule. De nombreuses souches de *Staphylococcus aureus* produisent un pigment jaune doré (**Patrick et al., 1988**). *S. aureus* est la cause de méningite, ostéomyélite et de diarrhée (**Steven et al. 2004**).

## 11.2. Bactérie Gram (-) :

### ❖ *Escherichia coli* :

*Escherichia coli* est un bacille à gram négatif (**Patrick et al ., 1988**), de forme non sporulée, mobile, (**Steven et al., 2004**). Les bactéries *E. coli* constituent la majeure partie de la flore microbienne aérobie du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux. Certaines souches sont capables de déclencher des infections spontanées des voies digestives ou urinaires ou bien encore des méningites néo-natales. D'autres souches appartiennent à la flore commensale peuvent être responsables d'infections opportunistes variées, surtout chez les sujets aux défenses immunitaires affaiblies (**Patrick et al. 1988**).

### ❖ *Pseudomonas aeruginosa*

Les espèces *Pseudomonas aeruginosa* sont des bacilles à Gram négatif, ces bactéries fines sont de 1.5 à 3 µm de long et 0.5 à 0.8 µm de large. Elles sont mobile. *P. aeruginosa* ne forme ni spores ni sphéropastes. Elle est responsable de 10 % de l'ensemble des infections nosocomiales, occupant le 3<sup>ème</sup> rang après *E. coli* et *S. aureus*, mais le 1<sup>er</sup> rang pour les infections pulmonaires basses et le 3<sup>ème</sup> rang pour les infections urinaires (**Richard et Kiredjian., 1995**).

### ❖ *Klebsiella pneumoniae* :

*Klebsiella pneumoniae* agent de pneumopathies aiguës, d'angines et d'otites, parfois retrouvée dans les infections urinaires nosocomiales (**Madigan et Martinko, 2007**). Ce genre causal de la pneumonie bactérienne présente une virulence liée à la capsule de polysaccharides qui permet à la bactérie d'adhérer aux voies respiratoires et de les coloniser. La production de la capsule fait aussi obstacle aux défenses de l'hôte en perturbant la phagocytose (**Perry et al., 2004**).

### ❖ *Acinetobacter baumannii* :

*Acinetobacter baumannii* gram négatif, non fermentantes, immobiles, aérobies strictes, catalase positive et oxydase négative est le plus souvent responsable de pneumopathies, en particulier chez les patients sous ventilation mécanique. Il peut aussi être la cause de bactériémies et plus rarement d'infections de la peau et des tissus mous,

d'infections urinaires, de méningites, d'endocardites, de kératites, et d'endophtalmies. (Peleget al., 2008).

❖ *Salmonelles* :

Les salmonelles sont en général considérées comme pathogènes : fièvres typhoïdes, gastro-entérites, toxi-infections alimentaires. Les hôtes naturels des salmonelles sont la population humaine, les animaux, les volailles et le bétail, y compris les oiseaux communs. Les salmonelles peuvent donc être présentes dans l'eau des égouts agricoles et domestiques, les eaux douces, y compris les eaux potables et les nappes phréatiques, ainsi que l'eau de mer. (RODIER et al., 2009).

❖ *Citrobacter freundii* :

Les *Citrobacter freundii* sont une des variétés de citrobacters, des bactéries à Gram négatif pathogènes relativement rares. Il s'agit de bactéries opportunistes qui peuvent provoquer des infections du système nerveux central (SNC) chez les nourrissons, des infections urinaires, d'infections de plaies ou encore de septicémies, notamment des méningites susceptibles d'entraîner la formation d'abcès cérébraux. (<http://sante-medecine.journaldesfemmes.com/>).

❖ *Enterobacter aerogenes* :

*E. aerogenes* est un agent pathogène nosocomial, et des infections sont associées à l'utilisation accrue d'antibiotiques. Est une bactérie Gram négatif, mobile, asporulée, en forme de bâtonnet. Les colonies sont circulaires, surélevées et humides, et leur couleur varie du beige au blanc cassé. La bactérie dans des sources environnementales présente une croissance optimale entre 20 °C et 30 °C, et à 18 °C dans un sol stérilisé. (Gupta et al., 1986; Richard, 1963).

❖ *Proteus* :

Les bactéries du genre *Proteus* sont des bacilles, Gram négatif aérobies mobiles. Ils mesurent habituellement de 0,3 à 1,0 µm de large par 0,6 à 6,0 µm de long. Il s'agit de bactéries uréase positives capables d'essaimage lorsque cultivées en milieu solide. Elles font partie de la flore gastro-intestinale normale de l'humain. Ils causent les infections des voies urinaires (IVU) compliquées. Ils sont observés dans

les voies urinaires hautes et peuvent entraîner des urolithiases (formation de pierres dans le rein ou la vessie), des cystites et des pyélonéphrites aiguës. (**Agence de la santé publique du Canada, 2011 Canada**)

### 11.3. Champignons :

#### ❖ *Candida albicans* :

Cette levure vit à l'état saprophyte dans le tube digestif humain (**Agbo-Godeau et Guedj, 2005**). Elle existe sous la forme d'éléments unicellulaires bourgeonnants (**Feigin et Cherry, 2004**). L'infection découle habituellement de la prolifération opportuniste du microorganisme, lorsque la flore normale est détruite par des antibiotiques à large spectre ou par d'autres facteurs (humidité, pH acide, personnes immunodéprimées) (**Regnault, 2002**). Cette levure est responsable de candidoses humaines touchant principalement les muqueuses, les phanères et peuvent même atteindre les organes internes (**Boiron, 1999 ; Pfaller, 2002**).

#### ❖ *Rhizopus oryzae* :

On le trouve dans le sol, volontiers associé à des végétaux ou des excréments en décomposition. C'est l'agent le plus fréquent de Mucormycose rhinocérébrale chez le patient diabétique ou chez les patients d'hématologie très immunodéprimés. Il est également responsable d'infections pulmonaires, digestives ou disséminées. Plus rarement, il peut être la cause de mucormycoses cutanées chez le grand brûlé ou après traumatisme chez le patient immunocompétent présentant une plaie souillée par de la terre. Porte d'entrée généralement respiratoire, parfois cutanée.

**MATERIEL**  
**ET**  
**METHODES**

La partie pratique de notre travail, s'est déroulée en trois grandes parties :

1. Extraction de l'écorce de *Cinnamomum zeylanicum*. à l'aide d'un appareil d'extraction type Soxhlet, et d'un évaporateur rotatif, répartition du contenu du percolât dans plusieurs solvants de polarité différente par extraction liquide-liquide.
2. Criblage du contenu des différents extraits à l'aide de la chromatographie liquide sur couche mince et de révélateurs spécifiques et caractéristiques. Identification et quantification des différentes familles de métabolites secondaires par des méthodes de dosage physico-chimique et spectrophotométrique.
3. Evaluation à l'aide d'essais bio-guidés de l'activité antimicrobienne in vitro.

## 1. Matériel d'étude :

### 1.1. Matériel végétal :

La plante *Cinnamomum zeylanicum*, qui fait l'objet de notre étude chimique et biologique, a été achetée chez l'herboriste sous forme de bâtonnets d'écorce sèche et identifiée comme étant originaire du Sri Lanka.

### 1.2. Matériel biologique :

L'activité antimicrobienne du *Cinnamomum zeylanicum* a été testée sur treize souches cibles, dont neuf référenciées et quatre de provenance clinique.

- **Bactérie Gram (+) :**

1. *Staphylococcus aureus* 2S : ATCC 43300

- **Bactérie Gram (-) :**

1. *Escherichia coli* : ATCC 25922
2. *Pseudomonas aeruginosa* : ATTC 27853
3. *Pseudomonas aeruginosa* : ATTC 2330
4. *Pseudomonas aeruginosa* : ATTC 1616
5. *Klebsiella pneumoniae* : ATCC 700603
6. *Acinetobacter baumannii* : 1625
7. *Salmonelle* : souche clinique
8. *Citrobacter freundii* : 22

9. *Enterobacter aerogenes* : souche clinique
10. *Proteus Sp* : souche clinique

- **Champignons :**

1. *Candida albicans* : souche clinique
2. *Rhizopus oryzae* : M491890.1

### 1.3. Matériel de laboratoire :

1. Les milieux nutritifs, ainsi que les milieux de culture spécifiques : «Mueller Hinton (MH)» pour les bactéries et «Sabouraud» pour les champignons, proviennent de l'Institut Pasteur Alger.
2. Les disques utilisés pour les tests antimicrobiens, ont été préparés à partir du papier Wathman 4mm, puis ont été stérilisés à chaleur humide.
3. Tous les solvants et produits chimiques utilisés sont de qualité analytique.

## 2. Méthode d'étude :

### 2.1. Extraction :

#### 2.1.1. Broyage :

Dans un mortier et à l'aide d'un pilon 200 mg d'écorce de cannelle de Ceylan ont été broyés jusqu'à l'obtention d'une poudre fine.



**Figure N° 13:** Broyage de la cannelle de Ceylan.

Ensuite, le broyat ainsi obtenu est transféré dans une cartouche de cellulose qui va à l'intérieur du Soxhlet.

### 2.1.2. L'extraction par Soxhlet :

L'extraction par Soxhlet est une méthode simple permettant d'obtenir notre percolât, qui est le résultat de la répétition de cycles d'extraction ou percolation avec un solvant, pendant 6 heures.

L'extraction est continue jusqu'à l'épuisement de la matière solide chargée dans la cartouche, nous obtenons ainsi l'extrait brut.



**Figure N°14 :** Extraction par Soxhlet.

### 2.1.3. Evaporation :

Pour évaporer rapidement le méthanol utilisé pour l'extraction de la cannelle, nous avons programmé l'évaporateur rotatif 'BUTCHI' à 37 °C sous pression réduite, nous avons mis l'extrait brute dans un ballon vide et on l'a placé sur le rotavap, pendant 20 min jusqu'à évaporation totale du solvant (méthanol) pour obtenir l'extrait brut sec (voir annexe). Cette même évaporation, peut être obtenue en laissant les extraits à l'air pendant quelques jours mais elle s'avère trop longue et expose les produits aux diverses contaminations.

Ensuite, nous avons procédé à la pesée de l'extrait brut afin de calculer le rendement.



**Figure N°15 :** Evaporation de l'extrait brut.

## **2.2. Purification du percolât de *Cinnamomum zeylanicum* :**

### **2.2.1. Protocole de l'extraction liquide-liquide :**

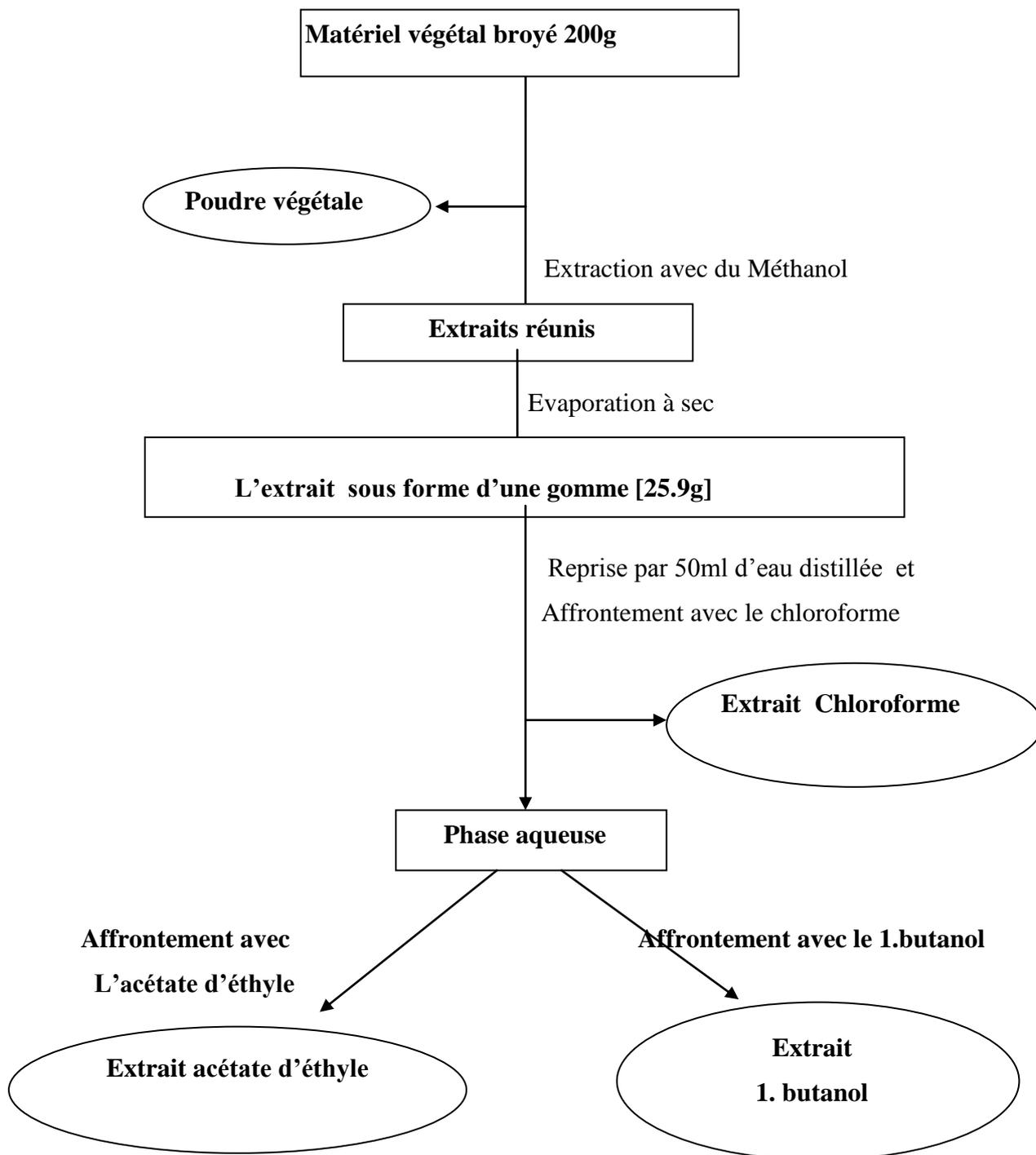
L'extrait méthanolique brut est transféré dans une ampoule à décanter, afin de lui faire subir une extraction liquide-liquide multiple (voir annexe), une quantité d'eau distillée 50ml est ajoutée, puis 100 ml de chloroforme, bien agiter le tout en dégazant de temps en temps, laisser décanter puis récupérer la phase aqueuse et organique séparément.

Filtration de l'extrait chloroformique (phase organique) dans un Erlen contenant du sulfate de sodium ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) pour le séchage **Fig 16**.

Conserver la phase aqueuse dans l'ampoule à décanter et refaire la même manipulation en utilisant tour à tour l'acétate et le butanol comme solvants organiques d'extraction **Fig 17**.



**Figure N°16:** Extraction liquide-liquide



**Figure N°17:** Protocole d'extraction

### 2.2.2. Criblage chimique par Chromatographie liquide sur couche mince :

La chromatographie liquide sur couche mince de la cannelle a été effectuée, avec une phase stationnaire solide (gel de silice fixée sur une plaque d'aluminium) et une phase mobile adéquate (un système de solvants Table7).

Une goutte de chaque extrait est déposée sur la plaque de CCM, puis cette dernière est mise dans une cuve en verre saturée par les vapeurs de l'éluant, la migration des molécules par capillarité est arrêtée, dès que le solvant atteint le front que nous avons dessiné au préalable sur la plaque, la plaque est alors à nouveau séchée à l'air et observée à l'œil nu puis révélée sous lampe UV à 254 et 356 nm et à l'aide de produits chimiques.

**Tableau N° 7** : Les systèmes solvant testés pour l'élution en CCM

Système	Hexane (ml)	Acétate (ml)	Méthanol (ml)
1	7	3	0
2	7	3	3
3	7	3	0.5
4	7	3	1



**Figure N°18**: Chromatographie sur couche mince des extraits de *Cinnamomum zeylanicum*.

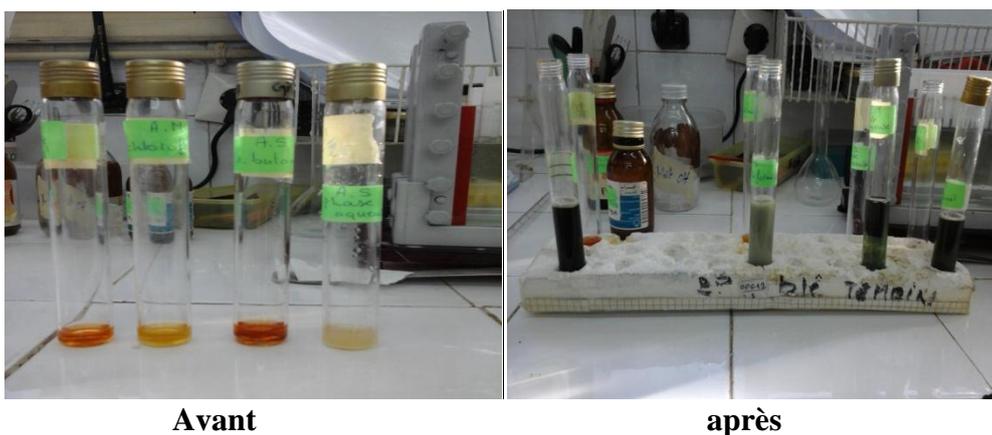
### 2.3 Identification et quantification des métabolites secondaires dans les extraits de *Cinnamomum zeylanicum* :

#### Dosage des phénols totaux :

La teneur phénolique totale est habituellement déterminée colorimétriquement avec le spectrophotomètre UV-Vis en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Les propriétés colorimétriques du réactif de Folin-Ciocalteu sont modifiées lorsqu'il est complexé à certaines molécules. Il réagit avec la fonction -OH des phénols (Catalano *et al*, 1999). Ce réactif est formé d'acide phosphomolybdique

$H_3PMo_{12}O_4$  et d'acide phosphotungstique  $H_3PW_{12}O_4$  qui est réduits par l'oxydation des phénols en oxydes bleus de tungstene  $W_8O_{23}$  et de molybdène  $Mo_8O_3$ , cette réaction se traduit par le développement d'une coloration bleue foncée.

Le protocole de ce dosage est le suivant : à 5 ml de Follin-Ciocalteu (1/10) sont ajoutés 0.4 mg/ml d'extrait de plante (acétate, chloroforme, 1.butanol et aqueux) et 4 ml  $Na_2CO_3$  (75mg/ml), bien agiter le tout et laisser incuber 2h à l'abri de la lumière.



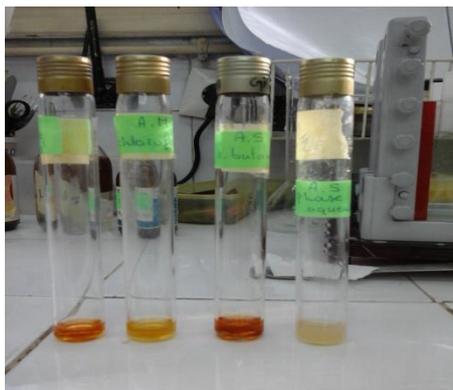
**Figure N°19 : Dosage des phénols totaux.**

#### **Dosage des flavonoïdes totaux :**

La méthode de trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) cité par Djeridane *et al.*, 2006 et Boudiaf, 2006, est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans nos extraits.

Le chlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) forme un complexe très stable avec les groupements hydroxydes OH des flavonoïdes. Ce complexe jaune absorbe la lumière visible à une longueur d'onde 430 nm.

Donc, pour ce dosage : à 1 ml de solution méthanoïque d' $AlCl_3$  (2%) sont ajoutés 0.4 mg/ml de l'extrait (acétate, chloroforme, 1.butanol et aqueux). Bien agiter et incuber 15min à l'abri de la lumière.



**Figure N°20:** Dosage des flavonoïdes totaux.

Nos composés ont été caractérisés par spectrophotométrie UV-Visible:

L'absorbance de nos extraits a été mesurée en utilisant un spectrophotomètre de type JENWAY 6300 en mode balayage. Les mesures sont effectuées dans des cuves en verre, le balayage de l'absorbance pour les phénols et les flavonoïdes se fait entre 400-800 nm.

#### **2.4. L'application biologique :**

Nous avons cherché comme première approche biologique, à faire des investigations sur l'activité antimicrobienne in vitro de nos extraits, en utilisant la méthode de diffusion des disques sur milieux solides.

##### **2.4.1. Choix de la technique d'étude de l'activité antimicrobienne de *Cinnamomum zeylanicum* :**

Elle a été effectuée selon la méthode de diffusion des disques sur milieu gélosé (Bijondi, 1993). L'ensemencement des suspensions bactériennes est réalisé par écouvillonnage en tournant la boîte d'environ 60°. Cette méthode permet d'assurer une distribution uniforme de l'inoculum sur la gélose et de faciliter la diffusion des molécules actives sur une fine couche de surface (Horicaw, 1999 ; Woo, 2002).

##### **2.4.2. Protocole de l'étude de l'activité antimicrobienne de *Cinnamomum zeylanicum* :**

###### **2.4.2.1 Préparation des dilutions :**

Nous avons établi pour cette étude une gamme de dilution en partant d'une concentration de solutions mères qui contiennent respectivement 500 mg d'extrait

(pour le chloroforme) ,700 mg (pour le 1-butanol) et 800 mg (pour l'acétate), nous avons ensuite complété le volume à 10 ml avec le DMSO, nous obtenons ainsi la gamme de dilution suivante : 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64. Nous avons utilisé à chaque fois uniquement le DMSO comme solvant de dilution.



**Figure N°21:** La gamme des dilutions pour chaque extrait.

#### 2.4.2.2 Ensemencement des souches microbiennes :

Les tubes de bouillon nutritif du pré enrichissement et qui ont montré un trouble apparent à l'œil nu (suspensions microbiennes ayant une turbidité voisine à 0.5 McFarland (ABS=0.8 à 1)), sont ensemencés au râteau à l'aide de pipettes pasteur à la surface du milieu gélosé Muller Hinton pour les bactéries et sur gélose Sabouraud pour les champignons.

#### 2.4.2.3 Application des extraits végétales sur les disques :

Des disques de papier Wattman stériles (5 mm) sont préalablement imprégnés de 10µl de chaque dilution et sont ensuite déposés stérilement à la surface de la gélose Muller –Hinton pour les bactéries, et sur la gélose Sabouraud pour les champignons préalablement ensemencés par les souches microbiennes, un disque imbibé par le DMSO à été employé en tant que témoin, laisser les disques diffuser quelque temps puis incuber toutes les boîtes 24h à 37°C.



**Figure N°22:** Ensemencement des souches microbiennes sur boîtes de pétries.

**RESULTATS  
ET  
DISCUSSION**

## **1. Purification de *Cinnamomum zeylanicum* :**

Les produits utilisés à des fins thérapeutiques doivent être d'une pureté immaculée, c'est pour ça cela qu'il faut passer préalablement par une étape d'extraction et de purification.

### **1.1 Extraction :**

#### **1.1.1 Broyage :**

Effectué à l'aide d'un mortier et d'un pilon jusqu'à l'obtention d'une poudre grossière.

#### **1.1.2. Extraction par Soxhlet :**

L'extraction par Soxhlet a été la méthode choisie, basée sur la technique d'épuisement à chaud de la poudre végétale au contact d'un solvant pendant une durée de 5 à 6 heures. (Negrette and coll, 1987).

Le principe est le suivant :

- La quantité de poudre épuisée est de 200 mg.
- La drogue sèche n'étant pas en contact directe avec la source de chaleur, est mise dans une cartouche en papier absorbant, le solvant se trouve dans un ballon le tout monté en colonne en verre sur un chauffe ballon.
- L'épuisement est réalisé en un temps de 6 heures maximum par simple évaporation.

#### **1.1.3 L'évaporation :**

Cette opération fait suite à l'épuisement, elle a été réalisée à l'aide d'un Rota-vapor.

Ce principe permet d'éliminer par évaporation le solvant en un temps très court, environ une demi-heure et avec récupération totale du solvant (méthanol) pour obtenir 25.9g de gomme huileuse marron, c'est l'extrait brut sec avec un rendement de 12.95%, ce qui n'est pas négligeable.

Après l'évaporation en utilise 20 ml de méthanol pour la récupération de l'extrait.

## 1.2. Purification du percolât de *Cinnamomum zeylanicum*:

### 1.2.1. Extraction Liquide-Liquide multiple :

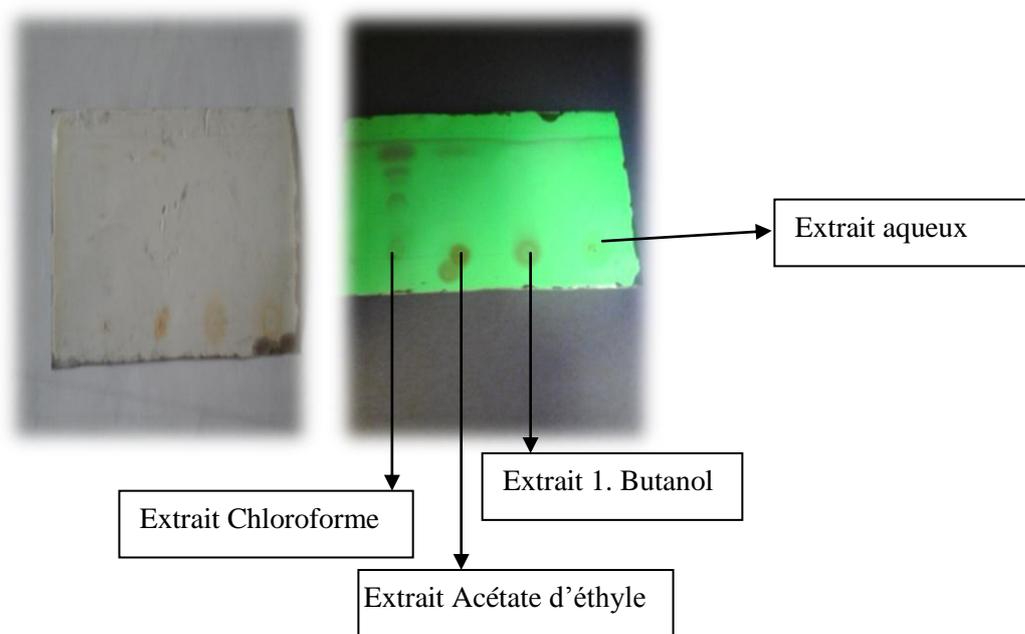
L'extrait méthanoïque brut transvasé dans une ampoule à décanter, est repris par de l'eau distillée (50 ml) qui solubilise quantitativement les composés phénoliques; pour avoir les différentes phases (fractions), la phase aqueuse obtenue est soumise à plusieurs affrontements par divers solvants organiques: chloroforme, acétate d'éthyle, 1.butanol, chaque solvant étant spécifique à une famille de métabolites secondaires, le chloroforme sépare les flavonoïdes, l'acétate d'éthyle sépare les saponines et le 1.butanol sépare les polyphénols. Une décantation suivie d'une filtration (ou plusieurs) permettent d'éliminer les boues (graisses, résine). Cette épuration facilitera grandement les épreuves de chromatographie.

**Tableau N°8 : Rendement de l'extraction de *Cinnamomum zeylanicum***

Extraits	Rendement
Chloroformique	0.33%
Acétate d'éthyle	0.40%
1. Butanol	2.46%
Aqueux	3.62%

### 1.2.2 Criblage chimique de *Cinnamomum zeylanicum* par Chromatographie sur Couche Mince (CCM) :

Nous avons procédé à un screening chimique par CCM du contenu des phases issues de l'extraction liquide-liquide, afin d'en identifier et d'en évaluer la richesse en métabolites secondaires. Après développement et séchage de la plaque CCM, le chromatogramme est visualisé sous la lampe UV et révélé à l'aide de produits chimiques, les composées apparaissent sous forme de spots intenses pour certains de couleur orange indiquant la présence de flavonoïdes d'autres ont du être révélé sous lumière UV sous forme de spots sombres.



**Figure N°23:** La plaque CCM après développement, avant et après visualisation par la lampe UV pour les différents extraits.

Revelateurs	Couleur après la révélation	
	Acide sulfurique/eau	Eau
Extrait chloroformique	Jaune-orange	-
Extrait acétate d'éthyle	Jaune-orange	Noir
Extrait 1. Butanol	Jaune-orange	-
Extrait aqueux	-	-

- La richesse des extraits en métabolites secondaires d'après la CCM :  
D'après la CCM nous avons remarqué que nos extraits contiennent plusieurs composés.

D'après les spots obtenus :

- ✓ Dans l'extrait chloroforme, nous avons remarqué quatre spots de couleur jaune-orange après révélation chimique, chaque spot désigne un composé différent de la classe des flavonoïdes.
- ✓ Dans l'extrait acétate d'éthyle, nous avons remarqué deux spots noirs après révélation, chaque spot désigne un composé différent appartenant peut être à la classe des saponines.
- ✓ Dans l'extrait 1. Butanol, nous avons remarqué un spot orange indiquant la présence de polyphénols.

Ceci permet de dire que l'extrait chloroformique est le plus riches en flavonoïdes et donc peut être le plus actif, et que l'extrait aqueux est le plus pauvre en métabolites secondaires recherchés.

**Tableau N°9 : Choix des systèmes solvant pour l'élution en CCM**

Système	Hexane	Acétate	Méthanol	Observation
1	7ml	3ml	0	Bonne séparation des composées avec le chloroforme et l'acétate d'éthyle
2	7ml	3ml	3ml	Bonne séparation pour le 1-butanol
3	7ml	3ml	0.5ml	Bonne séparation des composées avec le chloroforme et l'acétate d'éthyle

Donc les systèmes retenus en vue de ces résultats, sont le système 1 pour les extraits chloroforme et acétate d'éthyle, et le système 2 pour l'extrait 1-butanol.

Calcul des rapports frontaux  $R_f$  :  $R_f = d_{spot} / d_{solvant}$

- Pour l'extrait chloroforme :

Avec :  $d_{spot1} = 3.6 \text{ cm}$

$d_{solvant1} = 3.8 \text{ cm}$

Ce qui implique :  $R_{f1} = 3.6/3.8 = 0.94\text{cm}$

Avec :  $d_{spot2} = 3.2\text{cm}$

$R_{f2} = 3.2/3.8 = 0.84\text{cm}$

Avec :  $d_{spot3} = 3\text{cm}$

$R_{f3} = 3/3.8 = 0.79\text{cm}$

Avec :  $d_{spot4} = 2.2\text{cm}$

$R_{f4} = 2.2/3.8 = 0.57\text{cm}$

- Pour l'extrait acétate :

$R_f = d_{SPOT} / d_{solvant1}$

Avec :  $d_{SPOT1} = 3.4 \text{ cm}$

$R_{f1} = 3.4/3.8 = 0.89 \text{ cm}$

Avec :  $d_{SPOT2} = 2.9 \text{ cm}$

$$Rf_2 = 2.9/3.8 = 0.76 \text{ cm}$$

- Pour l'extrait 1-butanol :

Avec :  $d_{\text{solvant2}} = 4.5\text{cm}$

$d_{\text{SPOT}} = 4.3 \text{ cm}$

$Rf = 4.3/4.5 = 0.95 \text{ cm}$

On peut conclure que les spots d'un même extrait ayant une différence de  $RF > 0,2$  peuvent être facilement séparés par chromatographie sur colonne en utilisant la phase mobile adéquate ( Still et al., 1978).

## 2. Analyse qualitative et quantitative du percolât de *Cinnamomum zeylanicum*:

### 2.1 Analyse par la Spectrophotométrie UV-Vis :

La caractérisation par spectroscopie UV s'est faite par un balayage sur une gamme d'absorption entre 400nm et 800nm avec un pic d'absorption caractéristique maximale pour les flavonoïdes à environ 430 nm et pour les polyphénols à environ 765 nm. Cette méthode est aussi bien qualitative que quantitative, en nous donnant des pics à des longueurs d'ondes caractéristiques où absorbent les groupements fonctionnels appartenant à nos composés mais aussi leurs concentrations calculées à partir de la loi de Beer-Lambert.

- **Dosage des polyphénols totaux :**

Après une incubation de 2h, nous avons observé le développement d'une coloration bleu- verdâtre dans les quatre tubes plus ou moins intense selon la concentration de l'extrait en polyphénols.

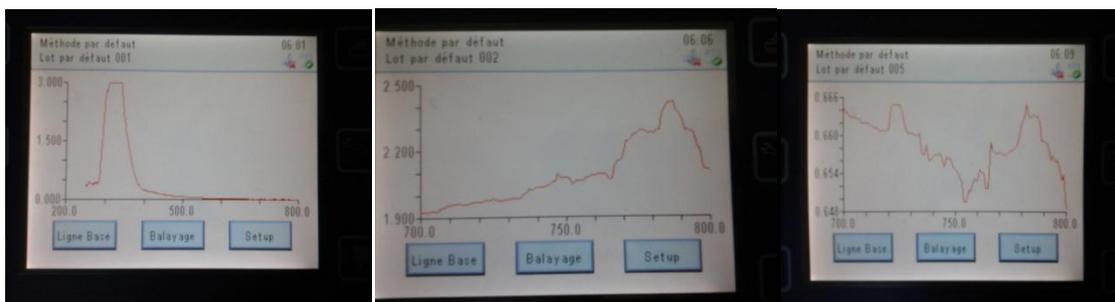


Avant

après

**Figure N°24 : Dosage des polyphénols**

❖ La lecture des résultats du dosage par le spectrophotomètre UV-Vis:



**Chloroforme**

**Acétate d'éthyle**

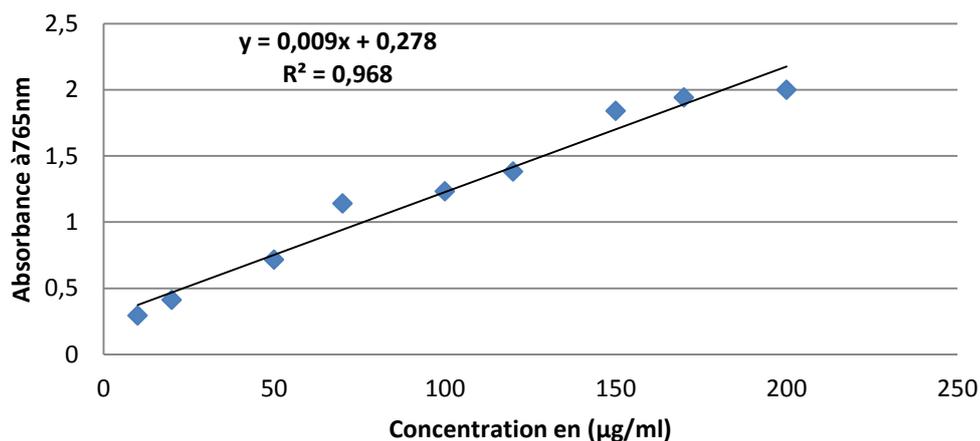
**1.butanol**

**Figure N°25 : Analyse des polyphénols totaux par spectrophotométrie UV-Vis**

	Longueur d'onde (nm)	Absorbance
Extrait chloroforme	-	-
Extrait Acétate d'éthyle	765	2.1
Extrait 1. Butanol	765	0.66
Extrait aqueux	-	-

• **Discussion de Dosage des polyphénols totaux :**

Les résultats du dosage montrent la présence des polyphénols, dans deux de nos extraits l'acétate d'éthyle et en moindre quantité dans le 1. Butanol l'absorbance étant proportionnelle à la concentration.



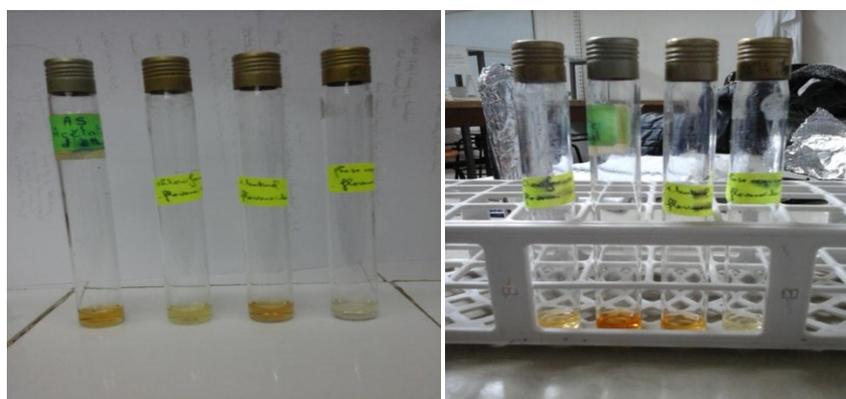
**Figure N°26 : Droite d'étalonnage de l'acide gallique (moyenne ± SD de deux essais).**

**Tableau N° 10 :** La concentration des polyphénols totaux dans les trois extraits exprimée en acide gallique ( $\mu\text{g/ml}$ ).

Extrait	Absorbance à 765nm	Concentration exprimée en acide gallique. ( $\mu\text{g/ml}$ )
Acétate d'éthyle	2.1	300
1. butanol	0.66	28

• **Dosage des flavonoïdes :**

Après une incubation de 15 min, nous avons observé une accentuation de la couleur du jaune vers l'orange plus prononcée dans l'extrait chloroforme que dans les autres, l'extrait aqueux étant toujours le plus pauvre avec une coloration très dissipée.



Avant

après

**Figure N°27:** Dosage des flavonoïdes

❖ **La lecture par le spectrophotomètre UV-Vis :**



**Chloroforme**

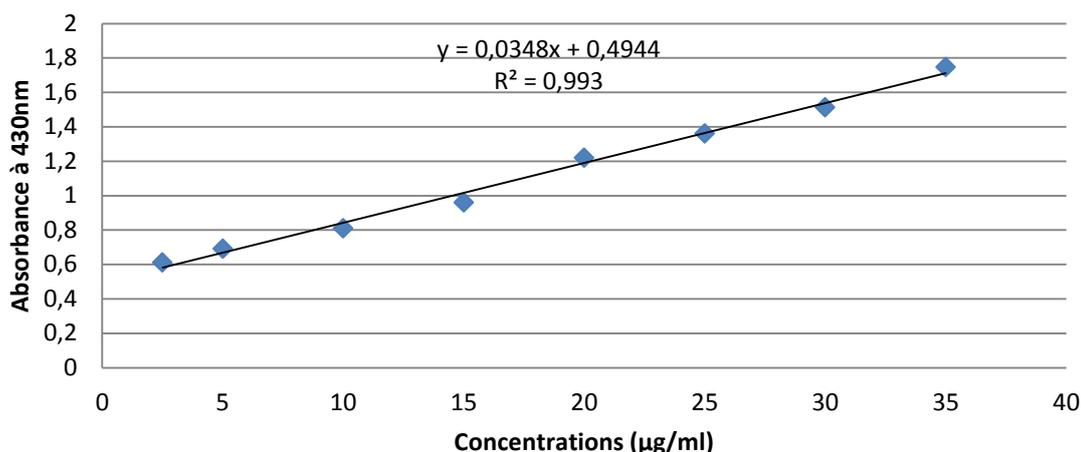
**Acétate d'éthyle**

**1.butanol**

**Figure N°28:** Analyse des flavonoïdes par spectrophotométrie UV-Vis.

	Longueur d'onde (nm)	Absorbance
Extrait Chloroforme	400	3.0
Extrait Acétate d'éthyle	450	1
Extrait 1. butanol	430	0.4
Extrait aqueux	-	-

- **Discussion du Dosage des flavonoïdes :**



**Figure N°29 :** Droite d'étalonnage de la quercétine (moyenne  $\pm$  SD de deux essais)

**Tableau N° 11:** La concentration des flavonoïdes exprimée en quercétine ( $\mu\text{g/ml}$ ).

Extrait	Absorbance	Concentration exprimée en quercétine ( $\mu\text{g/ml}$ )
Chloroforme	3.0	50
Acétate d'éthyle	1	15
1. butanol	0.4	2,5
Aqueux	-	-

Les résultats de l'analyse qualitative et quantitatives par spectrophotométrie UV-Vis viennent conforter ceux déjà obtenu par les tests préliminaires sur CCM à savoir que l'extrait chloroformique était le plus riche en flavonoïdes, que les extraits acétate d'éthyle et 1-butanol sont les plus riches en polyphénols totaux et que l'extrait aqueux était le plus pauvre en métabolites secondaires recherchés, c'est pour cela que nous avons décidé de ne pas le soumettre à l'évaluation de l'activité antimicrobienne.

### 3. Evaluation de l'activité antimicrobienne de *Cinnamomum zeylanicum* :

La zone d'inhibition d'un bon agent antimicrobien diffère selon les références bibliographiques. D'après Pereira et ses collaborateurs (2006) celle-ci doit être égale ou supérieur à 10mm ; pour Vireira et ses collaborateurs (2001) elle est de 15 mm alors que pour Seokwon kim et ses collaborateurs elle est supérieur à 6mm .

En ce qui concerne nos résultats, ils varient de 5 mm à 90 mm (l'activité antimicrobienne a été déterminée à l'aide d'une règle mesurant le diamètre de la zone d'inhibition (mm)).

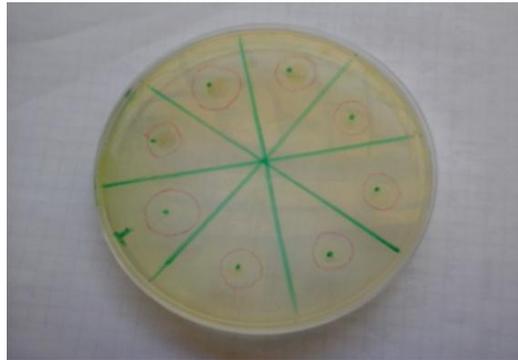
- **Pour l'extrait chloroforme :** nous n'avons observé aucune activité antimicrobienne, contre les bactéries Gram (-) *Salmonelle*, *Proteus* SP, *Pseudomonas aeruginosa* 3, et le champignon *Rhizopus oryzae*. Les résultats positifs pour le restant des souches testées, sont présentés dans le tableau suivant :

- **Tableau N°12 :** L'activité antimicrobienne de l'extrait chloroforme de *Cinnamomum zeylanicum*

Dilution Les souches testées	Diamètre des zones d'inhibition de croissance des cultures microbiennes en mm						
	SM (1)	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
<i>Candida Albican</i>	23	23	23	21	14	8	8
<i>Entiobactère</i>	10	8	10	10	9	9	11
<i>Staphylococcus aureus 2S</i>	13	13	10	9	10	10	10
<i>Citrobactère Freudir</i>	18	18	18	18	18	10	10
<i>E.Coli</i>	90 mm			15	15	15	10
<i>Acinetobactère</i>	28	28	11	10	10	/	/
<i>Kleb pneumoniae</i>	18	11	10	10	10	10	10
<i>Pseudomonas aeruginosa 1</i>	18	15	12	11	10	10	10
<i>Pseudomonas aeruginosa 2</i>	24	13	11	12	12	10	10

- Le témoin n'a aucune activité antimicrobienne vis-à-vis de toutes les souches testées.

**Bactérie Gram (+)**

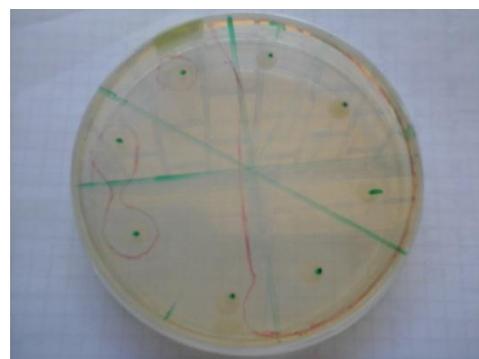
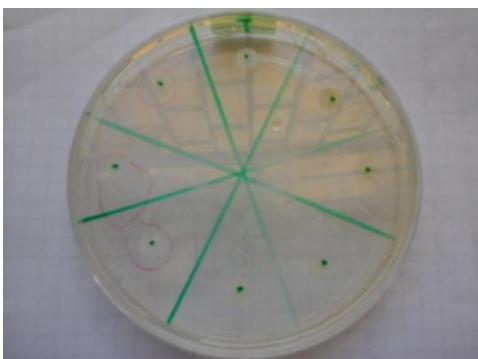


**Figure N° 30:** Effet de l'E.Ch sur *Staphylococcus aureus*

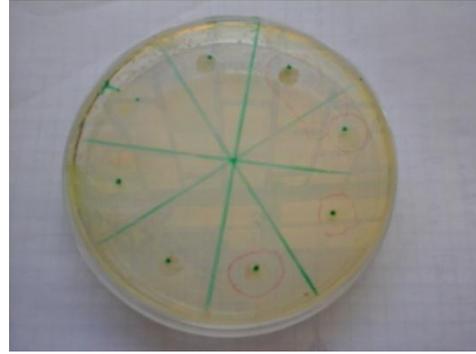
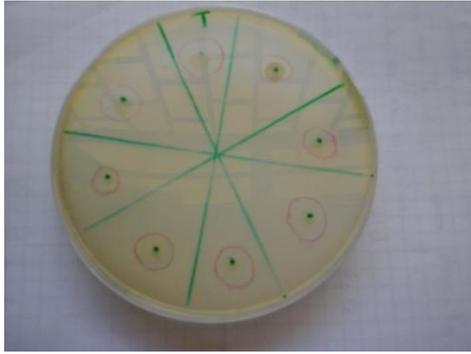
**Bactérie Gram (-)**



**Figure N° 31:** Effet de l'E.Ch sur *Klebsiella pneumoniae*    **Figure N°32 :** Effet de l'E.Ch sur *Pseudomonas aeruginosa*

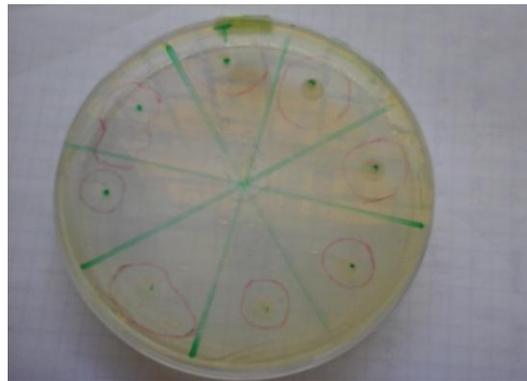


**Figure N°33 :** Effet de l'E.Ch sur *Citrobacter freundii*    **Figure N° 34:** Effet de l'E.Ch sur *Escherichia coli*



**Figure N°35 :** Effet de l'E.Ch sur *Enterobacter aerogenes*

**Figure N°36:** Effet de l'E.Ch sur *Acinetobacte rbaumannii*



**Figure N°37 :** Effet de l'E.Ch sur *Pseudomonas aeruginosa.1*

**Discussion :**

Nous remarquons une activité modérée pour les quatre premières souches : *Candida Albican*, *Entirobactère*, *Staphylococcus aureus 2S*, *Citrobactère Freudii*, avec un diamètre d'inhibition variant de 7 à 23 mm, une activité plus notable pour les cinq dernières : *Acinetobactère*, *Kleb pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa 1*, *Pseudomonas aeruginosa 2* avec une zone d'inhibition allant de 10 à 28 mm, et une activité très prononcée contre *E.coli* avec un diamètre d'inhibition record de 90mm pour les trois premières dilutions.

En comparant les résultats obtenus avec quelques références bibliographiques sur les mêmes souches microbiennes:

- ✓ Pour **M. Höferl et all. (2009)**, la zone d'inhibition de *Candida albicans* est de 27 mm, et dans notre étude la zone d'inhibition maximale est de 23mm.

- ✓ Toujours en comparaison avec **M. Höferl et al. (2009)**, la zone d'inhibition de *Staphylococcus aureus* est de 16mm et dans notre cas la zone maximale d'inhibition est de 13mm.
- ✓ En comparant les résultats obtenus pour la zone d'inhibition d'*Escherichia coli* avec ceux obtenus par **F. Edet (2004)**, nous avons obtenu 90 mm contre 30 mm pour la référence.
  
- ✓ La zone d'inhibition de *Klebsiella pneumoniae* est de 14 mm pour **M. Höferl et al. (2009)**, et dans notre étude elle est de 18 mm.
  
- ✓ Enfin, pour **F. Edet (2004)**, la zone d'inhibition de *Pseudomonas* est de 22mm, nous l'avons trouvé pour 24 mm.

Nous remarquons qu'il n'y a pas une grande différence entre nos résultats et ceux relevés dans la littérature, seulement en ce qui concerne E.Coli cela peut s'expliquer par le fait que les trois premières dilutions se sont rejointes ne formant qu'une seule grande zone d'inhibition, ce qui rend difficile la mesure et l'attribution des zones.

- **Pour l'extrait acétate d'éthyle** : nous n'avons observé aucune activité antimicrobienne, contre les bactéries Gram (-) *Salmonelle*, *Acinetobacter baumannii*, *E.coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, la bactérie Gram(+) *Staphylococcus aureus* 2S, et le champignon *Rhizopus oryzae*. Les résultats positifs pour le restant des souches testées, sont illustrés dans le tableau suivant :

**Tableau N°13** : L'activité antimicrobienne de l'extrait acétate d'éthyle de *Cinnamomum zeylanicum*.

Dilution Les souches testées	Diamètre des zones d'inhibition de croissance des cultures microbiennes en mm						
	SM (1)	½	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
<i>Candida albicans</i>	18	10	10	11	8	11	9
<i>Entérobactérie aérogènes</i>	15	15	12	11	11	8	6
<i>Proteus</i>	10	10	11	9	7	8	/
<i>Citrobacter freundii</i>	22	9	10	10	9	10	10
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	24	20	19	20	18	19	10
<i>Pseudomonas aeruginosa .1</i>	20	12	8	10	9	10	8
<i>Pseudomonas aeruginosa .2</i>	16	15	10	11	10	11	10

- Le témoin n'a aucune activité antimicrobienne vis-à-vis de toutes les souches testées.

**Bactéries Gram (-)**

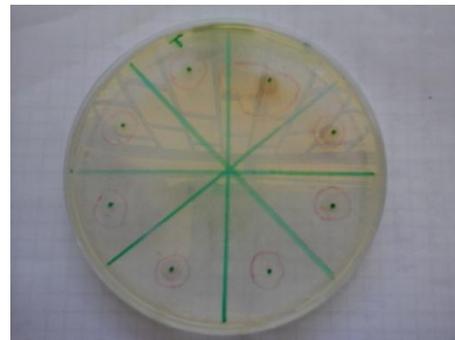


**Figure N° 38**: Effet de l'E.A .E sur *Enterobacter aerogenes*

**Figure N° 39** : Effet de l'E.A .E sur *Proteus*



**Figure N° 40:** Effet de l'E.A.E sur *Kleb pneumoniae* **Figure N°41:** Effet de l'E.A.E sur *Pseudomonas aeruginosa*2



**Figure N° 42:** Effet de l'E.A.E sur *Citrobacter freundii* **Figure N° 43:** Effet de l'E.A.E sur *Pseudomonas aeruginosa*2

**Champignon**



**Figure N°44 :** Effet de l'E.A.E sur *Candida albicans*

**Discussion :**

Une activité homogène et modérée est à noter pour les trois premières souches : *Candida Albican*, *Entiobactère* et *Proteus*, avec des diamètres d'inhibition variant de 6 à 18 mm, une activité plus importante pour le restant des souches testées :

*Citrobacter freundii*, *Kleb pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa 1*, *Pseudomonas aeruginosa 2* avec une zone d'inhibition allant de 8 à 24 mm.

En comparant les résultats obtenus avec les précédentes références bibliographiques pour le même extrait :

- ✓ Pour **M. Höferl et all. (2009)**, la zone d'inhibition de *Candida albicans* est de 27 mm, et dans notre étude la zone d'inhibition maximale est de 18mm.
- ✓ **Proteus Sp** : le diamètre maximal de la zone d'inhibition est de 10mm pour **M. Höferl et all. (2009)** est de 12 mm dans notre étude.
- ✓ Pour *Klebsiella pneumoniae* : le diamètre de la zone d'inhibition selon **M. Höferl et all. (2009)** est de 14mm, alors qu'il apparait à 24 mm dans nos essais.
- ✓ Alors que pour *Pseudomonas aeruginosa*: le diamètre maximal de la zone d'inhibition est à 22mm pour **F. Edet (2004)**, pas très loin du notre qui est à 20 mm.

Nous remarquons une homogénéité des résultats obtenus avec ceux de la littérature.

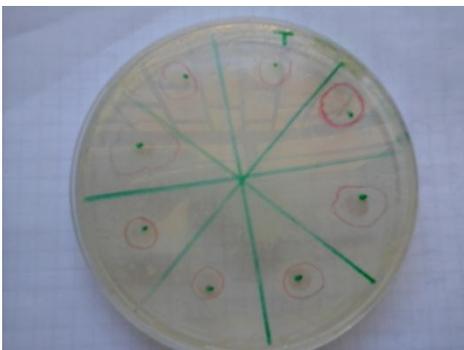
- **Pour l'extrait 1-butanol** : nous n'avons observé aucune activité antimicrobienne, vis-à-vis des bactéries Gram (-) *Salmonelle*, *Acinetobacter baumannii*, *E.coli*, *Pseudomonas aeruginosa 3*, les bactéries Gram(+) *Staphylococcus aureus 2S*, et le champignon *Rhizopus oryzae*. Les résultats positifs pour le restant des souches testées, sont illustrés dans le tableau suivant :

**Tableau N°14:** L'activité antimicrobienne de l'extrait 1-butanol de *Cinnamomum zeylanicum*

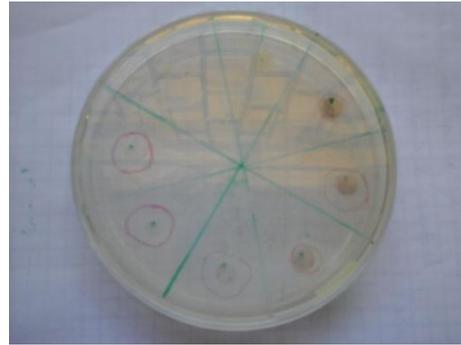
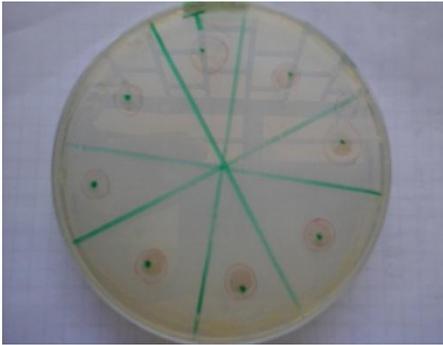
Dilutions Les souches testées	Diamètre des zones d'inhibition de croissance des cultures microbiennes en mm						
	SM	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
<i>Enterobacter aerogenes</i>	18	18	8	8	8	7	8
<i>Proteus SP</i>	19	19	10	7	8	7	/
<i>Citrobacter freundii</i>	13	13	10	12	12	11	/
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	13	11	10	12	9	9	8
<i>Pseudomonas aeruginosa 1</i>	25	23	23	22	22	15	10
<i>Pseudomonas aeruginosa 2</i>	9	9	8	8	8	7	7
<i>Candida albicans</i>	12	11	10	9	10	8	8

- Le témoin n'a aucune activité antimicrobienne vis-à-vis de toutes les souches testées.

**Bactéries Gram (-)**

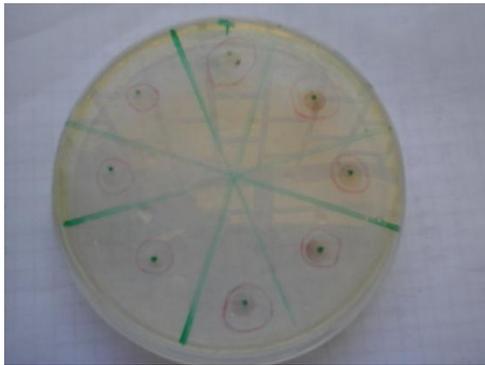


**Figure N° 45:** Effet de l'E.B sur *Proteus SP* **Figure N°46 :** Effet de l'E.B *Pseudomonas aeruginosa 1*



**Figure N°47:** Effet de l'E.B sur *Citrobacter freundii*

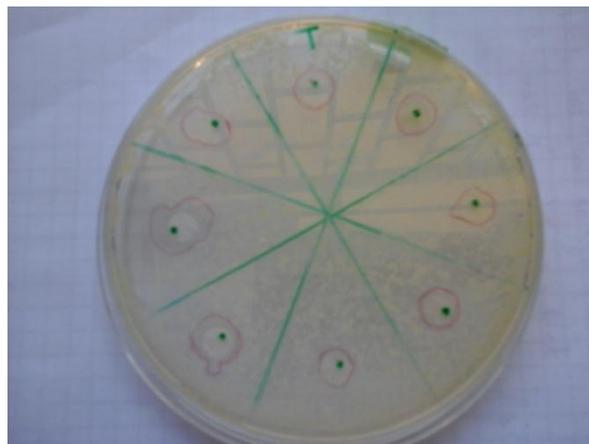
**Figure N°48 :** Effet de l'E.B sur *Enterobacter aerogenes*



**Figure N° 49:** Effet de l'E.B sur *Kleb pneumoniae*

**Figure N° 50:** Effet de l'E.B sur *Pseudomonas aeruginosa2*

**Champignons**



**Figure N°51:** Effet de l'E.B sur *Candida albicans*

**Discussion :**

L'activité antibactérienne est sensiblement la même pour toutes les souches testées avec des diamètres d'inhibition entre 7mm et 13mm, une activité plus importante contre *Pseudomonas aeruginosa* avec une zone d'inhibition allant de 10 à 25 mm.

En comparant les résultats obtenus avec les précédentes références bibliographiques pour le même extrait :

- ✓ Pour **M. Höferl et al. (2009)**, la zone d'inhibition de *Candida albicans* est de 27 mm, et dans notre étude la zone d'inhibition maximale est de 13mm.
- ✓ Selon les mêmes auteurs **M. Höferl et al. (2009)**, pour *Proteus* la zone d'inhibition est de 10mm, la zone maximale dans notre étude est de 19 mm.
- ✓ Pour ***Klebsiella pneumoniae*** la zone d'inhibition est de 14mm selon **M. Höferl et al. (2009)**. Elle apparaît pour nous à 15 mm.
- ✓ Selon **F. Edet (2004)** pour *Pseudomonas* la zone d'inhibition est de 22mm. Nous trouvons la zone maximale à 25 mm.

Les écarts que nous avons pu noter par rapport à la bibliographie peuvent être expliqués par le fait que l'extrait testé est pauvre en métabolites secondaires responsable de l'inhibition microbienne et inversement.

**4. L'antibiogramme :**

- Les résultats obtenus pour l'antibiogramme des antibiotiques : Gentamicine (10µg /disque), Cefotaxime (30µg/disque), Amoxicilline (20/10µg/disque), Spiromycine (100µg/disque), Nalidixique (30µg/disque) et Imipénème (10µg/disque), testés sur quelques-unes de nos souches microbiennes.

**Tableau N° 15:** Les résultats de l'antibiogramme

Antibiotique Souches testées		IPM	NA	Sr	CN	CTX	AMC
		Diamètre de la zone d'inhibition (cm)					
Gram+	<i>Staphylococcus aureus</i>	6	2.2	0	-	-	-
Gram-	<i>E.coli</i>	6	42	-	3.8	3	0
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4.5	2.8	-	1.8	0	0
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3.3	0	-	2.4	0	0
	<i>Proteus</i>	5	0	-	3.15	2.6	0

- Le témoin n'a aucune activité antimicrobienne vis-à-vis de toutes les souches testées.

- **Discussion :**

En vue des résultats obtenus pour l'antibiogramme et tenant compte des concentrations des disques d'antibiotiques, le pouvoir inhibiteur de nos extraits vis-à-vis de quelques souches est tout à fait comparable à celui d'antibiotique puissant tel que l'IPM et à des concentrations proches ce qui est très encourageant pour développer de potentiels candidats médicaments.

# **CONCLUSION GENERALE**

Au cours de ce travail, nous avons pu étudier chimiquement et biologiquement une plante usuellement utilisée comme condiment dans la cuisine algérienne, afin de mettre en exergue ses vêtues médicinales déjà reconnues dans d'autres pharmacopées de par le monde et qui est la cannelle de Ceylan (*Cinnamomum zeylanicum*).

Nous avons en premier lieu procédé à une extraction solide-liquide de notre plante médicinale par percolation, ensuite nous l'avons purifié par extraction liquide-liquide multiple en utilisant des solvants de polarité croissante pour en extraire tous les métabolites secondaires, nous avons également procédé à un criblage chimique des différents extraits obtenus, par chromatographie sur couche mince CCM, et spectrophotométrie UV-Vis pour l'identification et la quantification des différentes familles de composés dans nos extraits, et ce afin d'en évaluer la richesse.

Enfin, l'évaluation du potentiel antibactérien et antifongique de notre plante, en utilisant la technique de diffusion des disques sur milieu gélosé, montre une excellente activité de *Cinnamomum zeylanicum* contre une souche bactérienne Gram (+) : *Staphylococcus aureus*, sept souches bactériennes Gram (-) : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes*, *Proteus Sp*, et un Champignon : *Candida albicans*.

Ceci ouvre les perspectives à d'autres recherches, la première étant le fractionnement bioguidé de l'extrait le plus actif contre les souches étudiées afin d'identifier la/les molécule(s) active(s) responsable(s) de cet effet thérapeutique, l'isoler et lui faire subir d'autres transformations qui la rendront peut être plus efficace et ouvrir ainsi la porte à d'autres analogues synthétiques comme candidats médicaments.

# REFERENCES

### A.

1. Abd El Rahman, S.N., Abdel-Haleem AMH., AL Mudhaffar HM., 2010. Anti-diabetic Effect of Cinnamon Powder and Cinnamon Aqueous Extract on Serum Glucose of Rats. *International Journal of Food. Nutrition and Public Health*. 3, 183-197.
2. Agbo-Godeau, S., Guedj, A., 2005. Département de pathologie de la muqueuse buccale. service de stomatologie et chirurgie maxillofaciale. Professeur J.-Ch. Bertrand. Hôpital Pitié-Salpêtrière. 83. boulevard de l'Hôpital. 75013 Paris, France.
3. Arzi, A., Sarkaki, A., Saeed Najad, S., Nazari, Z., Aghel, N., 2011. Analgesic Effect of Hydroalcoholic Extract of *Cinnamomum Zeylanicum* in Rat by Formalin Test. *Toxicology Letters*. 205S-S83.
4. Awika, J M., Rooney, LW., 2004. *Phytochemistry*. 65, 1199-1221.
5. Azab, KS., Mostafa, AMA., Ali EMM., Abdel-Aziz MAS., 2011. Cinnamon Extract Ameliorates Ionizing Radiation-Induced Cellular Injury In Rats. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 74, 2324-2329.
6. Aziza, N., Abdiche, N., 2014. Purification. Caractérisation et Evaluation de L'activité Antimicrobienne D'une Nouvelle Molécule Bioactive Ferrocénique Synthétique Chirale. Mémoire de Master, Université Constantine 1. Faculté des sciences de la nature et de la Vie. Département de Biochimie et Biologie Moléculaire et Cellulaire, P43-73.

### B.

7. Bahorun, T., Grinier, B., Trotin, F., Brunet, G., Pin, T., Luncky, M., Vasseur, J., Cazin, M., Cazin, C., Pinkas, M., 1996. Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-Forschung*. 46(11), 1086-1089.
8. Belaiche, P., 1979. *Traité de phytothérapie et d'aromathérapie*. Tome 1 : l'aromatogramme .éd. Maloine. Paris.
9. Beta, T., Nam, S., Pexter, JE., Sapiirstein, HD., 2005. Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and roller milled fractions. *Cereal Chem*. 82(4), 390-393.

10. Bijondi, D., Cianci, P.A., Geraci, Ruberto, C., 1993. Antimicrobial and chemical composition of essential oils from Sicilian aromatic plants. *Flavour and fragrance journal*, pp 331-377.
11. Boiron, Drogoul, C., Germain, H., 1999. Santé animale Glossaire de l'homéopathie : bovin, ovins, caprins, Educatrice éditions.
12. Boudiaf, K., 2006. Etude des effets anti-xanthine oxydoreductase et antiradicalaires des extraits des graines de *Nigella sativa*. Mémoire de magister. Setif.
13. Bousbia, N., 2004. Extraction et identification de quelques huiles essentielles (nigelle, coriandre, origan, thym, romarin). étude de leurs activités antimicrobiennes. thèse de magistère. option Science Alimentaires. Institut National Agronomique. Alger (Algérie).
14. Bruneton, J., 1999. Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales – 3ème Ed Techniques et documentations. Paris, Pp227-310-312-313-314.494.

### C.

15. Cooper, K.E., Woodman, D., 1946. The diffusion of antiseptics through agar gels, with special reference to the agar cup assay method of estimating the activity of penicillin. *J. Path. Bact*, pp 58- 75.
16. Craik, D. J., Griffiths, P.M., Brlt, J., 1958. *Appl. Phys.* 9, 279.

### D.

17. Dayan, F.E., Cantrell, C.L., Duke, S.O., 2009. Natural Products in Crop Protection. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 17, pp 4022-4034.
18. Djeridan, A., Yousfi, M., Nedjmi, D., Boutassouna, D., Stoker, P., Vidal, N., 2006. Antioxidant activity of some medical plants extracts containing phenolic compounds *foods chemistry*. 97, pp 654-660.

### E.

19. Edet, F., 2004. La cannelle de Ceylan et ses activités biologiques. Thèse de Doctorat en pharmacie, Université Joseph Fourier. Faculté de Pharmacie de Grenoble.
20. Emamghoreishi, M., Ghasemi F. 2011. Antidepressant Effect of Aqueous and Hydroalcoholic Extracts of *Cinnamomum zeylanicum* in the Forced Swimming Test, *Asian Journal of Psychiatry*, 4S1-S44.

### F.

21. Fauchère, J., Avril, J.L., 2002. Bactériologie générale et médicale. Ed Ellipses. 15, pp252-253, 10, pp151-176.
22. Feigin., Cherry., 2014, 2009, and 2004. Textbook of Pediatric Infectious Diseases. Seventh Edition.
23. Ferhat, M., 2009. Recherche de substances bio actives de centaureamicrocarpacoss et dur. Diplôme d'étude supérieure de Biochimie Université de M'sila, p 12-22.
24. Fratini, F., Casella, S., Leonardi, M., Pisseri, F, Ebani, V.V., Pistelli, L., Pistelli, L., 2014. Antibacterial Activity of Essential Oils, Their Blends and Mixtures of Their Main Constituents against Some Strains Supporting Livestock Mastitis. *Fitoterapia*. 96, pp1-7.

### G.

25. Guignard, J.L., 2000. Biochimie végétale. 2ème édition. Edition Dunod, Paris, pp 198-207.
26. Gupta., Pujiari, H.K., 1978. *Indian. Chem.*vol 16, p31-329.

### H.

27. Harborne, J.B., 1980. *Phytochemical Methods*. 2nd edition. Chapman and Hall. London, pp 288-293.
28. Haslam, E., 1989. Plant Polyphenols. In: Haslam E (ed) *Vegetable Tannins*. Cambridge University Press, pp15-89.
29. Heller, F.O.A., Pusic, E., Strauss, G., Wilpert, B., 1998. *Organizational participation: Myth and reality*. New York: Oxford University Press.
30. Höferl, M., Buchbauer, G., Jirovetz, L., 2009. Correlation of antimicrobial activities of various essential oils and their main aromatic volatile constituents / *in the journal of essential oil research, Vol. 21 N° 5*.
31. Hopkins, W.G., 2003. *Physiologie végétale*. Université des Sciences et Technologie de Lille. Edition de boeck, p 99 – 120.
32. Horricaw, M.A., Nora, T., Kamel, Y., 1999. / nv/Y roantimethicillin resistant siaphulococcus aureus Xi/'/XY found in extract of marine algae indigenous to the costline of Japan. *J. Antibiot.*52, pp 186-89.

### K.

33. Kandhare, A, Bodhankar, S.L., Mohan,V., Thakudesai, P.A., 2013. Toxicological evaluations of type-A procyanidine polyphenols from cinnamon bark [OP-10]. XXXIII Annual Conference of Society of Toxicology (STOX). India for Synergy of Toxicology Research in SAARC Countries Mathura. India.
34. Kim, S.L., Koch, P.L., 2011. Methods to collect, preserve, and prepare elasmobranch tissues for stable isotope analysis. *Environmental Biology of Fishes*. doi: 10.1007/s, 10641- 011-9860-9.

### L.

35. Leites, F0, Collini, P., Massimino, M., 2006. Consrvative surgical approach for thyroid and lymph-node involvement in papillary thygroid Carcinoma of Childhood and adolescence. *Pediatre Blood Cancer* 46(5), pp 307-313.

### M.

36. Maarouf, A., 2000. Dictionnaire botanique Pp 129.
37. Macheix, J. J., Fleuriet, A., 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.
38. Madigan, M.T., Martinko, J.M., 2007. Biologie des microorganismes. 11ème édition. Pearson Education. Broek. France, pp 478- 479.
39. Marongiu, B., Piras, A., Porcedda, S., Tuveri, E., Sanjust, E., Meli, M., Sollai, F., Zucca, P., Rescigno, A., 2007. Supercritical CO2 Extract of *Cinnamomum zeylanicum*: Chemical Characterization and Antityrosinase Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55, 10022-10027.
40. Maurice, N., 1997. L'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXIe siècle. Ed. Lavoisier. Paris, pp12-14.
41. Medic-Saric, M., Jasprica, I., Mornar, A., Smolcic-Bubalo, A., Golja, P., 2004. Quantitative analysis of flavonoids and phenolic acids in propolis by twodimensional thin layer chromatography. *Journal of Planar Chromatography – Modern TLC* 17, 459–464.

### N.

42. Negrette, R., Backhouse, N., Bravo, B., 1987. Quelques flavonoïdes de centaurée flocosa Plantes médicinales ET phytothérapie tome 21 n° 2, PP 168-172.

### P.

43. Patrick, J., Haines, B., 1988. Training and transfer of fault finding skill. *Ergonomics*, 31, pp 193-210.

44. Peleg, A.Y., Seifert H, Paterson D.L., 2008. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. *Clin. Microbiol. Rev.* 21:538–582.

45. Perry, J.J., Staley J.J., Lory S., 2004. *Microbiologie: Cours ET questions de révision*. Ed. Dunod. Paris. p 891.

46. Pfaller, M.A., 2002. *Focus on fungal infections 3*. Phoenix Arizona March.

### R.

47. Rafatullah, S., Alqasoumi, S., Al-Dosary, M., Al-Yahya, M., Al-Mofleh, I., 2011. Gastroprotective Effect of a Popular Spice Cinnamon “*Cinnamomum zeylanicum*” In Rats. *European Journal of Pharmacology*. 668. S.1, e42.

48. Regnault, J.P., 2002. *Eléments de microbiologie et d’immunologie*. Edition. Décarie. Paris.

49. Richard, C., Kiredjian, M., 1995. *Laboratory Methods for the Identification of Strictly Aerobic Gram-negative Bacilli*. Paris, Institut Pasteur.

50. Rodier, J., Legube B., Merlet N., coll., 2009. *L’Analyse de l’eau*. 9<sup>ème</sup> édition. Dunod. Paris, p 1579.

### S.

51. Schoene, N.W., Kelly, M.A., Polansky, M.M., Anderson, R.A., 2009. A Polyphenol Mixture from Cinnamon Targets p38 MAP Kinase-Regulated Signaling Pathways to Produce G2/M Arrest. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 20, pp 614-620.

52. Schroeder, M.P.; Messing, A.M. Methods for comparing the antibacterial activity of essential oils and other aqueous insoluble compounds. *Bull. Nat. Formulary Comm.* 17, pp 213–218.

53. Senhaji, O., Faid, M., Elyachioui, M., Dehhaoui, M., 2005. Etude de l’activité antifongique de divers extraits de cannelle. *Journal de Mycologie Médicale*, 15, pp 220-229.

54. Shan, B., Cai, Y.Z., Sun, M., Corke, H., 2005. Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. *J Agric Food Chem*; 20(53), pp7749–59.
55. Singh, G., Maurya, S., deLampasona, M.P., Catalan, C.A.N., 2007. A Comparison of Chemical. Antioxidant and Antimicrobial Studies of Cinnamon Leaf and Bark Volatile Oils, Oleoresins and Their Constituents. *Food and Chemical Toxicology*. 45, pp 1650-1661.
56. Stevens, E. J., Armstrong, K.W., Bezar, H.J., Griffin, W.B., Hampton, J.G., 2004. Fodder oats: an overview (Chapter II). *Plant Production and Protection Series No. 33*, FAO. Rome.
57. Still, W.C., Kahn, M., Mitra, A., 1978. Rapid chromatographic technique for preparative separations with moderate resolution. *J. Org. Chem.* 43 (14), pp 2923–2925.
58. Subash Babu, P., Prabuseenivasan, S., Ignacimuthu, S., 2007. Cinnamaldehyde – A Potential Antidiabetic Agent. *Phytomedicine*. 14, pp 15–22
59. Sudan, R., Bhagat, M., Gupta, S., Chittrarakha, Devi, T., 2013. Comparative Analysis of Cytotoxic and Antioxidant Potential of Edible *Cinnamomum verum* (bark) and *Cinnamomum tamala* (Indian bay leaf). *Free Radicals and Antioxidants*. 3, pp 70-73.
60. Suhr, K.I, Nielsen, P.V., 2003. Antifungal activity of essential oils evaluated by two different application techniques against rye bread spoilage fungi. *J Appl Microbiol*. 94, pp 665-674

### T.

61. Teixeira da Silva, J. A., 2004. Mining the essential oils of the Anthemideae. *Afr. J. Biotechnol.* 3, pp 706- 720.
62. Tworkoski, T., 2002. Herbicide Effects of Essential Oils. *Weed Science*. 50, pp 425-431.

### U.

63. Unlu, M., Ergene, E., Unlu, G.V., Zeytinoglu, H.S., Vural, N., 2010. Composition. Antimicrobial Activity and In Vitro Cytotoxicity of Essential Oil from *Cinnamomum zeylanicum* Blume (Lauraceae). *Food and Chemical Toxicology*. 48, pp 3274-3280.

### V.

64. Valnet, J., 1990. L'aromathérapie. 10ème édition Maloine S.A., pp 64-66, pp 206-212.
65. Vetal, S., Bodhankar, S.L., Mohan, V., Thakurdesai, P.A., 2013. Anti-Inflammatory and AntiArthritic Activity of Type-A Procyanidine Polyphenols from Bark of *Cinnamomum zeylanicum* In Rats. *Food Science and Human Wellness*. 2, pp 59-67.
66. Vieira, O.V.R.J., Botelho, L., Rameh, S.M., Brachmann, T., Matsuo, H.W., Davidson, A., Schreiber, J.M., Backer., L.C., Cantley, S., Grinstein., 2001. Distinct roles of class I and III phosphatidylinositol 3-kinases in phagosome formation and maturation. *J. Cell Biol.* 155, pp19–25.
67. Viteri Jumbo, L.O., Faroni, L.R.A., Oliveira, E.E., Pimentel, M.A., Silva G.N., 2014. Potential Use of Clove and Cinnamon Essential Oils to Control the Bean Weevil. *Acanthoscelides obtectus* Say. In *Small Storage Units. Industrial Crops and Products*. 56, pp 27-34.

### W.

68. Woo, A., 2002. La grande diversité du lactosérum. *Agroculture et agro-alimentaire*. Canada, p 3-13.

### Y.

69. Yang, Y.C., Lee, H.S., Lee, H.S., Clark, L.M., Ahn, Y.J., 2005. Ovicidal and Adulticidal Activities of *Cinnamomum zeylanicum* Bark Essential Oil Compounds and Related Compounds Against *Pediculus humanus capitis* (Anoplura: Pediculidae). *International Journal for Parasitology*. 35, pp 1595-1600.

### Z.

70. Zhuang, M., Jiang, H., Suzuki, Y., Li, X., Xiao, P., Tanaka, T., Ling, H., Yang, B., Saitoh, H., Zhang, L., Qin, C., Sugamura, K., Hattori, T., 2009. Procyanidins and Butanol Extract of *Cinnamomi* Cortex Inhibit SARS-CoV Infection. *Antiviral Research*. 82, pp73-81.

**ANNEXE**

## Matériel de laboratoire :

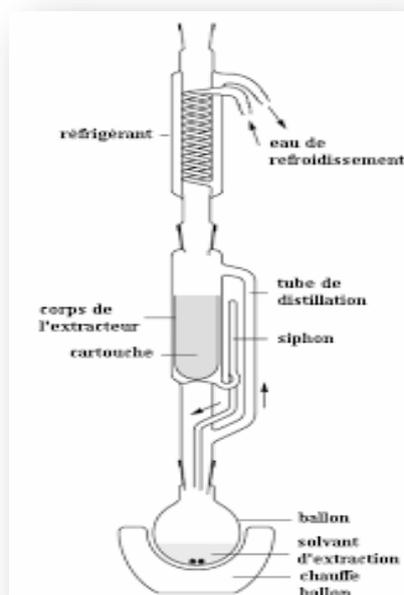
### 1. Soxhlet :

L'extraction de notre produit a été réalisée à l'aide d'un Soxhlet **NS 45/40 PRECISO WITEG GERMANY 100ML**.

Le schéma d'un appareil Soxhlet est représenté sur la figure 7 est composé d'un corps en verre, dans lequel est placé une cartouche poreuse en papier-filtre épais (une matière pénétrable pour le solvant), d'un tube siphon et d'un tube de distillation. Dans le montage, l'extracteur est placé sur un ballon contenant le solvant d'extraction. Le ballon est chauffé afin de pouvoir faire bouillir son contenu. La cartouche contenant le solide à extraire est insérée dans l'extracteur, au dessus duquel est placé un réfrigérant servant à liquéfier les vapeurs du solvant. Ainsi le solvant dans le ballon s'enrichit progressivement en composants solubles.



**Figure N°54:** Soxhlet NS 45/40  
PRECISO WITEG GERMANY 100ML



**Figure n°55:** Schéma de l'extracteur Soxhlet

## 2. Le rot-vapor:

L'évaporation des différents solvants a été effectuée à l'aide du rotavapor BUTCHI de type R II.

Il est composé de plusieurs parties :

- un réfrigérant en spirale, équipé d'une prise de vide et d'un robinet pour casser le vide,
- un ballon de recette pour le distillat, situé dans la partie basse du réfrigérant,
- un moteur, qui assure la rotation du ballon évaporateur (en forme de poire), par l'intermédiaire d'un tube rotatif d'admission des vapeurs. Le ballon évaporateur contient la solution dont on doit chasser le/les solvant(s),
- un bain marie, chargé de chauffer le ballon évaporateur (car l'évaporation est un processus endothermique).



**Figure N°56:** Rotavapor BUTCHI de type R II

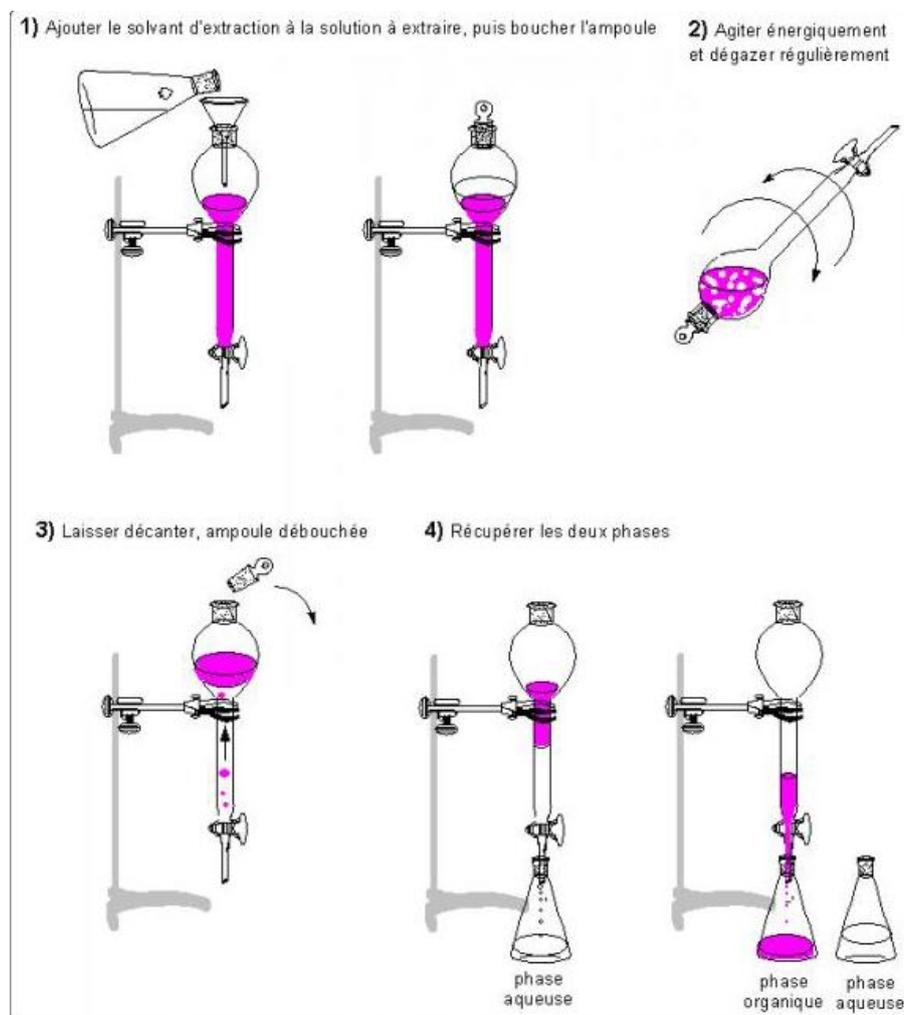
## 3. L'extraction liquide-liquide

L'extraction liquide-liquide est une méthode de purification qui repose sur la différence d'affinité d'un soluté entre deux phases liquides non miscibles, on utilise habituellement une phase aqueuse et une phase organique.

- **Principe :**

On utilise pour cela des ampoules à décanter. On choisit une ampoule de volume tel que les phases liquides occupent au maximum la moitié de l'ampoule.

- 1) On introduit la solution à extraire et le solvant d'extraction dans l'ampoule
- 2) Après avoir bouché l'ampoule, on la tient retournée, à deux mains, et on agite énergiquement, pour extraire le soluté de façon optimale. Il faut prendre soin de dégazer entre chaque agitation pour éviter une surpression dans l'ampoule.
- 3) Il faut déboucher l'ampoule lorsqu'on la repose sur son support, toujours pour éviter une surpression. On doit ensuite laisser décanter les phases.
- 4) On récupère ensuite les deux phases séparément : la phase aqueuse est en générale plus dense que les phases organiques. On recommence l'extraction de la phase aqueuse avec une nouvelle fraction de phase organique. Une fois l'extraction terminée, on réunit toutes les phases organiques pour le séchage.



**Figure n°57** : Protocole d'extraction liquide-liquide à l'ampoule à décanter

#### 4. La Lampe UV:

La visualisation de la plaque CCM, a été réalisée à l'aide d'une lampe UV de type UVSL-58.



**Figure N°58:** la lampe UV de type UVSL-58.

#### 5. Le spectrophotomètre :

L'analyse par spectrophotométrie d'absorption UV-Vis, a été réalisée au laboratoire d'enzymologie à l'aide d'un spectrophotomètre UV, **JENWAY 6300 BIOCHIMIE (RDC)**.

##### ✓ PRINCIPE :

Soit une lumière monochromatique traversant une solution absorbante de concentration  $C$  contenue dans une cuve d'épaisseur  $l$ .

Une partie de ce rayonnement sera absorbée par l'échantillon et une partie sera transmise. Bouguer, Lambert et Beer ont étudié les relations qui existent entre  $I_0$  et  $I$  : l'intensité d'une lumière monochromatique traversant un milieu où elle est absorbée décroît de façon exponentielle :  $I = I_0 e^{-kIC}$

\*  $I_0$  est l'intensité de la lumière incidente

\*  $I$  est l'intensité après passage à travers la cuve contenant la solution (intensité transmise)

\*  $l$  est la distance traversée par la lumière (épaisseur de la cuve) (en cm)

\*  $C$  est la concentration des espèces absorbantes

\*  $k$  est une constante caractéristique de l'échantillon.

Cette équation peut se réécrire  $\log(I_0/I) = k l C / 2.3 = \epsilon l C$ .

\*  $\log(I_0/I)$  est appelé absorbance ( $A$ )

\*  $I/I_0 = T$  est la transmission

\*  $\epsilon$  est le coefficient d'extinction molaire ; c'est une caractéristique de la substance étudiée à une longueur d'onde donnée. Si  $C$  est la molarité,  $\epsilon$  est en  $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$ .

On obtient alors la relation connue sous le nom de loi de Beer-Lambert :

$$A = -\log T = \epsilon l C$$

**(F.GUEDIRA Module 14/ Cours de Spectroscopie/ Chapitre III)**



**Figure N°59: le spectrophotomètre UV, JENWAY 6300 BIOCHIMIE (RDC).**

## 6. L'étuve :

L'incubation des souches a été réalisée au laboratoire de biotechnologie végétale à l'aide d'une étuve **MEMMERT**.



**Figure N°60 : l'étuve MEMMERT.**

The development of bio-guided trials on medicinal plants therapeutic target has evolved in recent years, through pharmacology who is interested in discovering new molecule expressing a therapeutic activity and development of useful drugs.

The main of this work, is the study of a plant *Cinnamomum zeylanicum* on both chemical and biological plan, which revealed its richness in secondary metabolites. Therefore, we perform Identification and quantification analysis in order to subject them to bio guided tests for the evaluation of their antimicrobial potential. To achieve our objective, we used qualitative and quantitative methods: the thin layer chromatography (TLC), ultra violet spectroscopy (UV) which confirmed the components of our different extracts. The antimicrobial effect of our medicinal plant was evaluated by disk diffusion method on Mueller-Hinton agar medium for 10 Gram (-) bacteria (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa*: ATCC 27853, *Pseudomonas aeruginosa*: ATTC 2330 *Pseudomonas aeruginosa*: ATT1616, *Klebsiella pneumoniae*: ATCC 700603, *Acinetobacter baumannii*: 1625 *Salmonella*: clinical strain, *Citrobacter freundii*: 22, *Enterobacter aerogenes*: clinical strain, *Proteus Sp*: clinical strain), Gram bacteria (+): ( *Staphylococcus aureus* 2S: ATCC 43300), and on Sabouraud agar for two Mushrooms (*albicans candida*: clinical strain, *Rhizopus oryzae*: M491890.1) .

This confirms literary results and open large perspectives on bioguided fractioning of actives extracts to identify molecules responsible of therapeutic effect.

شهد تطور التجارب الحيوية على النباتات الطبية زخماً هائلاً في السنوات الأخيرة وذلك بفضل الكيمياء الطبية التي تركز على اكتشاف جزيئات جديدة و الذي يعبر عن النشاط العلاجي وتنميتها في الادوية المفيدة.

الهدف من هذه الدراسة هو المساهمة في دراسة نبتة *cinnamomum zeylanicum* من حيث التركيب الكيميائي كما يهدف الى تقييم قدرتها المضادة للمكروبات و ذلك من خلال غناها علي المركبات الثانوية , ليتحقق هدفنا، قمنا باستخدام تقنية أسلوب التحليل الكمي و النوعي : الاستشراب اللوني بالطبقة الرقيقة (CCM) و من ناحية أخرى لتأكيد مكونات بنيتها استخدمنا تقنية التحليل الطيفي للأشعة فوق البنفسجية (UV-Vis). تم اجراء مضادات المكروبات لمركباتنا باستخدام طريقة تقنية نشرها على اغار مولر هينتون للسلاطات البكتيرية

(*Escherichia coli* : ATCC 25922 , *Pseudomonas aeruginosa* : ATTC 27853, *Pseudomonas aeruginosa* :ATTC 2330,*Pseudomonas aeruginosa* : ATT1616, *Klebsiella pneumoniae* : ATCC 700603, *Acinetobacter baumannii* : 1625,*Salmonelle* : souche clinique,*Citrobacter freundii* : 22, *Enterobacter aerogenes* : souche clinique) (*Proteus Sp* : souche clinique et *Staphylococcus aureus* 2S : ATCC) الفطر (M491890.1) : (*Le candida albicans* : souche clinique, *Rhizopus oryzae*) :

نتائج هذه التجارب الحيوية الموجهة المتحصل عليها دليل على أن منتجنا لديها تأثير مثير للاهتمام لمضادات المكروبات على معظم السلاطات التي تم اختبارها و يفسح المجال للتعرف على الجزيئات المسؤولة عن التأثير العلاجي.

Année universitaire : 2015-2016	Présenté par : BENALILECHE MERYEM BENALILECHE YAMINA
<b>Essais bio-guidés du percolât de <i>Cinnamomum zeylanicum</i>.</b>	
Mémoire de fin de cycle pour l'obtention de diplôme de Master en Biochimie Moléculaire et Santé.	
<p>Résumé :</p> <p>L'élaboration des essais bio-guidés sur les plantes médicinales a connu un essor considérable ces dernières années, grâce à la pharmacologie qui s'intéresse à la découverte de nouvelles molécules exprimant une activité thérapeutique et leur développement en médicaments utiles.</p> <p>Le but de ce travail, est l'étude de notre plante médicinale <i>Cinnamomum zeylanicum</i> aussi bien sur le plan chimique que biologique, qui ont révélé sa richesse en métabolites secondaires, c'est pour cela que nous avons procédé à leur identification ainsi que leur quantification afin de les soumettre à des essais bio-guidés, afin d'évaluer leur potentiel antimicrobien. Pour atteindre notre objectif, nous avons utilisé des méthodes d'analyses qualitatives et quantitatives : la chromatographie sur couche mince (CCM), et la spectrophotométrie ultra-violet/visible (UV-Vis), l'effet antimicrobien de notre plante médicinale a été évalué par la méthode de diffusion des disques sur milieu gélosé Mueller-Hinton, pour 10 bactéries Gram (-) : (Escherichia coli : ATCC 25922 , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> : ATTC 27853, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> : ATTC 2330, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> : ATT1616, <i>Klebsiella pneumoniae</i> : ATCC 700603, <i>Acinetobacter baumannii</i> : 1625, Salmonelle : souche clinique, <i>Citrobacter freundii</i> : 22, <i>Enterobacter aerogenes</i> : souche clinique , <i>Proteus Sp</i> : souche clinique), une bactérie Gram (+) : (<i>Staphylococcus aureus</i> 2S : ATCC 43300), et sur gélose Sabouraud pour deux Champignons : (<i>Candida albicans</i> : souche clinique, <i>Rhizopus oryzae</i> : M491890.1) .</p> <p>Ceci confirme des résultats déjà établies et ouvre les perspectives à un fractionnement bio-guidé des extraits actifs afin d'identifier les molécules responsables de l'effet thérapeutique.</p>	
Laboratoire de Génétique, Biochimie et Biotechnologies végétales	
<p><b><u>Membre du jury</u></b></p> <p><b>Président du jury</b> : Pr. KHELIFI Douadi</p> <p><b>Rapporteur</b> : Dr. MOUAS Toma Nardjes</p> <p><b>Examineur</b> : Dr. BELLIL Ines</p>	
<b>Date de Soutenance</b> : Le 15/06/2016	