

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET
POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE CONSTANTINE1



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
جامعة قسنطينة 1

N° de série :

.....

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie et Ecologie Végétale

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

Du Diplôme de Master

Filière : BIODIVERSITE ET PRODUCTION DES PLANTES

Option : Métabolisme secondaire et molécules bioactive

Thème :

Etude comparative phytochimique et biologique de deux plantes médicinales *Aloe barbadensis* Miller et *Agave americana* L.

Présenté par :

SEGUEN Wafa

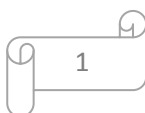
BRIMESS SARA

Soutenu le : 23/06/2014

Devant le jury :

- *Présidente : Melle. CHAIB GHANIA // M.A.A Université Constantine 1*
- *Promoteur : Mr. CHIBANI SALIH // M.A.A Université Constantine 1*
- *Examinatrice : Mme. BAAZIZ NACIRA // M.A.A Université Constantine 1*

Année universitaire 2013/2014



Remerciements

Nos remerciements les plus vifs s'adressent à notre directeur de mémoire Mr Chibani S. (professeur à l'Université de Constantine 1), qui nous a honoré en acceptant de diriger ce travail, en lui exprimons nos sentiments de reconnaissances les plus sincères pour sa précieuse aide, ses encouragements et ses conseils.

En remerciements Melle Chaib Gh. (Professeur à l'université de Constantine1) d'avoir accepté la présidence du jury de notre travail.

On vous exprime notre profonde gratitude, et expressions de reconnaissance à nos enseignants, merci de votre aide et vos conseils précieux le long de notre cycle d'étude.

Nous tenons à exprimer notre grande considération, et profond respect à Mme. Baaziz N. (professeur à l'université de Constantine 1), d'avoir accepté de juger ce modeste travail. Nos sentiments de reconnaissance et nos remerciements vont à toute personne qui a participé de près ou de loin dans la réalisation de mon travail.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail, à mes très chers parents
Surtout ma mère qu'il trouve ici toute ma gratitude pour

leur soutien tout au long de mes études

À mes sœurs Lamia, et Souleïf.

À mes frères Salch, et Ayman

À toute ma famille.

À mes très chères amies Sara, Hind, Halima, Khadija,

Aycha, Soumia, Rokia, Amina, Hannane.

À tous mes collègues et mes maîtres

À tous ceux que j'aime.

Wafa

Dédicace

Je dédie ce travail à mes parents, surtout ma mère,

À mes frères mahmoud el taye, mohamed, abd el hamid

Et mon mari lamine à mes enfants adem et ibrahim

À mes amis wafa, soumia, rokia, aycha, khadija, mouna,
sara

À tous mes collègues et mes maîtres

À tous ceux que j'aime

sara

Liste des abréviations

AA : Acide aminé

HCl : Acide chlorhydrique

AM : coefficient d'Absorbance Molaire

Abs : Absorbance

DPPH : 2,2-DiPhenyl-2-PicrylHydrazyl)

DCPIP : 2,6 DichloroPhénol-IndoPhénol

Eq AG : Equivalent en Acide Gallique

Eq Q : Equivalent en Quercétine

CI(50%) : Concentration d'inhibition de 50%

Na₂SO₄ : Anhydre acétique

Na₂CO₃ : Picrate de sodium

cc : Concentré

Ms : Matière sèche

AcOEt : Acétate d'éthyle

ATB : Antibiotique

CCM : Chromatographie sur couche mince

cm : Centimètre

MeOH : Méthanol

CHCl₃ : Chloroforme

Mg : magnésium

Et *al.* : Et autre auteurs

mg : Milligramme

min : Minutes

ml : Millilitre

mm : Milimètre

n-BuOH : n- butanol

nm : Nanomètre

rpm : Rotation par minute

UV : Ultra-violet

[C] : Concentration

µg : Microgramme

°C : degré Celcius

EtOH : Ethanol

g : gramme

IC50 : Concentration inhibitrice à 50%

ICH50 : Concentration inhibitrice de l'hémolyse à 50%

Kg : Kilogramme

m : mètre

MeOH : Méthanol

µM : micromètre

OMS : Organisation mondiale de la santé

Al : Aloe barbadensis Miller

Ag : Agave americana L.

E.M.A.B : Extrait méthanolique d'aloë barbadensis Miller

E.M.A.A : Extrait méthanolique d'agave americana L.

CCM : Chromatographie sur couche mince

S : Système

Arginine : Arg

Aspartic acid : Asp

Asparagine : Asn

Cysteine : Cys

Glycine : Gly

Isoleucine : Ile

Methionine : Met

Phenylalanine : Phe

Proline : Pro

Tyrosine : Tyr

Liste des tableaux :

Tableau.1 : Classification taxonomique des Asparagacées

Tableau.2 : Position de la famille dans les systèmes de classifications évolutives

Tableau.3 : Activités biologiques de quelques composées phénolique (Bruneton, 1999).

Tableau.4 : Liste des principaux radicaux libres.

Tableau.5 : Réactifs des sels minéraux

Tableau.6 : Résultats de mise en évidence des composées réducteurs.

Tableau.7 : Résultats de mise en évidence d'amidon

Tableau.8 : Résultats de mise en évidence des lipides.

Tableau.9 : Résultats de criblage des acides aminés

Tableau.10: Résultats de criblage des flavonoïdes.

Tableau.11 : Résultats de criblage des Anthraquinones

Tableau.12 : Résultats de criblage des Quinones

Tableau.13 : Résultats de criblage des Anthocyanes

Tableau.14 : Résultats de criblage des Tanins

Tableau 15 : Résultats de criblage des Alcaloïdes.

Tableau.16 : Résultats de criblage des saponosides.

Tableau.17 : Résultats de criblage des hétérosides cyanogénétiques.

Tableau.18 : Résultats de criblage des triterpènes et stéroïdes

Tableau.19 : CCM des coumarines des organes d'Aloe barbadensis Miller et Agave americana L.

Tableau.20 : Résultats du test de chimique des sels minéraux

Tableau.21: La différente valeur du PH de gel d'Aloe barbadensis Miller et Agave americana L.

Tableau.22 : CCM d'EMAB et révélation avec deux longueurs d'onde UV 254, UV 366

Tableau.23 : CCM d'EMAA et révélation avec deux longueurs d'onde UV 254, UV 366

Tableau.24 : Taux de polyphénols existant dans les extraits EMAB et EMAA.

Tableau.25 : Activité antibactérienne d'extrait d'Aloe barbadensis Miller

Tableau.26: Activité antibactérienne d'extrait d'Agave americana L.

Tableau.27 : Le pourcentage d'inhibition d'EMAB et EMAA

Tableau.28 : Concentration inhibiton 50% (CI)

Tableau.29 : l'Activité fongicide d'EMAB

Tableau.30 : l'Activité fongicide d'EMAA

Liste des figures :

Figure.1 : Distributions géographique du pays d'origine

Figure .2 : L'Agave et ses différentes parties

Figure.3 : photos de l'espèce *Agave americana* L.

Figure.4 : photos d'épines aux niveaux des feuilles d'*Agave americana* L.

Figure.5 : photo d'agave *americana* L. avec la hampe florale

Figure.6 : photo des racines d'*Agave americana* L.

Figure.7 : photo présente les fleurs d'*Agave americana* L.

Figure.8 : Photo de capsule(A) et graines(B) d'*Agave americana* L.

Figure.9 : photo de l'espèce *Aloe ferox*

Figure.10 : photo de l'espèce *Aloe arborescens*

Figure.11 : photo de l'espèce *Aloe variegata*

Figure.12 : photo de l'espèce *Aloe barbadensis* Miller

Figure.13 : photo de feuille d'*Aloe barbadensis* Miller

Figure.14 : Structure de la feuille d'un aloès sous un microscope optique

Figure.15 : photo de fleurs d'*Aloe barbadensis* Miller

Figure.16 : Photo de fruit d'*Aloe barbadensis* Miller

Figure.17 : Gravure égyptienne, avec pieds d'Aloès en haut à droite

Figure.18 : Plantations égyptiennes, avec pieds d'Aloès dans le carré central

Figure.19 : Les propriétés biologiques d'Aloe barbadensis Miller

Figure.20 : Glucide (glucose) avec 6 carbone et 5 OH et 1 groupement aldéhyde

Figure.21 : représentation de Fischer des formes D et L du glucose. Les deux sont symétriques par rapport à un plan.

Figure.22 : Classification des polyphénols

Fig.23 : Structure de base des flavonoïdes.

Figure.24 : Les principales classes de flavonoides

Figure.25 : Structure chimique d'anthocyanes

Figure.26 : Bactérie d'E.Coli

Figure.27 : Bactérie du Bacillus cereus

Figure.28 : l'influence de bactérie Bacillus cereus sur l'humain

Figure.29 : Bactérie de Staphylococcus aureus

Figure.30 : L'influence du Staphylococcus aureus sur l'humain

Figure.31 : Champignon de Penicillium sp.

Figure.32 : Champignon Rhizopus sp.

Figure.33 : Protocole d'études expérimentales

Figure.34 : photos de plantes utilisées dans la recherche

Figure.35 : Distribution géographique de la récolte d'Aloe barbadensis Miller et Agave americana L.

Figure.36 : L'appareil du lyophilisateur

Figure.37 : Broyage (A) et filtration (B) du matériel végétal

Figure.38 : Photos de macération de la matière végétale de chaque espèce

Figure.39 : photo de filtration du macéré

Figure.40 : photo du standard d'acides aminés

Figure.41 : Les étapes de la préparation de plaque CCM

Figure.42 : Dépôt d'échantillon

Figure.43 : Le développement du chromatogramme

Figure.44 : La révélation par la ninhydrine

Figure.45 : Détection des flavonoïdes et anthocyanes par l'HCl

Figure.46 : Tremper la bande dans le picrate du sodium

Figure.47 : photos des récipients

Figure.48 : Evaporation rotative (Rotavapor)

Figure.49 : les principales étapes du dosage des polyphénols

Figure.50 : La détermination du PH du gel d'Aloe barbadensis Miller et Agave americana L. à l'aide du papier du PH (A), et la comparaison de la couleur avec les standards (B).

Figure.51 : La détermination du PH par l'appareil du PH mètre

Figure.52 : Les différentes étapes de l'activité antimicrobienne

Figure.54 : Les différentes étapes d'activité anti-oxydante (A, B, C, D, E, F, G)

Figure. 55 : CCM des acides aminés du gel d'Aloe barbadensis Miller et Agave americana L.

Figure.56 : Photographie de criblage des Flavonoïdes

Figure.57 : les résultats du criblage des tanins

Figure.58 : Photographies des résultats de saponosides dans l'Aloe barbadensis Miller et Agave americana L.

Figure.59 : Photos des résultats des stérols, stéroïdes et tritérpène d'Aloe barbadensis Miller et Agave americana L.

Figure.60 : Droite d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux

Figure.61 : Pourcentage d'inhibition du radicale libre en fonction des concentrations des extraits d'écorce et gel d'Aloe barbadensis Miller.

Figure.62 : Pourcentage d'inhibition du radicale libre en fonction des concentrations des extraits d'écorce et gel d'Agave americana L.

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Sommaire

Introduction générale

Chapitre I: Synthèse bibliographique

I. Etude botanique de la famille Asparagacées	1
I.1 Description générale.....	1
I.2- Classification de la famille Asparagacées.....	2
I.3 Sous-famille Agavoideae.....	3
I.4 Genre Agave.....	4
I-5 L'espèce <i>Agave Americana</i> L.....	5
I.6 position systématique de l'espèce <i>Agave americana</i> L.....	9
I.7 Utilisation d' <i>Agave americana</i> L.....	10
II. Etude botanique de la famille des Xanthorrhoeacées	12
II.1 Sous-famille Asphodeloideae.....	12
II.1.1 Caractère généraux de sous famille Asphodeloideae	13
II.2 Position systématique de la famille Xanthorrhoeaceae et sous famille Asphodeloideae	14
II.3 Le genre Aloe	15
II.3.5 <i>Aloe vera</i> (Linné) ou <i>Aloe Vulgaris</i> (Lamarck) ou <i>Aloe Barbadosis</i> (Miller).....	17
II.3.5.1 description botanique d' <i>Aloe vera</i> ou <i>Aloe barbadensis</i> Miller.....	18
II-3-5-2 Classification.....	21
II-3-5-3 Historique et utilisations d' <i>Aloe barbadensis</i> Miller.....	21

III. Les métabolites primaires et secondaires	26
III.1 Définition générale.....	26
III.1.1 Les métabolites primaires.....	26
III.1.1.1 Les glucides.....	26
III.1.1.1.5 Le rôle des glucides.....	31
III.1.1.2 Les acides aminés (aminoacides).....	32
III.1.1.3 Les lipide.....	32
III.1.1.3.1 Le rôle des lipides.....	33
III.1.2 Métabolites secondaires.....	33
III.1.2.1 Propriétés biologiques.....	34
III.1.2.2 Les composés phénoliques.....	35
III.1.2.2.1 Propriétés biologiques.....	36
III.1.2.2.2 Les flavonoïdes.....	38
III.1.2.2.2.2 Propriétés biologiques des flavonoïdes.....	40
III.1.2.2.3 Les anthocyanidines.....	41
III.1.2.2.4 Les saponosides.....	42
III.1.2.2.4.1 Propriétés biologiques des saponosides.....	42
III.1.2.2.5 Alcaloïdes.....	42
III.1.2.2.5.1 Propriétés biologiques des alcaloïdes.....	42
III.1.2.2.6 Les coumarines.....	43
IV. LES SELS MINERAUX	44
IV.1 Le rôle des sels minéraux.....	44
V. Les activités biologiques	45
V.1 Activité antibatérienne	45
V.1.1 Quelques bactéries.....	46
V.2 L'activité antifongique.....	49
V.2.1 Les différents type.....	49
V.2.2 Quelques champignons.....	50
V.3 Les antioxydants.....	51
VI. Evaporateur rotatif	53
VII. Dosage des phénols totaux	53
VIII. Lyophilisateur	54

Chapitre II: Partie expérimentale

I. Le matériel végétal.....	57
I.1 Récolte de la matière végétale.....	57
I.2 Conservation.....	58
I.3 Broyage de parties sec.....	59
I.4 La macération de la matière végétale.....	59
I.5 La filtration.....	60
II. Screening phytochimique.....	61
II.1 Criblage des métabolites primaires.....	61
II.1.1 Les composés réducteurs.....	61
II.1.2 Criblage d'amidon.....	61
II.1.3 Criblage des acides lipides.....	61
II.1.4 Criblage des acides aminés.....	61
II.2 Criblage des métabolites secondaires.....	65
II.2.1 Criblage des composés phénolique.....	65
II.2.2 Criblage des tanins.....	65
II.2.3 Criblage des anthraquinones.....	66
II.2.4 Criblage des quinones.....	66
II.2.5 Criblage des hétérosides cyanogénétiques.....	66
II.2.6 Criblage des Alcaloïdes.....	68
II.2.7 Criblage des saponosides.....	68
II.2.8 Criblage des coumarines.....	68
II.2.9 Criblage des stérols et stéroïdes et triterpènes.....	68
II.3 Criblage des sels minéraux.....	69
III. L'étude analytique des métabolites secondaires.....	70
III.1 Evaporation.....	70
III.1.1 Dosage des polyphénols.....	70
III.1.2 La séparation par CCM.....	71
IV. Détermination du PH du gel.....	73
V. Activités biologiques.....	74

V.1 <i>Activité antibactérienne de l'extrait hydroalcoolique</i>	74
V.1.1 Protocole expérimental.....	74
V.2 Le pouvoir antioxydant.....	77
V.3 Méthode d'étude du pouvoir antifongique des extraits.....	79

Chapitre III : Résultat et discussion

I. Screening phytochimique.....	80
I.1 Métabolites primaires.....	80
I.1.1 Mise en évidence des glucides.....	80
I.1.1.1 Mise en évidence des composées réducteurs.....	80
I.1.1.2 Mise en évidence de l'amidon.....	81
I.1.2 Mise en évidence des lipides.....	82
I.1.3 Détection des acides aminés par CCM.....	83
I.2 Métabolites secondaires.....	84
I.2.1 Criblage des Flavonoïdes.....	84
I.2.2 Criblage d'Anthraquinones.....	86
I.2.3 Criblage des Quinones.....	86
I.2.4 Criblage de d'Anthocyanes.....	87
I.2.5 Criblage des Tanins.....	88
I.2.6 Criblage des Alcaloïdes.....	89
I.2.7 Criblage des saponosides.....	91
I.2.8 Criblage des hétérosides cyanogénétiques.....	92
I.2.9 Criblage des triterpènes et stéroïdes.....	93
I.2.10 Criblage des coumarines.....	95
I.3 Criblage des sels minéraux.....	96
I.4 la détermination du PH.....	96
I.5 Chromathographie sur couche mince.....	98
II. Dosage des polyphenols.....	100
III. Les activités biologiques.....	102
III.1 Activité antibactérienne de l'extrait méthanolique.....	102
III.2 Activité antioxydante.....	104
III.3 Activité antifongique.....	106

Chapitre

1

Les plantes sont depuis toujours une source essentielle de médicaments. Aujourd'hui encore une majorité de la population mondiale, plus particulièrement dans les pays en voie de développement, se soigne uniquement avec des remèdes traditionnels à base de plantes. De l'aspirine au taxol, l'industrie pharmaceutique moderne elle-même s'appuie encore largement sur la diversité des métabolites secondaires végétaux pour trouver de nouvelles molécules aux propriétés biologiques inédites. Cette source semble inépuisable puisque seule une petite partie des 400000 espèces végétales connues ont été investiguées sur les plans phytochimique et pharmacologique, et que chaque espèce peut contenir jusqu'à plusieurs milliers de constituants différents (**Hostettmann et al., 1998**).

L'utilisation des plantes en thérapeutique est très ancienne et connaît actuellement un regain d'intérêt. Il est possible d'utiliser les plantes entières ou les produits d'extraction qu'elles fournissent (**Marc et al., 2001**).

Selon l'organisation mondiale de la santé (**O.M.S**), la médecine traditionnelle se définit comme l'ensemble de toutes les connaissances pratiques explicables ou non pour diagnostiquer ou éliminer un déséquilibre physique, mental en s'appuyant exclusivement sur l'expérience vécue et l'observation, transmises de génération en génération (oralement ou par écrit) (**Adjanohoun et al., 1979**).

Par ailleurs, selon l'OMS, près de 6377 espèces de plantes sont utilisées en Afrique, dont plus de 400 sont des plantes médicinales qui constituent 90% de la médecine traditionnelle. En 2004, près de 75% de la population africaine a eu recours aux plantes pour se soigner et n'a pas accès aux médicaments dits modernes.

Sachant qu'une plante peut contenir plusieurs milliers de substances différentes, on peut se rendre compte de la richesse naturelle du règne végétal.

La valorisation scientifique de la médecine traditionnelle doit conduire notamment à la mise au point de médicaments à base de plantes. Aujourd'hui, il a été estimé que les principes actifs provenant des végétaux représentent 25% des médicaments prescrits soit un total de 120 composée d'origine naturelle provenant de 90 plantes différentes (**Potterat, 1997**).

L'Algérie possède une richesse floristique considérable. On compte environ 3000 espèces de plantes dont 15% sont endémiques (**Quezel et Santa, 1963**). Ce potentiel de plantes

médicinales comporte des milliers d'espèces présentant divers intérêts et constituent un axe de recherche scientifique, plus particulièrement dans le domaine des substances naturelles.

L'endémisme et l'utilisation éventuelle en médecine traditionnelle demeurent nos critères principaux de sélection de plantes en vue d'une investigation chimique.

Dans ce contexte et notamment dans le cadre du programme de recherche lancé par notre laboratoire sur les plantes médicinales, nous nous sommes intéressés à l'étude de deux espèces médicinales, appartenant au genre *Aloe* (**Xanthorrhoeacées**) et de genre *Agave* (**Asparagacées**).

Ce manuscrit est divisé en trois parties :

1) La première partie :

Etudes bibliographique qui résume les principales caractéristiques des deux espèces sélectionnées appartenant à la famille de : Xanthorrhoeacées et Asparagacées, *Aloe barbadensis* Miller et *Agave americana* L., et des substances actives végétales.

2) La deuxième parties du travail expérimentale elle est consacrée à :

Préparation des extraits bruts secs aqueux et hydro alcooliques et la détermination des différentes classes chimiques par criblage phytochimique aux deux plantes et dosage des polyphénols et enfin l'évaluation du pouvoir antimicrobienne de 3 souches bactériennes et le pouvoir antifongique de 2 souches fongiques et l'activité antioxydant des extraits méthanoïque.

3) Dans la troisième partie, nous discutons les résultats obtenus lors de cette étude

4) et notre travail est achevé par une conclusion et des perspectives.

I- Etude botanique de la famille Asparagacées :

Les Asparagacées ou Asparagaceae sont une famille de plantes monocotylédones sont généralement originaires des régions tempérées chaudes et subtropicales, où elles sont largement répandues (**Wikipedia. Asparagaceae**).

I.1 Description générale :

I.1.1 Les racine et tige :

- Ce sont soit des plantes herbacées pérennes rhizomateuses soit des lianes.
- Certaines espèces sont qualifiées d'arbrisseaux même si, bien sûr, les monocotylédones n'ont ni vrais troncs ni formation de bois secondaire.
- La fonction chlorophyllienne est souvent transférée aux tiges.

I.1.2 Feuilles :

- Une des caractéristiques de cette famille est les feuilles très réduites, généralement jusqu'à l'état d'écailles plus ou moins épineuses. Elles abandonnent souvent leurs fonctions chlorophylliennes.
- Les feuilles sont dépourvues de stipules.
- Les feuilles ne doivent pas être confondues avec les cladodes, de nombreux et courts rameaux plats, visibles sur les tiges. Ce sont ces cladodes qui assurent le fonctionnement chlorophyllien.
- Il est néanmoins important de faire remarquer que l'introduction de nouveaux genres dans la famille, par l'APG II remet en question cette description traditionnelle des feuilles d'Asparagacées.

I.1.3 Fleurs :

- Selon les espèces, on retrouve tous les grands schémas de reproduction : les plants sont soit monoïques, soit dioïques, on trouve des cas d'hermaphrodisme, de polygamie.
- Il en résulte des inflorescences diverses : les fleurs peuvent être solitaires ou groupées en cyme, en ombelle ou en grappe.
- Les fleurs sont petites et régulières (cycliques).
- Le périanthe est composé de trois pétales et trois sépales, indissociables. Ces six tépales sont soit libres soit soudés. Les fleurs sont donc fondamentalement trimères.
- Les six tépales ont l'aspect de pétales (pétaloïdes), soit l'aspect de sépales (sépaloides).
- L'androcée contient 6 étamines toutes fertiles disposées sur deux verticilles (diplostémones). Les anthères semblent être insérées par leur partie dorsale (dorsifixes) et s'ouvrent vers l'intérieur de la fleur (introrse). Enfin la déhiscence des anthères est longitudinale.
- Le gynécée est formé de trois carpelles soudés. Les ovaires, triloculaires, sont supères. Chaque fleur n'a qu'un style mais avec deux à douze ovules par loge, qui ont une placentation axile. Les ovules prennent des positions multiples selon les espèces.

I.1.4 Fruit :

- Typiquement, le fruit est une baie.
- Les graines sont albuminées (plus ou moins selon les genres et espèces)
- L'embryon peut être droit jusqu'à courbé, (**Wikipedia. Asparagacées**)

I.2- Classification de la famille Asparagacées :

Cette famille n'existe pas en classification classique de Cronquist (1981) qui assimile ces plantes aux Liliacées. La classification phylogénétique a donc séparé cette famille des Liliacées et la rattache à l'ordre des Asparagales. L'Angiosperm Phylogeny Group (APG) a modifié encore sensiblement le classement et en classification phylogénétique APG III (2009)

la famille des Asparagaceae inclut les Agavaceae, et la classification des Asparagaceae en sept sous-familles est différente:

Agavoideae, Aphyllanthoideae, Asparagoideae, Brodiaeoidae, Lomandroideae, Nolinoideae et Scilloideae (Chase MW et al., 2009).

Hutchinson (1964)	Traub (1953)	Takhtajan (1980)	Dahlgren,yeo Clifford (1982)	Dahlgren,yeo Clifford (1985)	APG III (2009)
		Ordre	Ordre	Ordre	Ordre
		Asparagales	Asparagales	Asparagales	Asparagales
Famille	Famille	Famille	Famille	Famille	Famille
Agavacée	Agavacée	Agavacée	Agavacée	Agavacée	Asparagacées
Tribu	Tribu	Tribu	Sous-famille	Sous-famille	Sous-famille
Agavacée	Agavacée	Agavacée	Agavoidée	Agavoidée	Agavoidée

Tableau.1 : Classification taxonomique des Asparagacées

I.3 Sous-famille Agavoideae :

Agavoideae (correspondant à l'ancienne famille Agavaceae), est une sous-famille de plantes monocotylédones à fleurs de la famille : Asparagaceae, et d'ordre : Asparagales. Il a déjà été traité comme une famille distincte Agavaceae (Chase MW et al., 2009), Le groupe comprend de nombreuses désert bienconnu et les types de zones sèches telles que l'agave, yucca, et Joshua tree. Il existe environ 640 espèces dans environ 23 genres (Stevens PF, 2001), répandue dans les régions tropicales, subtropicales et chaudes du monde.

Les espèces peuvent être succulent ou pas. En général, Agavoideae laisse se produire sous forme de rosettes à l'extrémité d'une tige ligneuse, qui peuvent aller de très courte à la hauteur des arbres. Les feuilles sont parallèles à pâte persillée,et apparaissent généralement longues et

pointues, souvent avec une colonne vertébrale durci sur la fin, et parfois avec des épines supplémentaires le long des marges (**Wikipidea, Agavoideae**).

I.4 Genre Agave :

Le genre Agave compte 207 variétés, des quelles 161 sont au Mexique, Le mot Agave en grec *agauê*, signifie l'admirable, Carlos Linneo, en 1753, est le premier chercheur à décrire le genre Agave dans « Espèce Agave *Americana* » (**Ivana Richter, 2011**)

L'Agave est une plante monocotylédone, actuellement classée dans la famille des Asparagacées. Elle est présente du sud du Canada jusqu'au Nord de l'Amérique du Sud et les îles Caraïbes, en particulier au Mexique et dans toute l'Amérique centrale.



■ Présent □ Absent

Figure.1 : Distributions géographique du pays d'origine d'Agave (USDA NRCS National Plant Data Team)

Cette plante a été exploitée depuis très longtemps pour de multiples usages (fourrage, nourriture et boissons, médicaments, construction, tissage, papier,...) par les populations de la Mesoamérique et l'Ari-Amérique, premiers habitants du Mexique (**Howard Gentry, 2003**).

Elle présente une inflorescence en forme de panicule, et des feuilles rigides et étroites dans la classification botanique, elle appartient à la section *Rigidae*, dans laquelle sont incluses les

espèces fibreuses du Mexique et d'Amérique centrale, à partir desquelles sont aussi produites des boissons alcooliques.

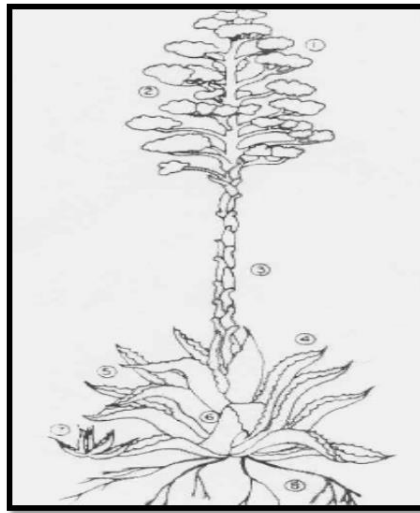


Figure .2 : L'Agave et ses différentes parties (Maguey)

1. Fleur, 2. Graine, 3. Pannicule, 4. Épine, 5. Feuille, 6. Tige, 7. Rejeton, 8. Racine

I-5 L'espèce *Agave americana* L.:

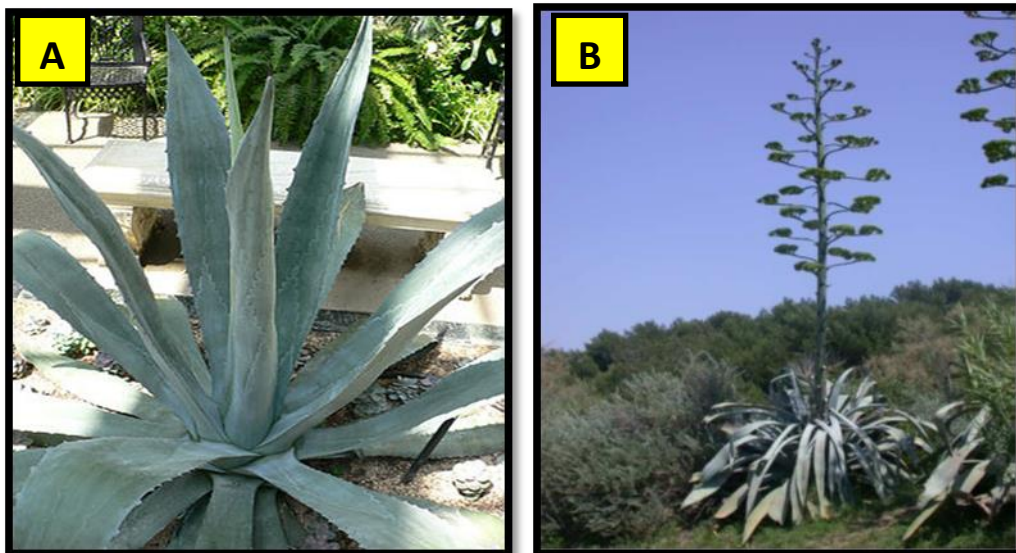


Figure.3 : photos de l'espèce *Agave americana* L.

-A : *Agave americana* avant la floraison.

-B : *Agave americana* après la floraison.

L'espèce de : *Agave americana* L., communément appelé agave américain ou Agave d'Amérique (**Wikipedia, *Agave americana***), est une espèce d'agaves de la famille des Asparagacées. Il s'agit d'une espèce originaire d'Amérique du Nord, très utilisée en horticulture, et comme des boissons et aussi comme plante médicinale.

L'*Agave americana* L. sont des plantes pérennes atteint 2,5 m de hauteur, dont la partie souterraine à la forme d'un rhizome (**Pierre-Olivier Albano, 2006**), et la partie aérienne présente de longues hampe florale et de grandes feuilles fibreuses, disposées en forme de rosette, de couleur vert bleuté sont dures possèdent un tissu parenchyme chlorophyllien (chlorenchyme épais). La cuticule cireuse externe est épaisse, avec une faible fréquence de stomates. Les tissus charnus sont riches en eau, qualifiés de succulents.

Elles présentent aussi des rejets succulents (**Nobel et al., 2002**), et elle est épaisse, épineuses sur les bords et au sommet.



Figure.4 : photos d'épines aux niveaux des feuilles d'*Agave americana* L.

-**A:** Épineuses sur les bords.

-**B:** Épineuses au sommet.

Elles atteignent jusqu'à 2 m de long et sont disposées en large rosette. Les extrémités de ses feuilles sont recourbées vers le bas.

La hampe florale pousse à partir du centre de la rosette de feuilles et atteint environ 5 à 10 m de hauteur (**Wikipedia, *Agave americana***), Elle porte de 15 à 35 ramifications horizontales et légèrement ascendantes.

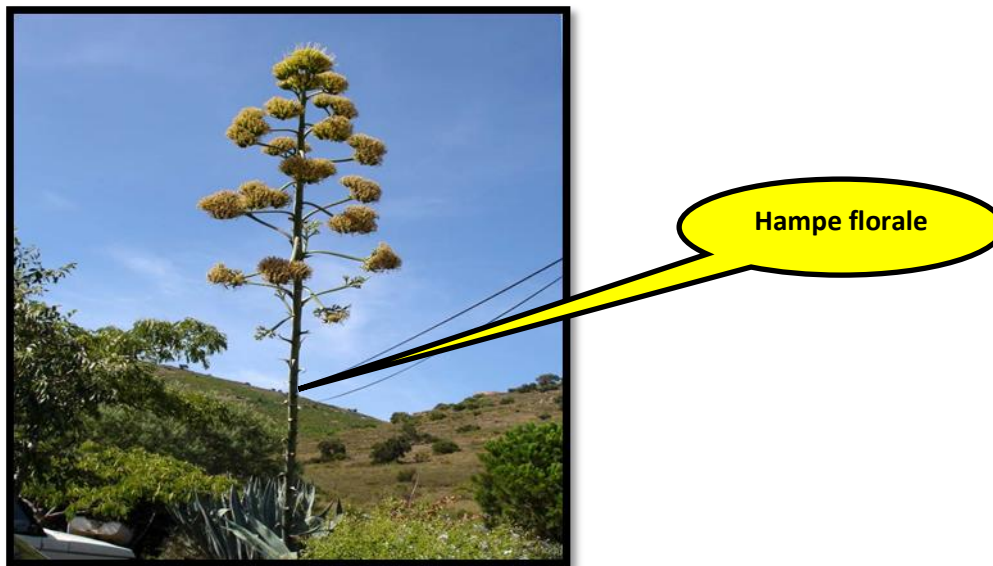


Figure.5 : photo d'*agave americana* L. avec la hampe florale

Les racines sont distribuées principalement dans les premiers centimètres du sol pour pouvoir absorber rapidement l'humidité (**Nobel et al., 2002**).



Figure.6 : photo des racines d'*Agave americana* L.

Les fleurs se trouvent à la fin de la hampe florale (**Figure.5**) et sont de couleur jaune-vert, avec ovaire infère (**Conzatti 1947; Gentry 1978**), Chaque fleur mesure entre 7 et 10,5 cm de diamètre. Elle est constituée d'un périanthe jaune à maturité, dans lequel le calice et la corolle sont fusionnés en

un tube cylindrique ou légèrement en entonnoir, de 1,2 à 2 cm de long, est surmonté de 6 lobes libres de 2 à 3,5 cm de long. Le style blanc et étamines jaunes dépassent largement le périanthe. Les étamines sont insérées sur le périanthe un peu au-dessus de la moitié du tube. L'ovaire mesure de 3 à 4,5 cm de long. La pollinisation est assurée par des animaux (oiseaux, chauves-souris, papillons de nuit ou autres insectes).



Figure.7 : photo présente les fleurs d'*Agave americana L.*

Sa floraison, se produit en été au bout de quinze à trente ans et dure plusieurs mois, attirant de nombreux insectes, Sa reproduction est principalement asexuée, par rejets. En effet, même si sa reproduction sexuée produit une grande quantité de semences.

Le fruit est une capsule oblongue de 3,5 à 8 cm de long, de couleur sombre à maturité, contenant des graines mesurant de 6 à 8 mm.

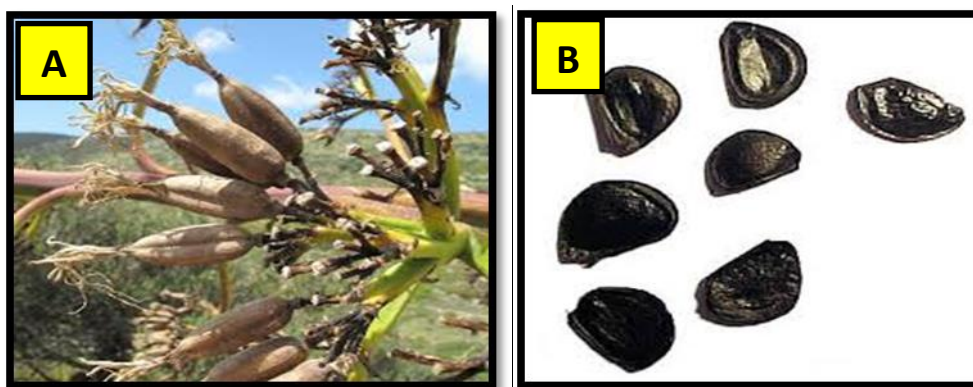


Figure.8 : Photo de capsule(A) et graines(B) d'*Agave americana L.*

I.6 position systématique de l'espèce *Agave americana* L.:

Classification de Cronquist (1981)

<u>Règne</u>	Plantae
<u>Sous-règne</u>	Tracheobionta
<u>Division</u>	Magnoliophyta
<u>Classe</u>	Liliopsida
<u>Sous-classe</u>	Liliidae
<u>Ordre</u>	Liliales
<u>Famille</u>	Agavaceae
<u>Genre</u>	<i>Agave</i>

Nom binominal *Agave americana* L., 1753

Classification APG II

Ordre Asparagales

Famille Agavaceae

Classification APGIII

Ordre Asparagales

Famille Asparagaceae

Sous-famille Agavoideae

Espèce *Agave americana* L.

I.7 Utilisation d'*Agave americana* L. :

Les Agaves sont des espèces employées pour faire pulque et mescal, alors que d'autres sont évalués pour leurs fibres fourrage, nourriture et boissons, médicaments, construction, tissage, papier, boissons alcoolisées. Le jus de l'agave contient du fructose et du glucose,

mais dans une proportion moindre (**Pätzold R et al., 2005**). Le fructose possède un pouvoir sucrant mais un index glycémique plus faible que le sucre blanc. Il est utilisé pour faciliter la perte de poids et lutter contre la constipation. L'extrait d'*Agave americana* aurait également un effet anti-inflammatoire sur les muqueuses gastriques, selon une étude italienne publiée en 1997 (**Planta Med. 1997**).

L'*Agave americana* tenaient un rôle très important dans l'alimentation et l'industrie des populations primitives américaines, aussi les tendres feuilles du cœur se mangeaient en légume, Les fleurs étaient également cuisinées, Le jus sucré, et le pulque est une boisson majeure de toute la civilisation amérindienne mexicaine. Dénaturé, le pulque fournit un vinaigre. L'adjonction de diverses plantes aromatiques ou médicinales au pulque permettait d'obtenir des breuvages magiques ou enivrants.

Les feuilles comportent des fibres très solides avec lesquelles étaient tissés les habits des populations Aztèques modestes ainsi que des nattes et contenants divers. Le coton, matériaux plus noble, était réservé aux personnes par l'Agave (**Béchet j, 1832**), Un papier était également élaboré à partir des fibres d'Agaves. Les épines terminales des feuilles d'agaves, naturellement solidement fixées aux fibres des feuilles, servaient d'aiguille pour la couture mais aussi pour l'exécution d'actes chirurgicaux et pour les sacrifices que pratiquait

beaucoup cette civilisation aux rites cruels. En cas d'accident, on utilisait une feuille d'Agave bien rigide pour soutenir un membre brisé. Le suc de cette feuille, amélioré de plantes médicinales, soignait efficacement la blessure.

Aussi l'agave utilisé dans l'horticulture grâce à sa belle morphologie et sa grande taille. Pour leurs multiples usages quotidiens, les agaves étaient alors cultivés dans tous les jardins. Ils étaient aussi en bonne place pour leur esthétique dans les nombreux jardins.

En Congo et à l'île Maurice, le jus des feuilles d'*Agave americana* se boit pour ses effets laxatifs et ses vertus diurétiques, on l'utilise aussi comme emménagogue. Il est appliqué sur les plaies et les coupures pour favoriser la cicatrisation. La décoction de racines se prend, en mélange avec du miel, pour soigner la syphilis et elle a également des propriétés diurétiques.

En Afrique du Sud, les feuilles servent à traiter les troubles cardiaques, l'hypertension et les affections gastro-intestinales. Coupées en morceaux et chauffées, on les emploie en usage externe pour soulager les douleurs rhumatismales. Leur jus fait office d'insecticide, par ex. contre les termites en Tanzanie. Comme plante ornementale, *Agave americana* est planté dans les jardins privés et publics et au bord des routes (**Howard Gentry, 2003**). C'est aussi une plante de haie et il est planté en suivant les courbes de niveau pour lutter contre l'érosion, ainsi que pour la remise en valeur des terres dénudées et sur pâturées. Les fibres de ses feuilles s'utilisent localement pour confectionner des étoffes, aussi il présente une activité antibactérienne contre *Staphylococcus* spp, *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* et des effets molluscicides et insecticides.

II. Etude botanique de la famille des Xanthorrhoeacées :

La famille des Xanthorrhoeacées est une famille de plantes monocotylédones, Ce sont des arbustes, des plantes arborescentes ou des plantes presque acaules, pérennes à feuillage persistant, rhizomateux ou tubéreux (**Wikipedia, Xanthorrhoeacées**).

La classification phylogénétique **APG (1998)** assigne cette famille à l'ordre des Asparagales.

En classification phylogénétique **APG II (2003)** cette famille inclure optionnellement les plantes autrefois assigné aux familles des Hemerocallidaceae et des Asphodelaceae.

La classification phylogénétique **APG III (2009)** inclut dans cette famille les genres précédemment placés dans les familles Asphodelaceae, Hemerocallidaceae.

Selon **NCBI (2010)** la famille Xanthorrhoeacées inclus une sous-famille appelée : Asphodeloideae (correspondant à l'ancienne famille Asphodelaceae).

II.1 Sous-famille Asphodeloideae :

Asphodeloideae est une sous-famille de la famille de monocotylédones Xanthorrhoeaceae dans l'ordre Asparagales. Il a déjà été traité comme une famille distincte : Asphodelaceae (**Wikipedia, Asphodelaceae**), le nom est dérivé de Sous le nom générique du genre de type : Asphodelus. Les membres du groupe sont originaires d'Afrique, d'Europe centrale et de l'ouest, le bassin méditerranéen, en Asie centrale et en Australie, et la plus grande diversité se produit en Afrique du Sud.

Ce sont des plantes herbacées, des arbustes ou des formes arborescentes, pérennes, succulentes de hauteur entre : (1- 5 m) (**Nacir et al., 1982**). Elle comprend environ 800 espèces réparties en 17 genres :

- Aloe, Asphodeline, Asphodelus, Astroloba, Bulbine, Bulbinella, Chortolirion, Eremurus, Gasteria, Haworthia, Hemiphylacus, Herpolirion, Jodrellia, Lomatophyllum, Paradisea, Poellnitzia, Trachyandra

II.1.1 Caractère généraux de sous famille Asphodeloideae :

II.1.1.1 Feuilles :

Feuilles simple, minces ou coriaces ou charnues, sessiles et Un peu glauques (**Emmanuel-Morir, 2008**), petites ou très grandes sont regroupées a la base en rosette insérées en spirale ramifient dès la base ou à l'extrémité des branches, les feuilles présentent très souvent la propriété d'être succulents et de contenir dans le mésophile un parenchyme mucilagineux associé à des raphides et des cristaux d'oxalate de calcium, l'extrémité des feuilles pointues ou lancéolées ou ovales, nervation parallèle, les feuilles caduques ou persistants (**Jean-Claude Rameau et al., 2008**).

II.1.1.2 Tige :

Courte, ligneuse, vert, absence d'épaississement.

II.1.1.3 Inflorescence :

Voyantes, Simple ou composée en grappe ou en épi au sommet d'une hampe florale, en remarque également l'absence de stipules (**Emmanuel-Morir, 2008**).

II.1.1.4 Fleurs :

Bisexuées (hermaphrodites), sont trimères fleurs dans la plus part des cas, la couleur est rouge et orange et parfois jaune et blanche (**E.Dronnet, 2006**), régulières ou très irrégulières (zygomorphes) dans la plus part des cas, pentacycliques. Périanthe bien différencié en calice et corolle (3+3) ou formé de 6 tépales pétaloïdes. L'Androcée diplostémone et constitué de 6 étamines fertiles .Le gynécée formé de 3 carpelles soudés,

L'ovaire est supère triloculaire, a placentation axile (**Emmanuel-Morir, 2008**).

II.1.1.5 Fruit :

Non charnu est une capsule loculaire de couleur fauve avant la maturation et grisâtres dès la maturation, ovoïdes contenant des petites graines noires (1 cm) pouvant être ailées.

II.1.2 Milieu :

La température minimale de résistance de la plante est comprise entre -12°C et -7°C (**Pierre-Olivier albano, 2006**), sol drainé ou sec, bien ensoleillés.

II.2 Position systématique de la famille Xanthorrhoeaceae et sous famille Asphodeloideae :

Tableau.2 : Position de la famille dans les systèmes de classifications évolutives
(www.sciencedirect.com)

	Engler	Cronquist	Thorne	Dahlgren	Takhtajan	APG II
Classe	Monocotyledone	Liliopsida	Magnoliopsida	Magnoliopsida	Liliopsida	Liliopsida
Sous-classe		Liliidae	Liliidae	Liliidae	Liliidae	
Ordre	Liliiflorae	Liliales	Asparagales	Asparagales	Asparagales	Asparagales
Famille	Liliaceae	Liliaceae	Asphodelaceae	Asphodelaceae	Asphodelaceae	Xanthorrhoeaceae
Sous-Famille						Asphodeloideae

- Les genres : Aloe , Asphodelus , Kniphofia , Eremurus , sont peut-être les plus connus grâce à leur utilisation en horticulture comme plantes ornementales et en médecine comme plantes médicinales.

II.3 Le genre Aloe :

L'aloès est une plante succulente originaire principalement d'Afrique et de Madagascar, mais on en trouve aussi quelques espèces en Arabie et en Inde. Il existe environ 350 à 400 espèces recensées d'aloès (**Judd et al., 2002**), réparties sur l'ensemble des continents mais seulement une demi-douzaine est reconnue pour leurs vertus médicinales.

Les Aloé sont des plantes succulentes persistantes ou xérophytes capable de stocker de grandes quantités d'eau dans ses tissus et capables d'utiliser le métabolisme de l'acide crassulacéen (CAM). Ce métabolisme est une adaptation à la fois de la photosynthèse dans

les climats chauds en impliquant la formation d'acide malique (**D.Jasso-Rodriquer et al., 2005**).

Les caractères morphologiques pour ce genre Aloe sont extrêmement variables. Il existe cependant des similarités chimiques qui font que la colonne vertébrale de ce groupe puisse être monophylétique (**M.Rombi, 1991**). Au centre de la rosette. S'élève la hampe florale dont l'extrémité porte les inflorescences.

Les inflorescences dans toutes les espèces sont érigées soit sous forme de branches simples ou sous forme de panicules. Fleurs jaunes, rouges, oranges, rarement blanchâtres (**G.Roulier , 2001**). Le périanthe est tubuleux. Les six étamines sont de la même longueur ou un peu plus longues que le périanthe. L'ovaire supère est trigone à trois ou six sillons avec de nombreux ovules dans chaque loge.

Le fruit est une capsule s'ouvrant sur trois fentes loculaires. Les graines nombreuses sont aplaties et souvent ailées.

II.3.1 Distribution géographique :

Les aloé semblent originaires d'Afrique du sud-est, et introduits plus tard en Afrique du Nord et le long du Nil. Les aloés ont ensuite gagné la péninsule Arabe, la Chine, les pays méditerranéens. C'est d'ailleurs en Afrique du sud que l'on trouve la plus grande diversité d'Aloé avec environ 135 espèces recensées.

Aujourd'hui, les Aloés se trouvent à l'état naturel dans tous les pays proches des tropiques et ceux ayant une chaleur constante toute l'année, on peut citer l'Asie, les Antilles, les Bahamas, l'Amérique

centrale (Mexique principalement), Madagascar et dans la plupart des pays de la région méditerranéenne.

Parmi toutes les espèces d'Aloé seules quelques-unes sont utilisées pour leurs vertus médicinales comme :

II.3.2 *Aloe ferox* Ou L'Aloès du Cap :

Les indications traditionnelles d'*Aloe ferox* sont les mêmes que celles de l'*Aloe vera* Coupures, plaies, brûlures, boutons et problèmes de peau, *Aloe ferox* à moins de demande qu'*Aloe vera* grâce à ces caractères morphologiques.



Figure.9 : photo de l'espèce *Aloe ferox*

II.3.3 *Aloe arborescens* ou aloès candélabre :

Cette variété grande cousine de l'aloé vera, possède les mêmes propriétés mais en beaucoup plus actives. Elle est cependant moins connue en raison d'une maturité plus lente, en effet la plante doit avoir au minimum 5 ans d'âge et avoir fleuri au moins une fois avant de pouvoir être cueillie, dans le cas où l'on souhaite la consommer. Elle offre donc un rendement agricole plus faible que sa grande cousine l'*Aloe vera* (**Wikipedia, Aloe arborescens**).



Figure.10 : photo de l'espèce *Aloe arborescens*

II.3.4 *Aloe variegata* :

Cet espèce est beaucoup plus ornementale (**Simon v, 1685**).



Figure.11 : photo de l'espèce *Aloe variegata*

II.3.5 *Aloe vera* (Linné) ou *Aloe Vulgaris* (Lamarck) ou *Aloe Barbadensis* (Miller) :

Cet espèce c'est le plus connus et appelé la plante miracle et nous avons consacré notre étude dans cette recherche sur ce dernier.



Figure.12 : photo de l'espèce *Aloe barbadensis* Miller

II.3.5.1 description botanique d'*Aloe vera* ou *Aloe barbadensis* Miller :

Le nom « Aloe » est très ancien et vient du mot grec « Alsos », il est probablement dérivé du mot arabe « Alloeh » ou le mot hébreu « Allal » ou Chinois « Alo-hei-hei ». Les tous signifiants « amer et brillante ». Le mot latin « vera » signifie « vrai », (Schweizer, 2006 ; Walter, 2010). C'est une plante vivace connue depuis l'antiquité originaire de la Péninsule Arabique et d'Afrique d'Afrique du Nord, des îles Canaries et du Cap-Vert, cultivée de longue date en Méditerranée, Afrique du Nord, aux îles Canaries et au Cap-Vert (Nicolas MARTIN, 2011). C'est une plante vivace et arborescente d'environ 80 cm de haut (1,80 m avec les hampes florales), aux racines courtes et peu profondes, dont la tige très courte, robuste et ligneuse, porte un faisceau de feuilles charnues, de forme lancéolée et aux extrémités pointues, qui sont disposées en rosette (les jeunes feuilles poussant au milieu et les plus vieilles étant à l'extérieur).

Ces feuilles lisses à cuticule épaisse, d'une très belle couleur verte, atteignent 80 cm de long et 10 cm dans leur plus grande largeur, avec des bords munis d'épines jaune clair.



Figure.13 : photo de feuille d'*Aloe barbadensis* Miller

La coupe transversale de l'une de ces feuilles permet de distinguer successivement, en allant de l'extérieur vers l'intérieur la cuticule, une couche épidermique chlorophyllienne, un derme cellulosique dans lequel circule une sève (ou suc) rouge brunâtre tirant sur le jaune (le «sang» de l'Aloès) substance très amère à partir de laquelle sont préparées les formes traditionnelles d'utilisation pharmaceutique à visée digestive (notamment laxatives), et enfin, au centre, la pulpe proprement dite parenchyme mucilagineux incolore très épais, qui n'est autre que le fameux gel de l'*Aloe vera*, tant recherché pour ses multiples propriétés salutaires.

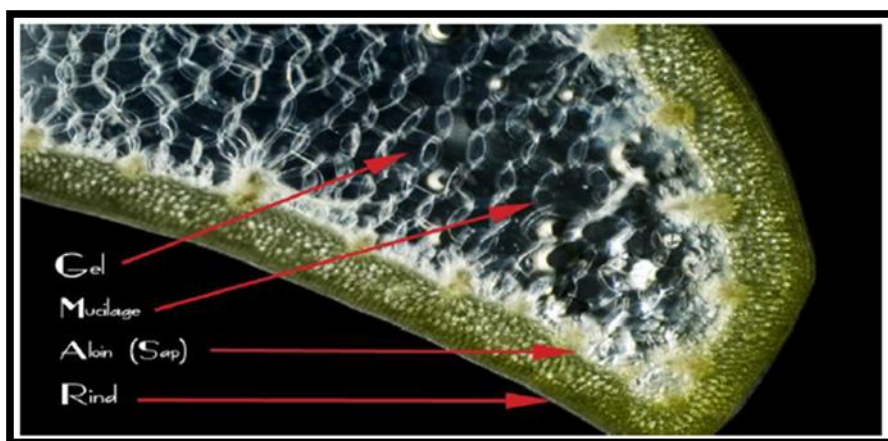


Figure.14 : Structure de la feuille d'un aloès sous un microscope optique

Les fleurs, réparties habituellement sur deux ou trois hampes (chacune d'elle en portant plusieurs dizaines), sont tubuleuses, pendantes en forme de petites trompettes de couleur jaunâtre ou rouge (maturation), et éclosent successivement, hermaphrodite, ses fleurs apparaissent à la fin de l'hiver ou au début du printemps.



Figure.15 : photo de fleurs d'*Aloe barbadensis* Miller

Son fruit est une capsule contenant de nombreuses graines triangulaires (Bleunwenn, 2013)



Figure.16 : Photo de fruit d'*Aloe barbadensis* Miller

A l'état naturel, l'*Aloe vera* pousse sur des terrains sablonneux et calcaires de régions semidésertiques au climat chaud et sec dans de nombreuses parties du monde : Afrique du Nord, Proche-, Moyen- et Extrême-Orient, sud de l'Amérique du Nord, Amérique Latine. Sa durée de vie dépasse rarement une trentaine d'années, et sa reproduction s'opère par graines ou, beaucoup plus facilement, par les rejets qui poussent autour de son pied. Très facile à cultiver, il est dorénavant

planté industriellement sur de vastes étendues dans divers pays : Etats-Unis, Mexique, Caraïbe, Philippines, Espagne, Maroc...etc.

II-3-5-2 Classification :

Régne : Végétale

Embranchement : Spermaphytes

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Monocotylédones

Ordre : Asparagales

Famille : Xanthorrhoeaceae

Sous-famille : Asphodeloideae

Genre : *Aloe*

Espèce : *Aloe barbadensis* Miller

II-3-5-3 Historique et utilisations d'*Aloe barbadensis* Miller :

Depuis plus de 5 000 ans, à des époques différentes et dans des régions du monde bien éloignées, l'homme a toujours utilisé l'Aloès pour prévenir ou soigner nombre de ses maux.

En effet, maintes preuves archéologiques et historiques témoignent de ses multiples et identiques usages médicaux dans toutes les grandes civilisations sans aucune exception.

« Pendant les vingt années au cours desquelles j'ai soigné mes patients avec l'Aloe, j'ai découvert que de nombreuses maladies décrites par les médecins de l'Antiquité, disparaissaient rapidement quand j'administras de l'Aloe » **François Vincent Raspail (1794-1878)**. C'est par le bouche à oreille que la connaissance de la « *Plante miracle* » s'est transmise de générations en génération.

II-3-5-3-1 Civilisation Sumérienne :

On retrouve les premières traces de l'usage thérapeutique de l'Aloès sur des tablettes d'argile gravées en caractères cunéiformes remontant au 3^{ème} millénaire avant J.C. (env. 5 000 ans), découvertes en 1948 dans les ruines de Nippur.

II-3-5-3-2 Civilisation Chinoise :

Le **Pen T'sao**, l'un des premiers ouvrages sur les plantes médicinales, qui date également du 3^{ème} millénaire avant J.C. (env. 4 700 ans), et surtout l'illustre Li Che Tchen, qui a révisé ce traité au XVI^e siècle, classe l'Aloès parmi les plantes aux vertus thérapeutiques majeures sous l'appellation de « *Remède d'harmonie* » et la considère comme la plante spécifique du traitement des brûlures et des affections de la peau.

II-3-5-3-3 Civilisation Mésopotamienne :

Les Chevaliers du Temple avaient coutume de boire un mélange de vin de palme, de pulpe d'Aloès et de chanvre, qu'ils appelaient « *L'élixir de jouvence* ». L'Aloès apparaît encore sur des tablettes d'argile gravées en caractères cunéiformes, remontant au 2^e millénaire avant J.C. (env. 4 000 ans), découvertes dans les ruines de l'antique Elba en 1973.

II-3-5-3-4 Civilisation Égyptienne :

Les anciens égyptiens vénéraient l'Aloès, qu'ils appelaient « *Plante de l'immortalité* ». Les pharaons le considéraient comme un « *Élixir de longue vie* ». Le plus ancien document de la médecine égyptienne parvint jusqu'à nous, avec le fameux papyrus d'Ebers (nom de celui qui l'a déchiffré après sa découverte dans les ruines de Louksor), écrit à Thèbes au cours du 2^e millénaire avant J.C. (env. 3 500 ans). Cet ouvrage qui a pour titre « *Livre de préparation de médicaments pour toutes les parties du corps humain* », reproduit en signes hiéroglyphes nombreuses formulations à base d'Aloès.



Figure.17 : Gravure égyptienne, avec pieds d'Aloès en haut à droite

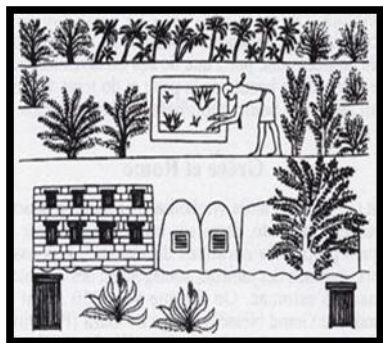


Figure.18 : Plantations égyptiennes, avec pieds d'Aloès dans le carré central

II-3-5-3-5 Civilisation Arabe :

Les bédouins et les guerriers touaregs du Sahara connaissent depuis la plus haute antiquité les vertus de l'Aloès qu'ils appellent « Lys du désert ».

Dès le 6^e siècle avant J.C., la civilisation arabe fut l'une des premières à produire des extraits commerciaux d'Aloès à base de sève et pulpe mélangées. Ces extraits résineux, qui servaient surtout de laxatif, mais aussi à bien d'autres usages internes et externes, ont largement contribué à la diffusion de l'Aloès dans de nombreux pays du Moyen-Orient et d'Asie.

II-3-5-3-6 Civilisation Indienne :

Les hindous croyaient que l'*Aloe vera* poussait dans le jardin d'Eden, ils l'appelaient « *Le guérisseur silencieux* ».

L'Aloès figure en bonne place parmi les plantes majeures citées dans les textes fondamentaux de l'hindouisme, l'Atharvaveda, consacrés aux plantes et aux préparations secrètes, destinées à soigner toutes sortes de maladies, sous l'appellation de « Guérisseur silencieux ».

II-3-5-3-7 Civilisation Gréco-Romaine :

« *Médecine divine* » par les grecs et romains. Hippocrate (le père fondateur de notre médecine occidentale), Aristote, Celsus (auteur de *De arte medica*), Dioscoride (auteur de *De materia medica* : « Le grand herbier »), Pline l'Ancien (qui confirma les découvertes de Dioscoride dans son *Histoire naturelle*), et bien d'autres illustres médecins ou savants de l'Antiquité, signalent tous l'intérêt de

l'Aloès comme laxatif, coagulant du sang, pour soigner les contusions, les blessures et les gerçures, pour traiter les furoncles et les affections oculaires, pour soulager les ulcères génitaux, pour arrêter la chute des cheveux, pour embellir la peau, etc.

II-3-5-3-8 Civilisation Amérindienne :

Les mayas du Yucatan ont utilisé la plante pendant des siècles. Les jivaros l'avaient surnommé « *Le médecin du ciel* ». Les indiens Séminoles croyaient en son pouvoir régénérateur, nommé « *La fontaine de jouvence* ».

L'Aloès était, avec l'Agave, l'une des 16 plantes sacrées des amérindiens. Les jeunes indiennes enduisaient leur visage de jus d'Aloès pour attirer les garçons. Avant de partir à la chasse ou à la guerre, les guerriers frottaient leur corps de sa pulpe. Pour les mazahuas, l'Aloès était la plante magique par excellence.

Une curieuse tradition indienne affirmait que le gel d'Aloès guérit de la folie.

II-3-5-3-9 Civilisation Européenne :

Christophe Colomb l'a appelé « *Le docteur en pot* ». Au Moyen-âge et pendant la renaissance, les usages de l'*Aloe vera* se répandirent dans le monde. Du fait que la plante poussait sous des climats chauds, les européens du nord n'y entendaient rien, alors qu'en Espagne, au Portugal et en Italie où elle était abondante, les gens lui accordaient beaucoup

de considération. On peut en effet comprendre que dans ces régions où la plante ne pousse pas, il s'avérait apparemment impossible, en l'absence de feuilles fraîches, de reproduire les propriétés de l'*Aloe vera*, que l'on pensait magiques ; d'où une perte de confiance...
(Marc Schweizer, 2006)



Figure.19 : Les propriétés biologiques d'*Aloe barbadensis* Miller

III. Les métabolites primaires et secondaires :

III.1 Définition générale :

Un métabolite est un composé organique intermédiaire ou issu du métabolisme. On réserve ce terme en général aux petites molécules et aux monomères, par opposition aux macromolécules. Ainsi, le glucose est un métabolite, contrairement au glycogène, qui est un polysaccharide de poids moléculaire très élevé.

III.1.1 Les métabolites primaires :

Les métabolites primaires sont des molécules présentes dans toutes les cellules de l'organisme et indispensables à sa vie. Ils sont : les sucres, les acides aminés, les protéines et les acides nucléiques.

III.1.1.1 Les glucides :

Les glucides sont une classe de molécules organiques contenant un groupement carbonyle (aldéhyde ou cétone) et plusieurs groupements hydroxyle (-OH). Les glucides étaient historiquement appelés hydrates de carbone, et sont toujours appelés *carbohydrates* en anglais. Leur formule chimique est basée sur le modèle $C_n(H_2O)_p$ (d'où l'appellation historique). Cependant, ce modèle n'est pas valable pour tous les glucides, qui contiennent, pour certains, des atomes d'azote ou de phosphore (par exemple).

Ils font partie, avec les protéines et les lipides, des constituants essentiels des êtres vivants et de leur nutrition, car ils sont un des principaux intermédiaires biologiques de stockage et de consommation d'énergie. Chez les organismes autotrophes, comme les plantes, les sucres sont convertis en amidon pour le stockage. Chez les organismes hétérotrophes, comme les animaux, ils sont stockés sous forme de glycogène puis utilisés comme source d'énergie dans les réactions métaboliques, leur oxydation lors de la digestion des glucides apportant environ 17 kJ/g selon l'étude dans la bombe calorimétrique.

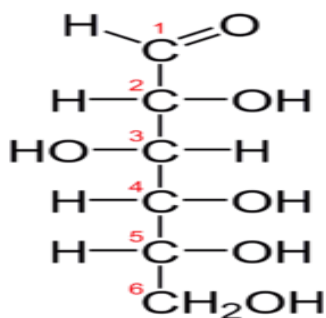


Figure.20 : Glucide (glucose) avec 6 carbone et 5 OH et 1 groupement aldéhyde

III.1.1.1.1 Catégorie :

Les glucides sont habituellement répartis entre oses (monosaccharides tel que le glucose, le galactose ou le fructose) et osides, qui sont des polymères d'oses (oligosaccharides et polysaccharides). Les disaccharides (diholosides), tel que le saccharose ou le lactose, font partie de cette dernière catégorie. Mais seules les monosaccharides et les disaccharides ont un pouvoir sucrant. Les polysaccharides, comme l'amidon, sont insipides.

- Les oses (sucres simples) sont des molécules simples, non hydrolysables, formant des cristaux incolores.
- Les aldoses sont les glucides possédant une fonction aldéhyde sur le premier carbone.
- Les cétooses sont les glucides possédant une fonction cétone sur le deuxième carbone.
- Les osides (sucres complexes), hydrolysables sont des polymères d'oses liés par une liaison osidique :
- Les holosides sont des polymères exclusivement d'oses ;
- Les oligoholosides (oligosides) ont un indice de polymérisation inférieur à 10 ;
- Les polyholosides (polyosides) ont un indice de polymérisation supérieur à 10 (exemple : amylose, amylopectine, cellulose, glycogène).
- Les homopolyosides sont les glucides dont l'hydrolyse donne un seul type d'oses.
- Les hétéropolyosides sont les glucides dont l'hydrolyse ne donne pas qu'un seul type d'oses.
- Les hétérosides sont des polymères d'oses et de molécule(s) non glucidique l'aglycone :

Les O-hétérosides où une fonction alcool (-OH) de l'aglycone participe à la liaison osidique.

- Les N-hétérosides où une fonction amine (-N=) de l'aglycone participe à la liaison osidique.
- Les S-hétérosides où une fonction thiol (-SH) de l'aglycone participe à la liaison osidique.

III.1.1.1.2 Les oses simples :

Les oses possèdent tous une fonction carbonyle :

- Pseudo aldéhyde pour les aldoses (exemple : glucose).
- Pseudo cétone pour les cétooses (exemple : fructose).

Ils sont caractérisés par leur nombre de carbone :

- Les trioses possèdent 3 carbones : dihydroxyacétone, glycéraldéhyde ;
- Les tetroses possèdent 4 carbones : érythrose, thréose, érythrulose;
- Les pentoses possèdent 5 carbones : ribose, arabinose, xylose, lyxose, ribulose, xylulose;
- Les hexoses possèdent 6 carbones : allose, altrose, glucose, mannose, gulose, idose, galactose, talose, psicose, fructose, sorbose, tagatose;
- Les heptoses possèdent 7 carbones ; sédoheptulose;
- Les octoses possèdent 8 carbones.

III.1.1.1.2.1 Représentation linéaire (modèle de Fischer) :

Tous les oses possèdent un pouvoir rotatoire du fait de la présence d'un carbone asymétrique, les oses sont dits chiraux sauf le dihydroxyacétone

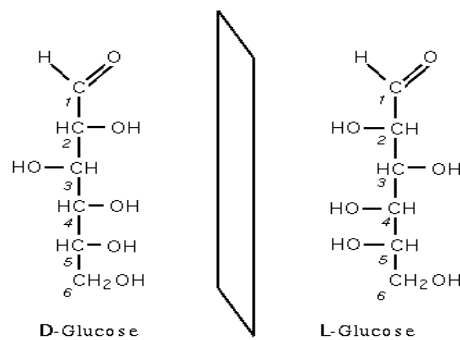


Figure.21 : représentation de Fischer des formes D et L du glucose. Les deux sont symétriques par rapport à un plan.

Le fructose, cétohexose, se cyclise par réaction entre les carbones 2 et 5, cette forme dérive du furane, c'est la forme furanique (figure 3). Le glucose également mais le D-glucofuranose n'est pas stable et se transforme rapidement en D-glucopyranose. Les oses se cyclisant sous forme furanique (furanose) sont :

- le ribose donnant du ribofuranose ;
- le 2-désoxyribose donnant du 2-désoxyribofuranose ;
- le fructose donnant du fructofuranose ;
- de manière générale, ce sont les cétohexoses et les aldopentoses.

Les oses se cyclisant sous forme pyranique (pyranose) sont :

- le glucose donnant du glucopyranose ;
- le galactose donnant du galactopyranose ;
- de manière générale, ce sont les aldohexoses.

III.1.1.1.3 Les osides :

Les osides sont des polymères d'oses liés par une liaison osidique. Ils sont hydrolysables, et aussi appelés glucides complexe.

Deux formes d'osides sont nommable. D'un côté, dans les oligosaccharides on retrouve un nombre déterminé de monosaccharides (oses). Pour les nommer, on peut alors employer les termes : disaccharides (ex. saccharose), trisaccharides (ex. raffinose) etc. D'un autre côté, les polysaccharides sont composés d'un nombre indéterminé de monosaccharides. Pour les nommer, on emploie le terme polysaccharides (ex. cellulose).

III.1.1.1.4 Les polyholosides :

Association d'un très grand nombre de molécules liées par des liaisons O-glycosidiques. Chaînes soit linéaires ou ramifiées.

III.1.1.1.4.1 l'amidon :

L'amidon (du latin *amylum*, non moulu) est un glucide complexe (polysaccharide) composé de chaînes de molécules de D-Glucose. Il s'agit d'une molécule de réserve pour les végétaux supérieurs et un constituant essentiel de l'alimentation humaine.

III.1.1.1.4.2 Structure de l'amidon :

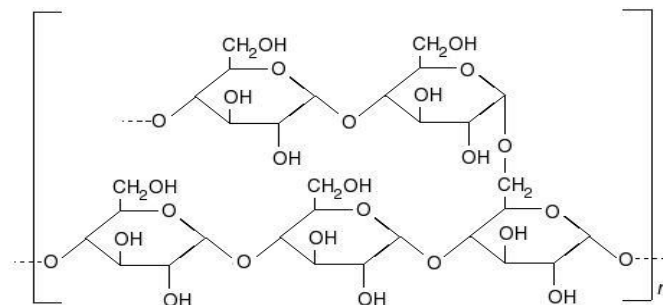
L'amidon est un mélange de deux homopolymères, l'amylose et l'amylopectine composés d'unités D-Anhydroglucopyranose (AGU) qui appartiennent à la famille des polysaccharides (ou polyosides) de formule chimique générale $(C_6H_{10}O_5)_n$. Les unités AGU sont liées entre elles par des liaisons α (1-4), en

général caractéristique des polysides de réserve (à l'exception de l'inuline) et des liaisons α (1-6) qui sont à l'origine de ramifications dans la structure de la molécule. Ces deux homopolymères, qui diffèrent par leur degré de branchement et leur degré de polymérisation sont :

- L'amylose, légèrement ramifié avec de courtes branches et dont la masse moléculaire peut être comprise entre 10 000 et 1 000 000 Dalton. La molécule est formée de 600 à 1 000 molécules de glucose.
- l'amylopectine ou isoamylose, molécule ramifiée avec de longues branches toutes les 24 à 30 unités glucoses par l'intermédiaire des liaisons α (1-6). Sa masse moléculaire peut aller de 1 000 000 à 100 000 000 Dalton, selon les estimations scientifiques et son niveau de branchement est de l'ordre de 5 %. La chaîne totale peut faire entre 10 000 et 100 000 unités glucoses.

Le ratio entre l'amylose et l'amylopectine dépend de la source botanique de l'amidon. Parfois, il y a aussi présence de phytoglycogène (entre 0 et 20 % de l'amidon), un analogue de

l'amylopectine mais ramifié tous les 10 à 15 résidus glucose.



III.1.1.1.5 Le rôle des glucides :

- Les glucides sont des :
 - éléments de structure (exemple cerveau)
 - réserves énergétiques (glycogène)
 - composants de métabolites fondamentaux
- Ils sont considérés maintenant comme des :
 - signaux de reconnaissance

– déterminants antigéniques

1. Rôle énergétique

- 40 à 50 % des calories apportées par l'alimentation humaine sont des glucides.

- Ils ont un rôle de réserve énergétique dans le foie et les muscles (glycogène).

2. Rôle structural

Les glucides interviennent comme :

- Eléments de soutien (cellulose des végétaux), de protection et de reconnaissance dans la cellule.

- Eléments de réserve des végétaux et animaux (glycogène, amidon).

- Constituants de molécules fondamentales : acides nucléiques, coenzymes, vitamines..

- Ils représentent un fort pourcentage de la biomasse car la plus grande partie de la matière organique sur la Terre est glucidique.

3. Rôle économique

Industrie de transformation des sucres très importants.

III.1.1.2 Les acides aminés (aminoacides) :

Les acides aminés sont des protéines qui fournissent de l'énergie, agissent comme catalyseurs (notamment dans l'hydrolyse), régularisent l'équilibre chimique, interviennent dans la régénération des tissus. Le corps humain contient 22 acides aminés dont 8 sont dits « essentiels » car notre organisme ne peut les fabriquer. L'aloès Vera renferme 7 des 8 acides aminés essentiels et 11 des 14 acides aminés dits « secondaires » que notre organisme synthétise à partir des 8 acides aminés essentiels :

-Aminoacides essentiels :

Isoleucine-Leucine-Lysine-Méthionine-Phénylalanine Théonine-Valine.

-Aminoacides secondaires :

Acide aspartique –Acide glutamique -Alanine -Arginine -Cystine -Glycine -Hystidine Hydroxiprolin –
Proline –Sérine -Tyrosine.

III.1.1.3 Les lipide :

Les lipides constituent la matière grasse des êtres vivants. Ce sont des molécules hydrophobes ou amphiphiles, molécules hydrophobes possédant un domaine hydrophile très diversifiées, comprenant entre autres les graisses, les cires, les stérols, les vitamines liposolubles, les mono-, di- et triglycérides, ou encore les phospholipides.

Les lipides peuvent se présenter à l'état solide, comme les cires, ou bien liquide, comme les huiles. Leur nature amphiphile conduit les molécules de certains lipides à s'organiser en vésicules, liposomes et micelles lorsqu'elles se trouvent en milieu aqueux. Cette propriété est à la base du vivant, permettant la formation de structures biologiques cellules, organites délimitées par des membranes constituées principalement de lipides.

Les lipides assurent par ailleurs diverses autres fonctions biologiques, notamment de signalisation cellulaire (signalisation lipidique) et de stockage de l'énergie métabolique par lipogenèse, énergie ensuite libérée notamment par β -oxydation.

Les lipides biologiques dérivent essentiellement de deux types de composés jouant le rôle de briques élémentaires, les groupes cétoacyle d'une part et les unités isoprène d'autre part. De ce point de vue, ils peuvent être classés en huit catégories différentes : les acides gras, les acylglycérols, les phosphoglycérides, les sphingolipides, les glycolipides et les polycétides, qui résultent de la condensation de groupes cétoacyle, auxquels s'ajoutent les stérols et les phénols, qui sont produits à partir d'unités isoprène.

Bien que le terme *lipide* soit souvent utilisé comme synonyme de *graisse*, ces deux termes ne sont pas équivalents car tous les lipides ne sont pas des graisses, les quelles correspondent *stricto sensu* aux seuls triglycérides. Les lipides englobent à la fois les acides gras et leurs dérivés y compris les mono-, di- et triglycérides ainsi que les phospholipides mais aussi les métabolites comprenant des stérols, comme le cholestérol.

III.1.1.3.1 Le rôle des lipides :

-
- Constitution des membranes cellulaires
 - Messager intercellulaire et intracellulaire
 - Substrat métabolique

 - Procurent des éléments nutritifs essentiels au fonctionnement du corps.
 - Assurent un rôle énergétique.
 - Fournit de la chaleur.

III.1.2 Métabolites secondaires :

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

Le fait que beaucoup de ces composés ne se rencontrent pas chez tous les espèces montre qu'ils n'entrent pas dans métabolisme général (métabolisme primaire).

Ce sont des métabolites secondaires qui n'exercent aucune fonction directe aux niveaux des activités fondamentales de l'organisme végétale (croissance, développement, reproduction...), mais ils participent à la vie relation de la plante (ou de leur organisme hôte), Et ils ont des rôles très variés, ils peuvent servir de défense (sécrétions amères ou toxiques pour les prédateurs) ou au contraire, attirer certaines espèces ayant des rôle bénéfiques (pollinisateurs) .ils peuvent également permettre la communication entre les plantes, par des messages d'alerte par exemple, ou faire partie de la structure de la plante (tanin et lignine), (**Merghem ,2009**)

Il n'existe pas de règle générale concernant les lieux d'accumulation des métabolites secondaire dans l'organisme végétale. Suivant les espèces et les diverses catégories de composés , on peut les trouver dans les différents organes ou au contraire, ne les rencontre que dans les tissus très spécialisés, leur taux relevé par l'analyse d'une plante ou d'un fragment, varie grandement durant l'ontogenèse (croissance jusqu'à la floraison) et l'ontogenèse (formation du fruit), par ailleurs, il est certain que la quantité observée de métabolites secondaires, à un moment donné, est la résultante de nombreux mécanismes métaboliques et physiologiques : biosynthèse, dégradation transport, capacité d'accumulation et de bioconversion (réponse à la pression de l'environnement) (**Merghem ,2009**).

III.1.2.1 Propriétés biologiques :

Les polyphénols ont une multitude d'activités biologiques dépendant de leur structure chimique. Ils constituent une importante famille d'antioxydants dans les plantes, les fruits et les légumes puisqu'elles comprennent plus de 6000 molécules. Contrairement aux antioxydants synthétiques comme le butylhydroxyanisole (BHA) et le butylhydroxytoluène (BHT). Les polyphénols n'ont aucun effet nuisible sur la santé humaine (Bounatirou et al., 2007). Les polyphénols ont également un rôle dans le contrôle de la croissance et le développement des plantes en interagissant avec les diverses hormones végétales de croissance. Ils permettent aux végétaux de se défendre contre les rayons ultraviolets. Certains

d'entre eux jouent le rôle de phytoalexines comme les isoflavonols permettant de lutter contre

les infections causées par les champignons, ou par les bactéries (**Makoi et al., 2007**)

Les pigments non azotés sont impliqués dans le processus de pollinisation : ils attirent l'attention des insectes pollinisateurs, ou servent au contraire à dessiner les formes pour éloigner les prédateurs. D'autre sont des inhibiteurs d'enzymes et interviennent dans la protection de l'homme vis-à-vis de certaines maladies (**Bruneton, 1999**).

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

Types des métabolites secondaires :

On peut identifier trois types de métabolites secondaires :

- Molécules phénoliques
- Terpénoïdes
- Alcaloïdes

Principales substances actives végétales :

Chaque espèce végétale contient un certain nombre de substances, lesquelles procèdent de métabolisme et s'élaborent comme produit secondaire.

Les métabolites secondaires sont des produits à structure chimique souvent complexe, on recense plusieurs milliers de métabolites (au moins 30000 structures caractérisées) et sont classées selon leur

appartenance chimique (**Judd, 2002**). Parmi ces substances on trouve les composés phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les saponosides, les huiles essentielles et les alcaloïdes qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique.

III.1.2.2 Les composés phénoliques :

Ce sont des dérivés non azotés dont le ou les cycles aromatiques sont issus de deux grandes voies métaboliques : la voie du shikimate et celle de l'acétate (**Bruneton, 1999**).

La diversité structurale des composés phénoliques est due à cette double origine synthétique, et elle augmente souvent avec la participation simultanée du shikimate et l'acétate conduisant à l'élaboration de composés mixtes (flavonoïdes, stibène, xanthones, etc.). Plusieurs milliers de polyphénols ont été identifiés dans les plantes et dans les aliments d'origine végétale.

Les principales classes des composés phénoliques :

Les composés phénoliques sont classés selon le nombre d'atome de carbone dans le squelette de base, ces structures peuvent être sous forme libres ou liées à l'ester ou hétérosides (**Bruneton, 1999**). Les différentes classes de ces composés phénoliques.

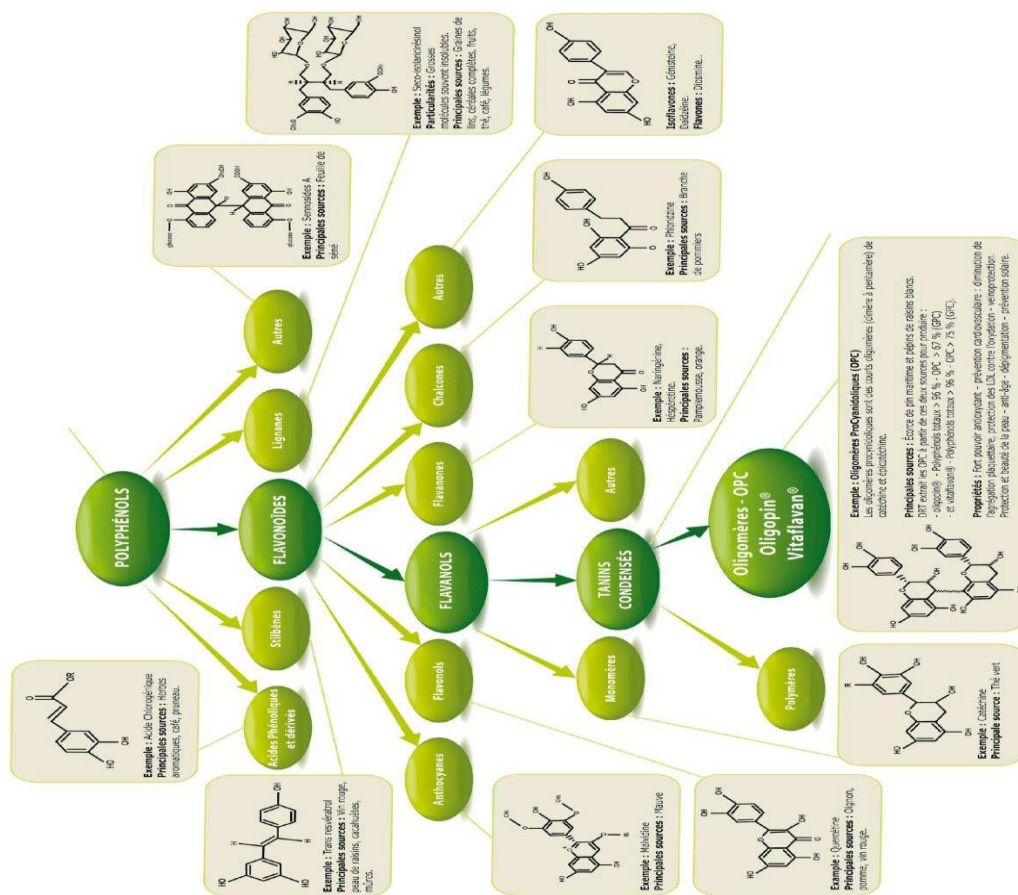


Figure.3 : Classification des polyphénols

III.1.2.2.1 Propriétés biologiques :

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

Ils constituent une importante famille d'antioxydants dans les plantes, les fruits et les

légumes puisqu'elles comprennent plus de 6000 molécules. Contrairement aux antioxydants synthétiques comme le butylhydroxyanisole (BHA) et le butylhydroxytoluène (BHT). Les polyphénols n'ont aucun effet nuisible sur la santé humaine (Bounatirou et al., 2007).

Les polyphénols ont également un rôle dans le contrôle de la croissance et le développement des plantes en interagissant avec les diverses hormones végétales de croissance. Ils permettent aux végétaux de se défendre contre les rayons ultraviolets. Certains d'entre eux jouent le rôle de phytoalexines comme les isoflavonols permettant de lutter contre les infections causées par les champignons, ou par les bactéries (Makoi et al., 2007).

Les pigments non azotés sont impliqués dans le processus de pollinisation : ils attirent

l'attention des insectes pollinisateurs, ou servent au contraire à dessiner les formes pour éloigner les prédateurs. D' autre sont des inhibiteurs d' enzymes et interviennent dans la protection de l' homme vis-à-vis de certaines maladies.

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

Composés phénoliques		Activité biologique
Ac. Phénols	Ac. cafeique Ac. salicylique	Antibactérienne Antifongique, antioxydante
Tanins	Tanin gallique Proanthocyanidine	Effet stabilisant sur le collagène, antioxydant, antidiarrhéique , effet antiseptique , effet vasoconstricteur
Flavonoïdes	Lutéoline Catéchine Hespéridine Quercétine Naringénine	Antitumorale, anticarcinogène, anti -inflammatoire, antioxydante, antiallergique, antiulcéreuse, antivirale, antimicrobienne, hypotenseur diurétique.
Coumarines	Dicoumarol	Anticoagulant, antioxydant, protectrice vasculaire et antioedémateuse

Tableau.3 : Actvités biologiques de quelques composées phénolique (Bruneton, 1999).

III.1.2.2.2 Les flavonoïdes :

Les flavonoïdes constituent un groupe de plus de 6000 composés naturels du règne végétal (**Ghedira, 2005**), qui sont caractérisés par la présence d'une structure phénolique dans leur molécule, et même d'une structure flavone ce qui les distingue des autres polyphénols (**Toufektsian et al., 2008**).

Aujourd'hui plus de 9000 flavonoïdes ont été répertoriés et il en reste des milliers d'autres à découvrir puisque le squelette des flavonoïdes (figure 5) peut être substitué par différents groupements comme des groupements hydroxy, méthoxy, méthyl, benzyl et isoprényl (**Beecher et al., 2008**).

Les flavonoïdes possèdent un squelette de base à 15 atomes de carbone constitués de deux cycles phényles, les cycles A et B, reliés par une chaîne à trois carbones (structure en C6-C3-C6). La chaîne en C3 entre les cycles A et B est communément cyclisée pour former le cycle C (**Bruneton, 1999**).

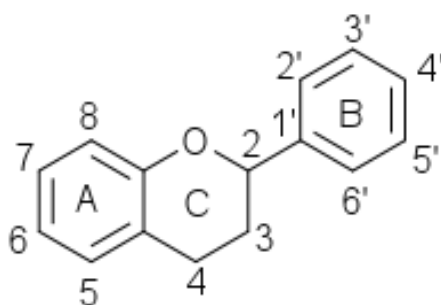


Fig.23 : Structure de base des flavonoïdes.

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

Ces diverses substances se rencontrent à la fois sous la forme libre (génine) ou sous la forme de glycoside (C ou O glycosylés). On les retrouve dans toutes les plantes vasculaires où elles peuvent être localisées dans divers organes : racines, tiges, feuilles et fruits (**Bruneton, 1999**).

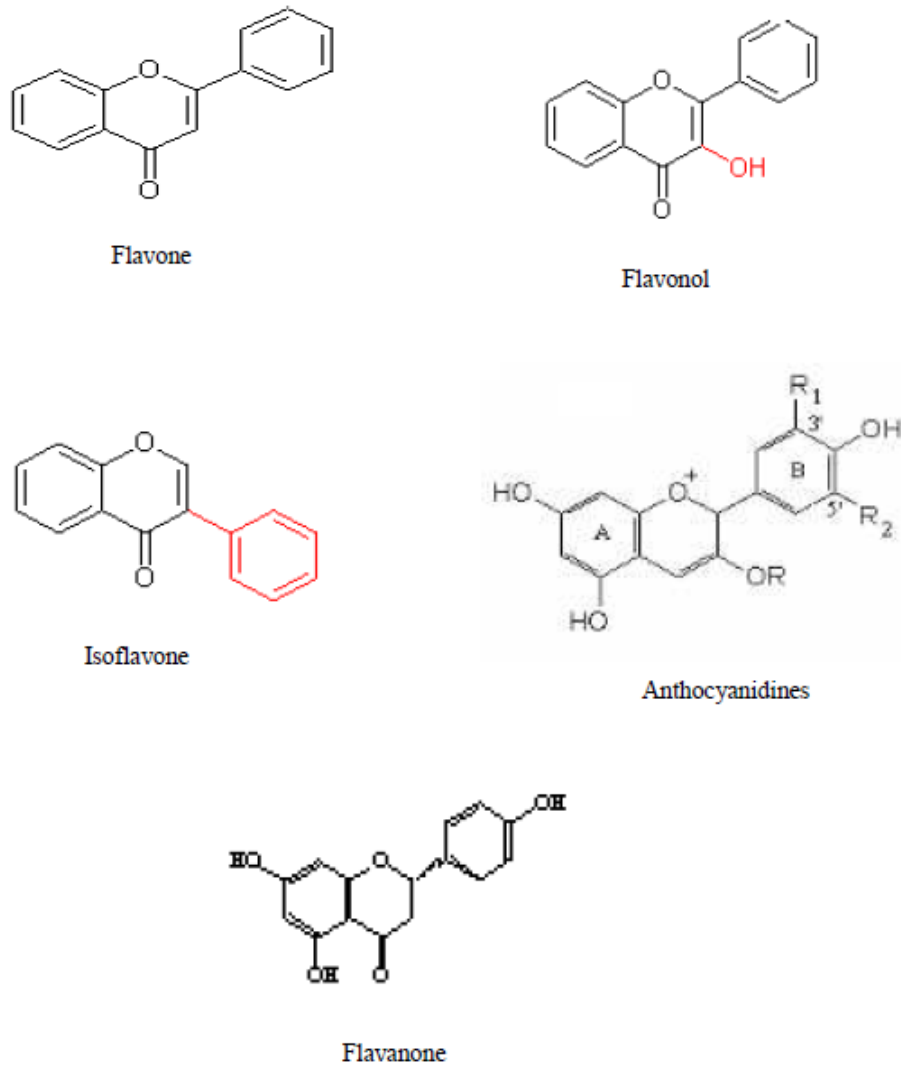


Figure.24 : Les principales classes de flavonoïdes

A l'état naturel, on trouve très souvent les flavonoïdes sous forme de glycosides. Une ou plusieurs de leurs fonctions hydroxyles sont alors glycosylées (**Bruneton, 1999**).

III.1.2.2.1 Absorption et biodisponibilité :

Le métabolisme et la pharmacocinétique des polyphénols, et plus particulièrement les

flavonoïdes ont fait l'objet d'intenses recherches. Ces dernières ont montré que les flavonoïdes sont rapidement absorbés dans le tractus intestinal et détectés dans le plasma, ce qui suggère qu'ils sont disponibles pour exercer leurs effets biologiques (**Spencer et al., 2004**).

En effet, il a été démontré que les flavonoïdes peuvent traverser la barrière intestinale et atteindre la circulation plasmatique à des concentrations de l'ordre du micromolaire, concentrations auxquelles ils possèdent des effets bénéfiques observés in vitro (**Manach et al., 2005**).

D'une manière générale, les flavonoïdes sont excrétés dans la bile et dans le duodénum, puis ils sont réabsorbés dans le cycle entérohépatique ce qui explique la longueur de leur demie -vie.

III.1.2.2.2 Propriétés biologiques des flavonoïdes :

Les flavonoïdes ont suscité l'intérêt scientifique depuis plusieurs décennies. D'abord à cause de leur importance dans la physiologie des plantes et de leurs rôles dans la pigmentation, mais aussi parce qu'ils sont impliqués dans la croissance et la reproduction des plantes (**Manach et al., 2004**). Ils ont également pour fonction de protéger ces dernières contre les pathogènes d'origine virale ou bactérienne, les prédateurs comme les insectes (**Bravo, 1998**).

Plus particulièrement, les flavonoïdes sont impliqués, chez les plantes, dans le transport d'électrons lors de la photosynthèse et ils jouent un rôle de protection contre les effets néfastes des rayons ultraviolets en agissant comme antioxydant (**Havsteen, 2002**).

Les flavonoïdes parviennent à capturer les espèces réactives de l'oxygène associées au stress oxydatif, les empêchant ainsi de créer des dommages cellulaires. En effet, ils sont capables d'inactiver et de stabiliser les radicaux libres grâce à leur groupement hydroxyle fortement réactif. Ils inhibent aussi l'oxydation des LDL et, de ce fait, peuvent prévenir l'athérosclérose et diminuer les risques de maladies cardiovasculaires (**Tu et al., 2007**).

Les flavonoïdes sont capables d'exercer en plus des propriétés antioxydantes, des propriétés anti-inflammatoires, antiallergiques et antiulcérogènes (**Di Carlo et al., 1999**).

Certains flavonoïdes ont également démontré un potentiel d'agent vasodilatateur (**Woodman et Chan, 2004**). Ils ont été surnommés les « modificateurs naturels des réponses biologiques»

Une panoplie d'études in vitro ont ensuite montré que les flavonoïdes peuvent moduler l'activité d'une grande variété d'enzymes impliquées dans des voies importantes qui régulent la division et la prolifération cellulaire, l'agrégation des plaquettes, la détoxification, l'inflammation et la réponse immunitaire (**Middleton et al., 2000**), ils sont donc capables de modifier le comportement de plusieurs systèmes cellulaires.

Récemment, plusieurs études épidémiologiques ainsi que des études réalisées dans différentes lignées cellulaires ont démontré le potentiel antitumoral et anticancéreux des flavonoïdes (**Birt et al., 2007**) notamment les molécules appartenant à la sous-classe des flavones efficaces contre le colon (**Wenzel et al., 2000**) et les poumons. De plus les anthocyanidines ont montré des effets d'inhibition de la migration de cellules provenant de tumeurs hautement invasives et prolifératives, les glioblastomes.

III.1.2.2.3 Les anthocyanidines :

Les anthocyanidines ne possèdent pas de groupe OH à la position 4 et ont une double liaison entre les positions 3 et 4. Les plus importants sont : pélagonidine, cyanidine et péonidine.

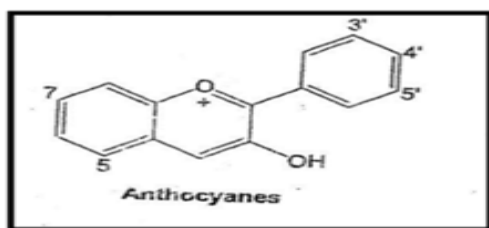


Figure.25 : Structure chimique d'anthocyanes

III.1.2.2.4 Les saponosides :

On entend par saponosides (mot latin « sapon », savon ; « saponaire », l'herbe à savon), des hétérosides à aglycones de structure stéroïde ou triterpénique qui tiennent une grande place parmi les substances d'origine végétale (**Robinet, 1951**).

III.1.2.2.4.1 Propriétés biologiques des saponosides :

Les saponosides ont une activité expectorante, ils rendent un peu moussant la muqueuse des bronches inflammatoires et facilitent l'expectoration. De plus, ils sont de puissants hémolysants, ils possèdent également des propriétés édulcorantes, largement utilisées dans l'industrie agro-alimentaire (**Bruneton, 1999**).

D'autre part les travaux de (**Steinmetz et al.,1993**) ont mis en évidence l'activité antifongique de saponosides triterpéniques extraits du lierre sur les levures et les dermatophytes. Dans un même ordre d'idée, les saponosides l'hédérine ont montré une activité anti tumorale et antibactérienne.

III.1.2.2.5 Alcaloïdes :

Les alcaloïdes sont des molécules d'origine naturelle. On les trouve principalement chez les végétaux, mais aussi chez les animaux et chez certains micro-organismes.

Leur structure chimique de base est un hétérocycle azoté sauf pour quelques substances dans lesquelles l'azote est extra cyclique (c'est le cas de la colchicine et de l'éphédrine par exemple). Il existe plus de six mille alcaloïdes mais ce chiffre est en constante augmentation (**Judd et al., 2002**).

III.1.2.2.5.1 Propriétés biologiques des alcaloïdes :

Les alcaloïdes forment un groupe hétérogène du point de vue de leur structure, de leurs propriétés et de leurs effets biologiques.

Ils agissent directement sur le système nerveux avec des effets sur la conscience et la motricité. L'action sur le système nerveux peut aller jusqu'à une action antispasmodique, et mydriatique, anesthésique locale ou analgésique et narcotique.

Les alcaloïdes sont aujourd'hui nommés d'après la plante qui les a fournis, toujours avec une terminaison en "ine". D'une façon générale, les alcaloïdes sont amers et utilisés comme apéritifs (**Bruneton, 1999**).

III.1.2.2.6 Les coumarines :

Historiquement le nom de coumarine vient de «cumaru» qui est le nom dans une langue amazonienne, de l'arbre de tonka (*dipteryx odorata willd, fabaceae*) dont les fèves contiennent 1 à 3% de coumarine

Les coumarines ont été isolées pour la première fois en 1820. Elles sont présentes en quantités plus faible dans plusieurs plantes comme le mélilot, la sauge sclarée et lavande, On la trouve aussi dans le miel, le thé vert, etc.

Les coumarines sont des substances naturelles connues, Il s'agit de composés à neuf atomes de carbone possédant le noyau benzo (2 H)-1 pyrannone-2. Ce composé dériverait de la cyclisation de l'acide cis cinnamique oxygéné en C-2.

III.1.2.2.6.1 Classification :

Les coumarines sont substituées par un hydroxyle ou plus sur les six positions disponibles.

La majorité des coumarines sont substituées en C-7 par un hydroxyle.

Les auteurs ont classé les coumarines selon la nature des substituant sur leurs structures en cinq catégories.

III.1.2.2.6.2 Intérêt des coumarines :

Les coumarines manifestent diverses activités biologiques, qui varient selon la substitution sur le cycl benzopyrone.

Les coumarines ont indiquées dans le cas de lymphoedème du membre supérieure après traitement radiochirurgical du cancer du sein .concernant les dérivés coumariniques, certains d'entre-deux possèdent des activités pharmacologiques, principalement anticoagulantes, les plus connus sont le dicoumarol et l'esculosi de tout deux veinotoniques et vasculoprotecteurs .

IV. LES SELS MINERAUX :

Les sels minéraux sont des substances provenant de roches qui entrent dans la composition des organismes et qui sont présents dans l'alimentation animale et végétale. Ils se présentent sous forme ionique (anions ou cations), exemple : Ca^{2+} pour le calcium, Cl^- pour le chlore. Ce sont des substances indispensable à l'organisme, tous essentiels à l'organisme humain.

-Calcium : croissance osseuse en association avec le phosphore.

-Phosphore : croissance osseuse en association avec le calcium.

-
- Potassium (Sorbate de Potassium) : action régulatrice de l'équilibre hydroélectrolytique des liquides de l'organisme.
 - Fer : favorise l'hémoglobine et la fixation de l'oxygène.
 - Sodium : maintient l'équilibre acido-basique des liquides organiques et favorise le métabolisme de l'eau au sein des tissus et des cellules.
 - Chlore : antiseptique et désinfectant.
 - Manganèse : en association avec le magnésium, maintient le bon fonctionnement des muscles et du système nerveux.
 - Magnésium : (voir manganèse)
 - Cuivre : oligoélément indispensable au maintien de l'équilibre de l'organisme.
 - Chrome : favorise l'activité des enzymes des acides gras.
 - Zinc : stimule l'activité des protéines dans la cicatrisation.

IV.1 Le rôle des sels minéraux :

Les rôles joués par ces minéraux sont variables et divers : constitution des tissus, régulateur des mouvements d'eau rôle dans l'excitabilité neuromusculaire, élaboration des hormones, des enzymes, etc... , soit par incorporation directe, soit par un mécanisme catalytique. les glucides, les lipides, les protéines et les vitamines ne peuvent être apportés au corps humain que si celui-ci dispose de suffisamment de sels minéraux.

Par exemple le Calcium, le Phosphore servent à fabriquer la matière vivante et entrent dans sa composition, le Cuivre ou le Chrome ne sont utilisés que comme accélérateurs de réactions enzymatiques (catalyseurs). Leur rôle est essentiel dans la fabrication des protéines, le transport de l'oxygène et dans la régulation de le taux de sucre par l'insuline.

Ce sont des nutriments indispensables mais qui diffèrent des autres nutriments, à savoir les nutriments qui produisent de l'énergie (protides, lipides, glucides), car à l'image des vitamines, les sels minéraux ne sont pas une source énergétique

Aussi contrairement aux nutriments producteurs d'énergie, les sels minéraux et les oligoéléments n'apportent aucune calorie.

Sources dans l'alimentation

Comme le rein les élimine quotidiennement, notre alimentation doit en apporter chaque jour des quantités suffisantes.

Les sels minéraux sont apportés principalement par les aliments d'origine végétale. Les principaux sont les sels de calcium dans le lait, le fromage, les végétaux frais. Fer, dans le persil, le foie de veau, les légumes secs ; il est essentiel dans la composition des globules rouges. Phosphore dans la viande, le poisson, les Sufs et qui est utilisé dans la formation des cellules nerveuses du cerveau. Le mode de cuisson est important pour la conservation des minéraux: la cuisson à la vapeur, à l'étouffée ou au micro-onde n'altèrent pratiquement pas les minéraux.

Des carences peuvent être liées à un apport insuffisant (parfois d'origine géologique) ou à une modification de la digestibilité des oligoéléments: additifs alimentaires, cuisson inadéquate, médicaments. Il faut, comme pour les vitamines, éviter tout surdosage, (**Florence Campagne, 2000**).

V. Les activités biologiques :

V.1 ACTIVITE ANTIBACTERIENNE :

Malgré les avancées spectaculaires dans les recherches pharmaceutiques, l'apparition et le développement de bactéries résistantes aux antibiotiques est devenu un défi médical mondial. Les professionnels de la santé ne cachent pas leurs inquiétudes suite aux développements des bactéries multi-résistantes. Ces dernières provoquent des infections qui ne réagissent plus aux antibiotiques. Selon l'OMS, plus de 1,4 million de personnes dans le monde sont victimes des infections nosocomiales provoquées par les bactéries résistantes aux traitements et contractées lors des soins médicaux. Il est à noter que 70% des infections nosocomiales lourdes sont osseuses. Les fréquences maximales ont été rapportées dans les hôpitaux des régions de la Méditerranée orientale et de l'Asie du Sud-Est (11,8% et 10,0% respectivement), et la prévalence atteignait 7,7% en Europe et 9,0% dans le Pacifique occidental.

Par ailleurs, les plantes possèdent un système de défense naturelle très efficace, basé sur la biodiversité de leurs métabolites secondaires. Cette diversité, des groupes structuraux et fonctionnels, permet de se protéger efficacement contre de nombreux pathogènes tels que les bactéries, les champignons et les virus. Les plantes synthétisent, de manière constitutive ou induite, une multitude de molécules antimicrobiennes (**Jones et Dangl, 2006 ; Gibbons et Coll., 2008**), d'où l'intérêt de la recherche et le développement de la phytothérapie. Justement dans cette optique, plusieurs instituts de recherches ont procédé à des investigations dans l'étude de l'activité biologique de plantes médicinales originales de diverses régions du monde. Ces travaux sont basés sur l'usage populaire des espèces natives. Certains extraits et huiles

essentielles de plantes se sont montrés efficaces dans l'inhibition de la croissance d'une grande variété de souches bactériennes.

D'autre part, les risques de contamination microbienne provenant de la manipulation et la conservation des aliments sont de plus en plus fréquents. En outre, la demande croissante à des méthodes de conservation des aliments avec des produits naturels, nécessite le développement de 42 nouvelles méthodes de conservation basées sur l'ajout d'extraits de plantes. Ces méthodes de conservation représentent un besoin vital et pourraient éventuellement être une alternative aux antimicrobiens de synthèse. Il est donc nécessaire de développer des outils aiguisés pour tester l'activité antimicrobienne des produits naturels. On rapporte ci-dessous quelques techniques d'analyse de l'activité antibactérienne.

V.1.1 Quelques bactéries :

V.1.1.1 *Escherichia coli* :

Escherichia coli, également appelée colibacille et abrégée en *E. coli*, est une bactérie intestinale (Gram négatif), des mammifères, très commune chez l'être humain. En effet, elle compose environ 80 % de notre flore intestinale aérobie. Découverte en 1885 par Theodor Escherich, dans des selles des chèvres, c'est un coliforme fécal généralement commensal. Cependant, certaines souches d'*E. coli* peuvent être pathogènes, entraînant alors des gastro-entérites, infections urinaires, méningites, ousepsis.



Figure.26 : Bactérie d'E.Coli

V.1.1.2 *Bacillus cereus* :

Bacillus cereus est une bactérie appartenant au genre *Bacillus*.

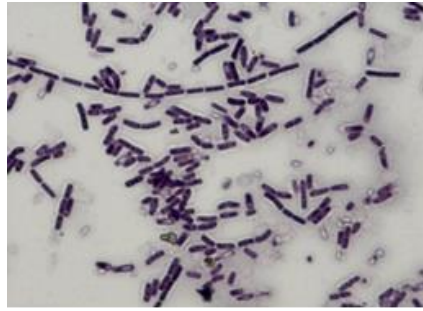


Figure.27 : Bactérie du *Bacillus cereus*

La morphologie du germe correspond à un grand bacille en forme de bâtonnet de 1 μm de large pour 3 à 4 μm de long, sporulé, mobile grâce à une ciliature péritriche, d'une longueur supérieure à 3 μm et d'un diamètre moyen de 1,4 μm et de type respiratoire aéro-anaérobie¹, présentant une positivité à la coloration de Gram, et synthétisant deux types de toxines : une toxine thermostable et une toxine thermolabile.

Le germe *Bacillus cereus*, retrouvé de manière ubiquitaire dans le sol, est fréquemment responsable d'intoxications alimentaires opportunistes, et ce dans le monde entier mais plus particulièrement en Europe. Il s'agit très souvent de l'ingestion d'aliments non réfrigérés après cuisson et après une première consommation (riz cuit par exemple). Le nombre de germes suffisant pour entraîner une intoxication est de un million.



Figure.28 : l'influence de bactérie *Bacillus cereus* sur l'humain

L'intoxication alimentaire à *Bacillus cereus* revêt deux formes :

- La forme émétique, accompagnée de nausées et de vomissements (durée d'incubation : 1 à 5 heures).

-
- La forme diarrhéique, accompagnée de douleurs abdominales et d'une diarrhée (durée d'incubation : 6 à 24 heures).

Dans les deux cas, il s'agit d'une infection opportuniste bénigne à résolution spontanée, le plus souvent dans les 24 heures. Cependant, si l'intoxication survient chez un sujet immunodéprimé, il peut y avoir dissémination bactérienne avec un tableau de méningite, endocardite...

V.1.1.3 *Staphylococcus aureus* :

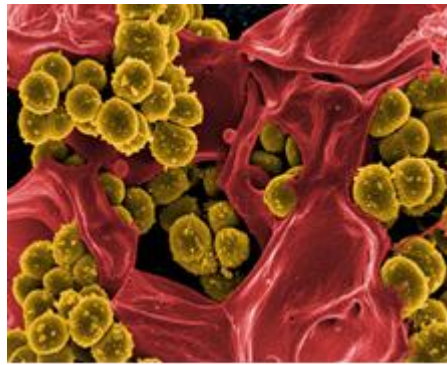


Figure.29 : Bactérie de *Staphylococcus aureus*

- *Staphylococcus aureus* (ou staphylocoque doré) est retrouvé chez 15 à 30 % des individus sains (50 % si l'on compte les porteurs occasionnels) au niveau des fosses nasales et de la gorge, il est également présent (en plus faibles quantités) dans le tube digestif et au niveau du périnée. À partir du rhinopharynx, la bactérie est disséminée sur la peau (mains et visage) par aérosols et est souvent présente sur les vêtements et dans les squames (qui font partie de la poussière de tout local habité). Comme les staphylocoques résistent bien à la dessiccation, la transmission peut être non seulement directe (surtout mains du personnel soignant dans les hôpitaux), mais aussi indirecte par les objets et poussières.



Figure.30 : L'influence du *Staphylococcus aureus* sur l'humain

V.2 L'activité antifongique :

- Les antifongiques sont des médicaments destinés à détruire les champignons microscopiques, et donc de soigner les mycoses.
- Ce sont des substances qui détruisent les champignons (fongicides) ou qui du moins en limitent le développement (fongistatiques).
- Certains sont à base d'iode, d'autres à base de produits actifs spécifiquement contre les levures, dont le nom de dénomination commune internationale (dci) se termine souvent en "nazole".

V.2.1 LES DIFFÉRENTS TYPES :

V.2.1.1 Les antifongiques externes : Appliqués localement sur la **peau**.

- Les **antiseptiques** à base d'iode sont surtout fongistatiques.
- Les fongicides ou antifongiques locaux sont de divers types : les "imidazolés" (éconazole, isoconazole, miconazole, tinidazole...), les anticandidosiques comme la fungizone, les antidermatophytes (Sporilline, mycodécyl), le **sulfure de selenium**.

V.2.1.2 Les antifongiques généraux

- Ils sont réservés aux **mycoses** profondes. Ils sont sous forme de comprimés ou de formes injectable. Il s'agit de l'amphotéricine, la flucytosine, la fluconazole, l'itraconazole, la kétoconazole, la **terbinafine**.
- Certains comme l'amphotéricine, sont efficaces mais toxiques et provoquent lors de leur injection intraveineuse de la **fièvre** des **vomissements** et un **malaise**. Le **rein** peut être atteint également.

V.2.2 Quelques champignons :

V.2.2.1 *Penicillium sp* :

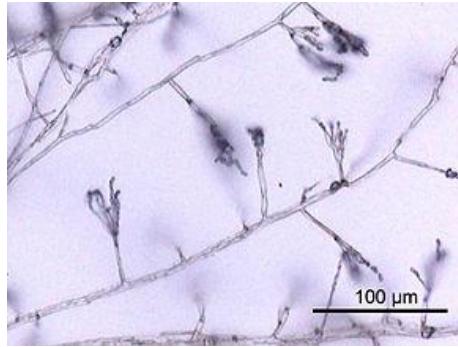


Figure.31 : Champignon de *Penicillium* sp.

Le nom *Penicillium* est donné à un genre de champignons imparfaits (deutéromycètes).

Les *Penicillium* sont des champignons filamenteux, de type moisissure. Le conidiophore ramifié possède une forme ressemblant à celle d'un pinceau. Les conidies sont disposées en longues chaînes. Le thalle est vert ou blanc. Ce genre comprend entre 100 et 250 espèces.

Ce sont des champignons pour la plupart très communs dans l'environnement pouvant être responsables de nombreuses dégradations. Ils ont pour habitat le sol, les denrées alimentaires, les matières organiques en décomposition, le compost, les graines, les céréales.

V.2.2.2 *Rhizopus* :

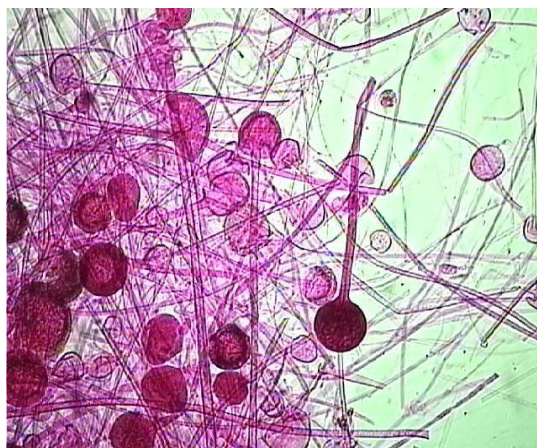


Figure.32 : Champignon *Rhizopus* sp.

Rhizopus est un genre de moisissures communes qui se développent sous forme de filaments dans les sols, sur les fruits et les végétaux en décomposition, sur les fèces des animaux et sur le pain. Il fait partie de l'ordre des *Mucorales*.

Il produit à la fois des spores sexuées et des spores asexuées.

La morphologie de l'anamorphe se caractérise par une hyphes siphonnée (sans cloison), multinuclée, à noyaux haploïdes, et à croissance apicale, possédant une paroi de chitine et de glucanes.

Le protoplasme renferme de nombreuses vacuoles qui repoussent le cytoplasme et les noyaux à la périphérie. Les réserves de nourriture sont stockées sous forme de glycogène et de lipides.

Au moment de la reproduction, ou après une blessure, des septa (cloisons) sont formées.

Certaines espèces de *Rhizopus* peuvent être responsables de mucormycose, une infection qui peut être fatale pour l'homme ou l'animal.

V.3 Les antioxydants :

Les antioxydants apparaissent aujourd'hui comme les clés de la longévité et nos alliés pour lutter contre les maladies modernes. Ce sont des éléments protecteurs qui agissent comme capteurs de radicaux libres. Ces derniers sont produit quotidiennement par l'organisme ; ce sont des composés très réactifs comportant un électron célibataire et nécessaire à des mécanismes vitaux (**Bartosz, 2003**) mais, ils deviennent nocifs quand ils sont en excès et induisent certains dommages au niveau de la structure des protéines, des lipides (**Pourrut, 2008**), des acides nucléiques (**Favier, 2003**) en entraînant un stress oxydant qui contribue aux processus de vieillissement cellulaire accéléré et au développement de pathologies humaines telles que les maladies cardiovasculaires, les cancers, l'artériosclérose.

Des systèmes de défense permettent de prévenir la formation radicalaire ou de limiter les lésions d'oxydation résultantes. Ces systèmes peuvent être endogènes ou exogènes, d'origine nutritionnelle.

Radical	Formule
Anion superoxyde	O_2^-
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2
Hydroxyle	OH^\cdot
Peroxyle	ROO^\cdot
Hydroperoxydes	$ROOH$
Alcoxyles	RO^\cdot
Oxygène singulet	$1/2O_2$
Oxyde nitrique	NO^\cdot

Tableau.4 : Liste des principaux radicaux libres.

- Les flavonoïdes : Ce sont des substances naturelles présentes dans tout le règne végétal. Les flavonoïdes peuvent agir de différentes façons dans les processus de régulation du stress oxydant : par capture directe des espèces réactives de l'oxygène, par chélation de métaux de transition comme le fer le cuivre ou par inhibition de l'activité de certaines enzymes responsables de la production des espèces réactives de l'oxygène comme la xanthine oxydase (**Lahouel et al., 2006**).
- Les tanins : Les tanins sont des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques produits au cours de la peroxydation. Des radicaux tanniques plus stables sont alors formés, ce qui a pour conséquence de stopper la réaction en chaîne de l'auto oxydation des lipides.
- Les coumarines : Ils sont capables de piéger les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes, importants dans la prévention de la peroxydation des lipides membranaires et ils ont une activité antiperoxydante (**Diallo, 2005**).
- Le sélénium : il neutralise les métaux toxiques en particulier le plomb et le mercure. Il aurait aussi une action préventive sur certains cancers.

VI. Evaporateur rotatif :

L'évaporateur rotatif (ou rotavap) est un appareil utilisé en chimie afin de distiller rapidement des solvants, dans le but de concentrer partiellement une solution ou pour concentrer à sec (on enlève tout

le solvant) une solution ou une suspension. Le principe de cet appareil est basé sur la distillation sous vide (partiel). La solution est mise en rotation pour éviter des bulles d'ébullition trop grosses ou mousseuses ainsi que pour augmenter la surface en contact avec l'air. Ensuite, la pression est diminuée grâce, généralement, à une trompe à eau et la solution est chauffée en fonction du solvant à éliminer- pour compenser le caractère endothermique de la réaction.

L'évaporateur rotatif est typiquement un appareil de laboratoire.

Il est constitué de différentes parties :

- Un bain-marie d'eau afin de chauffer la solution à concentrer
- Un ballon dont la forme est adapté.
- Un réfrigérant qui condense les gaz
- Un ballon réceptacle dans lequel les gaz condensés sont recueillis.
- Un dispositif qui fait tourner le ballon suivant son axe de symétrie afin de permettre une homogénéisation du milieu et une évaporation tranquille.

VII. Dosage des phénols totaux :

Les métabolites secondaires constituent une large gamme de molécules végétales, dont leur nature chimique et teneurs sont extrêmement variables d'une espèce à une autre. Plusieurs méthodes analytiques peuvent être utilisées pour la quantification des phénols totaux. L'analyse par le réactif de Folin-Ciocalteu (1927) est la plus utilisée.

Ce réactif est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PO₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMO₁₂O₄₀). Lors de l'oxydation, il est réduit en un mélange d'oxyde bleu. La coloration produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'extrait analysé.

VIII. Lyophilisateur :

Le lyophilisateur est une machine permettant de dérouler un processus de lyophilisation. Elle est composée au minimum d'une enceinte frigorifique pouvant être tirée au vide et d'une surface plus froide faisant office de piège frigorifique. Des lyophilisateurs minimalistes peuvent être utilisés pour des

applications peu exigeantes techniquement (lyophilisation de plantes, de papiers humides, séchage de vestiges archéologiques...), mais les lyophilisateurs sont surtout utilisés pour la production pharmaceutique, où les contraintes de délais et de qualité ont conduit à compliquer fortement leur construction. Les produits les plus lyophilisés sont les aliments.

(Wikipedia, Lyophilisateur).

IX. Spectrophotomètre :

Un spectrophotomètre est un appareil qui permet de mesurer l'absorbance d'une solution à une longueur d'onde donnée ou sur une région donnée du spectre. Selon la loi de Beer-Lambert, l'absorbance d'une solution est proportionnelle à la concentration des substances en solution, à condition de se placer à la longueur d'onde à laquelle la substance absorbe les rayons lumineux. C'est pourquoi la longueur d'onde est réglée en fonction de la substance dont on veut connaître la concentration.

(Wikipedia, Spectrophotomètre).

Chapitre

2

Une étude phytochimique d'une espèce végétale passe impérativement par ces étapes :

- Récolte de la plante.
- Conservation.
- Broyage.
- Extraction.
- Séparation et identification structurale des produits isolés.

Ce travail a été effectué aux laboratoires 1 et 2 de biologie et physiologie végétale département de biologie végétale et écologie, et au laboratoire de biochimie de tronc commun, faculté de sciences de la nature et de la vie et les différentes étapes de notre étude sont brièvement dans la **figure.1** :

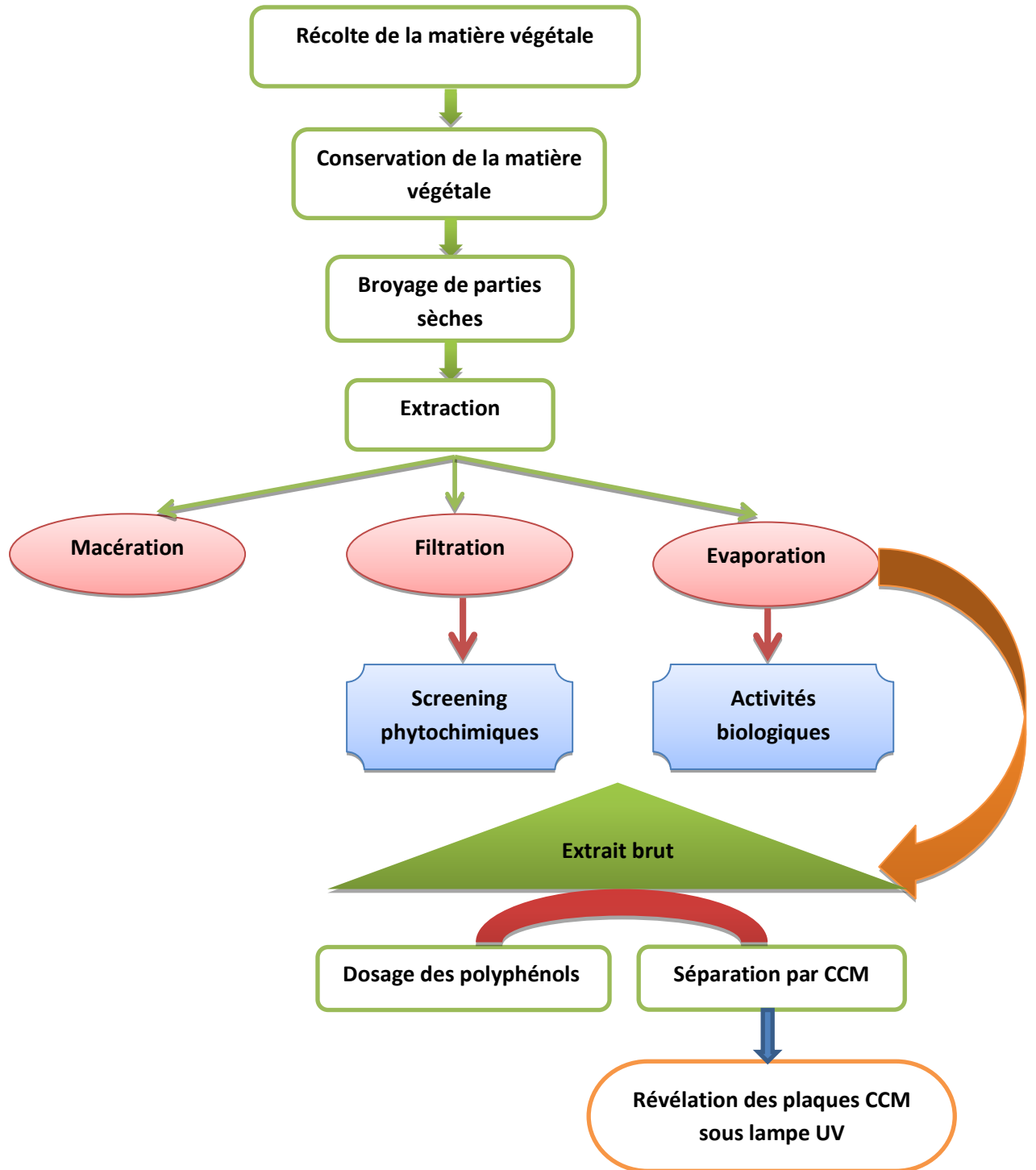


Figure.33 : Protocole d'études expérimentales.

I. Le matériel végétal :

Notre étude apportée sur deux espèces de plantes de deux familles différentes mais de morphologie presque la même, la première espèce : (*Aloe barbadensis* Miller) c'est de la famille : Xanthorrhoeacées, et la deuxième espèce : (*Agave americana* L.) de la famille : Agavaceae.

Nous sommes intéressés par les métabolites primaires et secondaires et aussi de quelques molécules bioactives et quelques activités biologiques, et nous avons fait des études phytochimiques sur les deux plantes et on a utilisées dans cette étude six parties de chaque plante qui sont : écorce, gel, racines, tige, hampe florale, fleurs (Al) et Gousse (Ag).

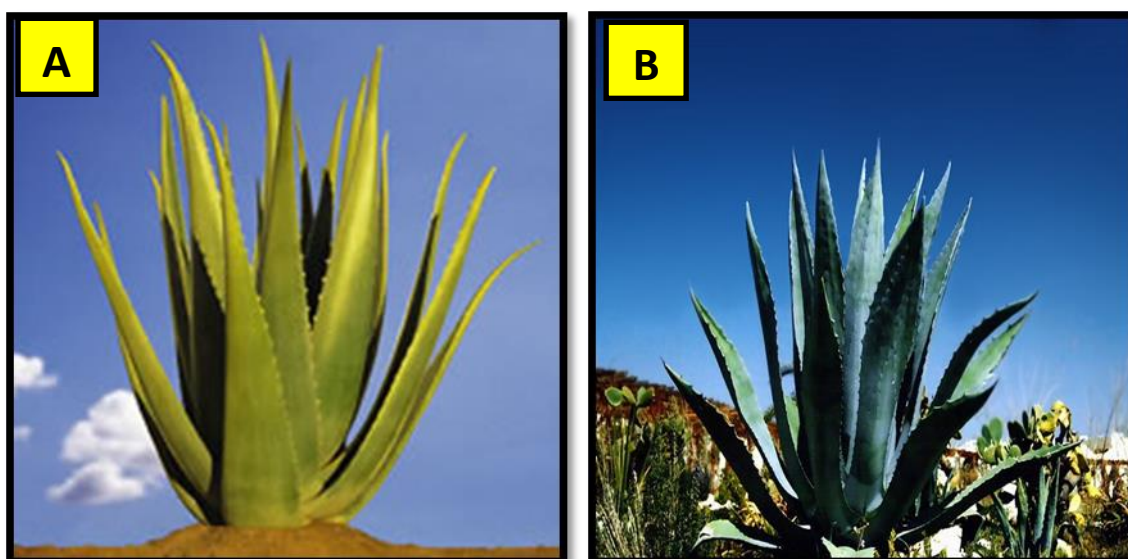


Figure.34 : photos de plantes utilisées dans la recherche

-A: *Aloe barbadensis* Miller

-B: *Agave Americana* L.

I.1 Récolte de la matière végétale :

Les deux espèces ont été récoltées à partir de deux régions différentes la première espèce (*Aloe barbadensis* Miller) a été récolté dans la région de : **Zarzis (Sud-est de Tunisie)** et la deuxième espèce : (*Agave americana* L.) a été récolté dans la région de **université Constantine 1-Constantine-(Nord-est de l'Algérie)** durant le même mois : Mars 2014.



Figure.35

: Distribution géographique de la récolte d'*Aloe barbadensis* Miller et *Agave americana* L.

● Constantine

● Zarzis

I.2 Conservation :

Nous avons conservés les deux espèces dans des pots de volume moyen dans un endroit ensoleillé et aérée (cette conservation concerne l'utilisation frais de la plante), et pour l'utilisation sec, les différentes parties de les deux plantes a été conservées plus de 20 jours à l'obscurité, a une température ambiante et à l'abri de soleil et le gel de chaque plante a été séché dans l'appareil du lyophilisateur.



Figure.36 : L'appareil du lyophilisateur

I.3 Broyage de parties sec :

Les différents parties d'espèces sont broyées finement et entièrement à l'aide d'un mortier (**figure 37.A**), filtrées (**figure 37.B**) puis pesées.

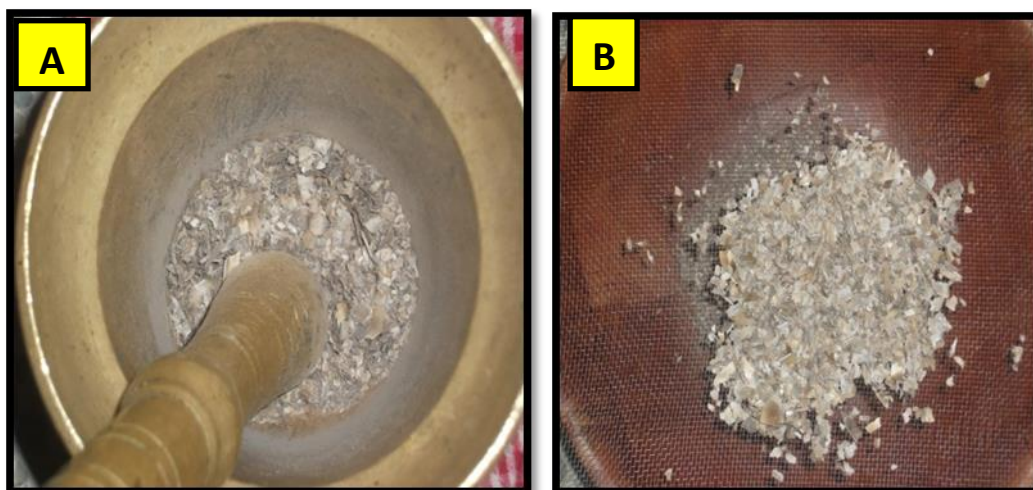


Figure.37 : Broyage (A) et filtration (B) du matériel végétal.

I.4 La macération de la matière végétale :

La macération est une opération qui consiste à laisser la poudre du matériel végétal en contact prolongé avec un solvant, pour extraire les principaux actifs (**Djamel et al., 2012**). Le protocole d'extraction est le même pour les deux espèces.

On prend 20 g du poids sec de chaque partie des deux espèces dans 300 ml de solution hydro-alcoolique et en a utilisé trois solution (Méthanol, chloroforme, éther de pétrole) et en laisse macérer dans des flacons de petite taille pendant 3 jours (72 h) successifs (**Figure.37**) avec renouvellement du solvant chaque 24 h et agitation de temps en temps. Ceci pour permettre une meilleure extraction des composés chimiques.



Figure.38 : Photos de macération de la matière végétale de chaque espèce.

A : *Aloe barbadensis* Miller, **B** : *Agave Americana* L.

I.5 La filtration :

Après la macération d'un temps de 72 h, la solution hydro-alcoolique a été filtrée à l'aide d'un entonnoir sur papier wattman n° 1 (**Figure.39**).



Figure.39 : photo de filtration du macéré

II. Screening phytochimique :

II.1 Criblage des métabolites primaires :

II.1.1 Les composés réducteurs :

Leur détection consiste à traiter 1ml de l'extrait éthanolique avec 2 ml d'eau distillée et 20 gouttes de la liqueur de Fehling (Réaction de liqueur de Fehling : Mélanger 5ml de liqueur Fehling A avec 5ml de liqueur Fehling B), puis chauffer. Le caractère réducteur des aldoses ou des cétones est révélé par la transformation du couleur aux rouge ou rouge brique (**Trease et Evans, 1987**).

II.1.2 Criblage d'amidon :

Le test effectué consiste à ajouter le réactif d'amidon qui est : l'eau iodée (dissoudre dans 20 ml d'eau distillée 1,5g d'iodure de potassium (KI) puis 0,5g d'iode (I) et compléter avec de l'eau distillée jusqu'à 100 ml), sur le matériel végétale qui sera étudié. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleue violacée (**Guignard, 1979**).

II.1.3 Criblage des acides lipides :

Leur détection consiste à mettre la substance à tester en solution aqueux dans un tube ou dans un verre de montre, après on a goûté quelques gouttes de rouge Soudan III. Le rouge Soudan III met en évidence les lipides par une coloration Rouge intense.

II.1.4 Criblage des acides aminés :

II.1.4.1 Matériel :

- cuves à chromatographie.
- sèche-cheveux.
- microtubes 1 à 2 ml avec support.
- micropipette 1 - 10 μ l.

- flacon pulvérisateur.

- hotte aspirante.

II.1.4.2 Consommables :

- plaques à CCM (cellulose ou silice sur polyester ou de l'aluminium).

II.1.4.3 Réactifs :

- hydrolysats protéiques ou autre mélange d'AA.

- 100 ml de solvant : butanol 70 ml + acide acétique 18 ml + eau 12 ml à placer dans un flacon hermétiquement clos.

- Solutions d'AA : 2 à 5 mg d'AA (glycine, proline, tyrosine, proline, acide aspartique, asparagine, méthionine, isoleucine, arginine, phénylalanine) dans 1 ml d'eau distillée, à placer dans des micro-tubes.

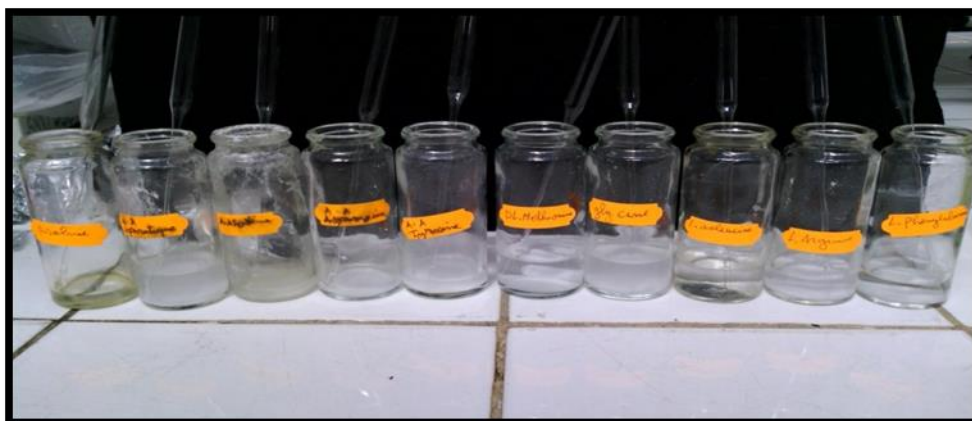


Figure.40 : photo du standard d'acides aminés

- Colorant : solution de ninhydrine à 5% dans acétone, à placer dans un flacon pulvérisateur à parois opaques (la ninhydrine s'altère à la lumière).

A préparer juste avant ...

- les cuves à CCM : disposer, sous hotte aspirante, le solvant au fond des cuves sur une épaisseur de 1cm. Fermer hermétiquement les cuves et les stocker sous hotte aspirante (l'inhalation de vapeurs de solvants organiques sont déconseillées). L'atmosphère de la cuve va se saturer en vapeurs en 15 min.

-
- le révélateur : préparé au moins 24 h à l'avance et placé dans un flacon pulvérisateur opaque.
 - les plaques à CCM : tracer, à la pointe du crayon, un repère à 2 cm du bas de la plaque, marquant la ligne sur laquelle se feront les dépôts.



Figure.41 : Les étapes de la préparation de plaque CCM

On peut les placer 30 min. à l'étuve à 100°C pour les activer par déshydratation.

II.1.4.4 DEPOTS (15 min.) : Sur la plaque à CCM réalisé successivement les dépôts des différentes substances à chromatographie (mélange d'AA et AA de référence). Manipuler la plaque à CCM en évitant d'y appliquer les doigts. Pour chaque solution on fera 2 à 3 dépôts successifs (afin de disposer d'une concentration suffisante de produit) au moyen de la micropipette. Le diamètre du dépôt ne doit pas excéder 2 mm. Utiliser le repère tracé au crayon. Séparer les dépôts d'au moins 5 mm. Sécher la plaque entre chaque dépôt (à l'étuve ou au sèche-cheveux). Noter soigneusement (sur un schéma de la plaque CCM) la position et l'ordre des dépôts réalisés.



Figure.42 : Dépôt d'échantillon

II.1.4.5 MIGRATION ET SECHAGE (40 min.) : Une fois l'ensemble des dépôts réalisés, placer rapidement la plaque à CCM dans la cuve. La ligne des dépôts doit être située au-dessus du solvant. Laisser migrer 30 min environ.

Retirer la plaque quand le solvant est arrivé à 1 ou 2 cm du bord supérieur. Marquer, au crayon la limite de migration. Evaporer le solvant en le plaçant à l'étuve 60 °C ou en utilisant, sous la hotte aspirante le sèche-cheveux. La plaque doit être incolore.



Figure.43 : Le développement du chromatogramme

II.1.4.6 REVELATION (15 min.) : vaporisé la ninhydrine sur la plaque sous la hotte aspirante. Sécher (5 min.), et finir le séchage à température ambiante, les spots apparaissent lentement. Analyser le chromatogramme obtenu : les substances séparées sont révélées sous forme de spots colorés (bleus, violacés ou jaune) et identifiées en comparaison avec les positions des spots témoins.



Figure.44 : La révélation par la ninhydrine

II.2 Criblage des métabolites secondaires :

II.2.1 Criblage des composés phénolique :

Se réalise à partir de l'extrait hydroalcoolique des différentes parties de l'*Aloe barbadensis* Miller et *Agave americana* L., et réparti dans 6 tube de chaque plante, chacun des 6 tubes proprement étiquetés (écorce, gel, racine, tige, hampe florale, fleurs(AI) et gousses(Ag)) pour les 2 tests suivants :

A – Test de Wilstater : traiter les extraits avec quelque gouttes d'HCl concentré et ajouter une quantité de tournures de Mg (3-4 graines), et laisser agir.

La présence des flavones aglycones est confirmée par l'apparition d'une couleur rouge ou orange (Karumi, 2004)

B – Test de Bate-Smith : traiter les « extraits avec HCl concentré et porter au bain-marie pendant 30 minutes », l'apparition de couleur rouge ou brun confirmée la présence de anthocyane.

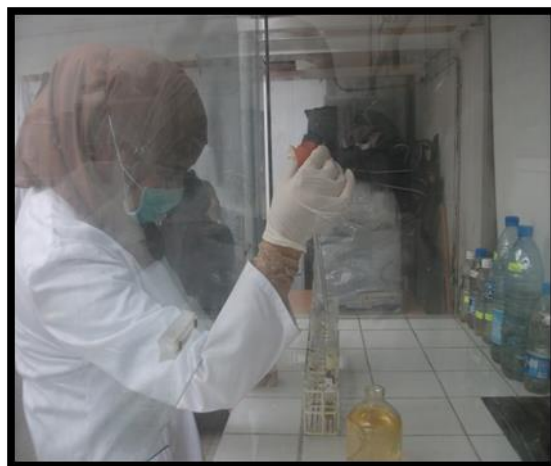


Figure.45 : Détection des flavonoïdes et anthocyanes par l'HCl, (Seguen w, 2014)

II.2.2 Criblage des tanins :

15g de matériel végétal se sont placés dans 10 ml de MeOH 80%, Après 15 minutes d'agitation, les extraits sont filtrés et mis dans des tubes. L'ajoute de FeCl₃ permet de détecter la présence ou non des tanins. La couleur vire au bleu noirs en présence de tanins galliques et au brun verdâtre en présence de tanins catéchique (Rizk, 1982).

II.2.3 Criblage des anthraquinones :

L'extrait chloroformique de chacun des organes. On ajoute KOH aqueux 10%, Après agitation, la présence des Anthraquinones est confirmée par un virage de la phase aqueuse au rouge ou rose (Rizk, 1982).

II.2.4 Criblage des quinones :

1g de matériel végétal (feuille, tige, racine, gel, hampe florale, fleurs(AI), gousse(Ag)) sec et broyé et placé dans des tubes avec 15 à 30 ml d'éther de pétrole Après agitation et un repos de 24heures, après les extraits sont filtrés.

La présence de quinones libres est confirmée par l'ajoute de quelque goutte de NaOH (1/10), lorsque la phase aqueuse vire au jaune, rouge ou violet (Ribérreau, 1968).

II.2.5 Criblage des hétérosides cyanogénétiques :

On a Humecté dans un erlen 2g de poudre végétale avec une quantité suffisante d'eau.

Ajouter 1 ml de chloroforme, après Tremper une bande de papier filtre Wattman n°1 dans une solution fraîchement préparée de picrate de sodium (5g de Na_2CO_3 : 0,5 g d'acide picrique et 100 ml d'eau distillée) puis égoutter.

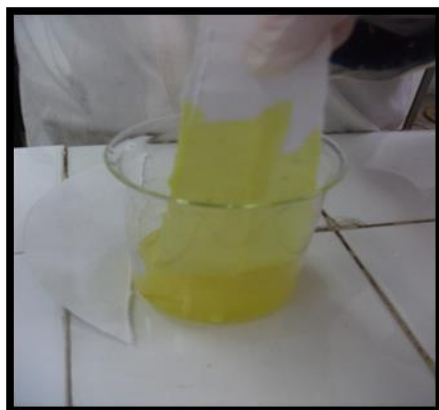


Figure.46 : Tremper la bande dans le picrate du sodium

Introduire un morceau de la bande de papier ainsi préparée dans l'eren juste au-dessus de la drogue et plier sur le bord du récipient. Fermer l'eren et laisser à la température ambiante pendant trois heures.



Figure.47 : photos des récipients

L'absence de glycosides cyanogénétiques est prouvée si aucun changement de coloration ne se produit pendant trois heures.

II.2.6 Criblage des Alcaloïdes :

● Révélation par le réactif Mayer :

Pour mettre en évidence les alcaloïdes, le réactif de Mayer a été utilisé. L'ajout de quelques gouttes de ce réactif (10 g de KI et 2,70 g de HgCl₂ dissous dans 20 ml d'eau) à 2 ml de la solution d'extrait méthanolique entraîne la formation d'un précipité blanc ou blanc-jaune en présence d'alcaloïde (**Memelink et al., 2001**).

II.2.7 Criblage des saponosides :

On met 2g de l'échantillon végétal pour chaque partie (écorce, gel, racines, tige, hampe florale, fleurs (Al) et Gousse (Ag)) dans des tubes d'essais puis on rajoute quelque gouttes des réactifs suivants ces tests :

Test 1 : introduire 2g du matériel végétal dans un tube à essai. Mélanger avec 10 ml d'eau distillée, en agitant pendant 2-3 minutes (**Karumi et al., 2004**).

Test 2 : 2g du matériel végétal sont mélanger avec 10 ml de MeOH dans un tube à essai.

Agiter puis laisser reposer (**Benmahdi., 2000**).

Test 3 : 2g du matériel végétal sont mélanger avec 10 ml de CHCl₃, agiter pendant quelques minutes (**Edeaga., 2005**).

On fait bouillir dans un bain marie pendant 15 à 20 minutes, les trois tests sont réalisés sur chacun d'organes de les deux plantes (écorces, gel, racines, tige, hampe florale, fleurs(AI) et gousses(Ag)).

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

-Pas de mousse = test négatif

-Mousse de 1-2cm = test positif

-Mousse moins de 1cm = test faiblement positif

-Mousse plus de 2cm = test très positif

II.2.8 Criblage des coumarines :

Protocole 1 : La présence de coumarines (composés polyphénoliques) est réalisée en évaporant à sec 5 ml d'extrait étheré. 2ml d'eau chaude sont ajoutés puis 1 ml de NH₄OH a 25%. Le mélange est observé sous UV à 366 nm. L'observation d'une fluorescence bleue intense indique leur présence (**Badiaga M, 2011**).

Protocole 2 : *Test de détection :* 2 g de matériel végétal en poudre sont mélangés à 10 ml de CHCl₃. Après un chauffage de quelques min et une filtration, les extraits chloroformiques sont soumis à une CCM, et le solvant étant le mélange toluène / AcEt (93:10). La visualisation du chromatogramme, après migration, se fait à 365 nm.

II.2.9 Criblage des stérols et stéroïdes et triterpènes :

Dépigmenter 100mg d'extrait hydroalcoolique par addition de 10ml de cyclohexane et agitation pendant 5minutes. Dissoudre le résidu dépigmenté dans 10ml de chloroforme.

Sécher la solution obtenue sur Na₂SO₄ anhydre, puis filtrer. Répartir le filtrat dans quatre tubes à essai, le 4ème tube servira de témoin.

Tube n°1: *test de Salkowski*: incliner le tube à 45°, ajouter 1 à 2ml de H₂SO₄. Le changement de coloration est noté immédiatement. Agiter le mélange légèrement et noter le changement graduel de coloration : une coloration rouge indique la présence de stérols insaturés.

Tube n°2: *test de Libermann-Burschard* : additionner trois gouttes d'anhydride acétique puis agiter légèrement. Ajouter une goutte de H₂SO₄ concentré. Le changement de coloration est observé pendant une heure: une coloration bleu-vert indique la présence de stéroïdes tandis que rouge-violet à rose dénote la présence de triterpènes.

Tube n°3: *test de Badjet-Kedde* : additionner quelques grains d'acide picrique. L'apparition d'une coloration orange est due aux stéroïdes lactoniques.

II.3 Criblage des sels minéraux :

Réactifs	Résultats	Mise en évidence
Acide picrique	cristaux en aiguille de couleur jaune	m.e.e. du potassium
Nitrate d'argent	précipité de chlorure d'argent en présence de chlorures	m.e.e des chlorures
Oxalate d'ammonium	précipité blanc	m.e.e. du calcium
sulfate ferreux	coloration rose violacée	m.e.e du nitrate
Thiocyanate de potassium	coloration rouge	m.e.e. du fer (Fe ⁺³)
Molybdate d'ammonium	coloration bleu claire	m.e.e du cuivre (Cu)
Chlorure de baryum	précipité bleu	m.e.e. des sulfates

Tableau.5 : Réactifs des sels minéraux

III. L'étude analytique des métabolites secondaires :

III.1 Evaporation :

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



Figure.48 : Evaporation rotative (Rotavapor)

III.1.1 Dosage des polyphénols :

A partir de la solution mère (1 mg/ml) de l'extrait méthanolique de l'écorce de plantes étudiée, nous avons préparé deux répétitions d'une même concentration (125 μ l) avec la manière suivante :

Une prise de 125 μ L de l'extrait dilué (SM) est mélangée avec 500 μ L d'eau distillée et 125 μ L de réactif de Folin-Ciocalteu. Après une agitation vigoureuse du mélange suivie d'un repos de 3 minutes, une prise de 1250 μ L de $\text{Co}_3(\text{Na})_2$ à 7% est additionnée. Enfin le mélange obtenu est ajusté par de l'eau distillée à 3 ml.

Après un repos de 90 minutes à l'obscurité, la lecture de l'absorbance est effectuée à une longueur d'onde de 760 nm (**Heilerová et al., 2003**).

La gamme étalon est préparée avec de l'acide gallique à des concentrations variables de 50, 100, 200, 300, 400, 500 mg.l^{-1} . Les teneurs en polyphénols sont exprimées en mg d'équivalent acide gallique par gramme de matière séché ($\text{mg EA G.g}^{-1} \text{MS}$), (**Singleton et al., 1999**).

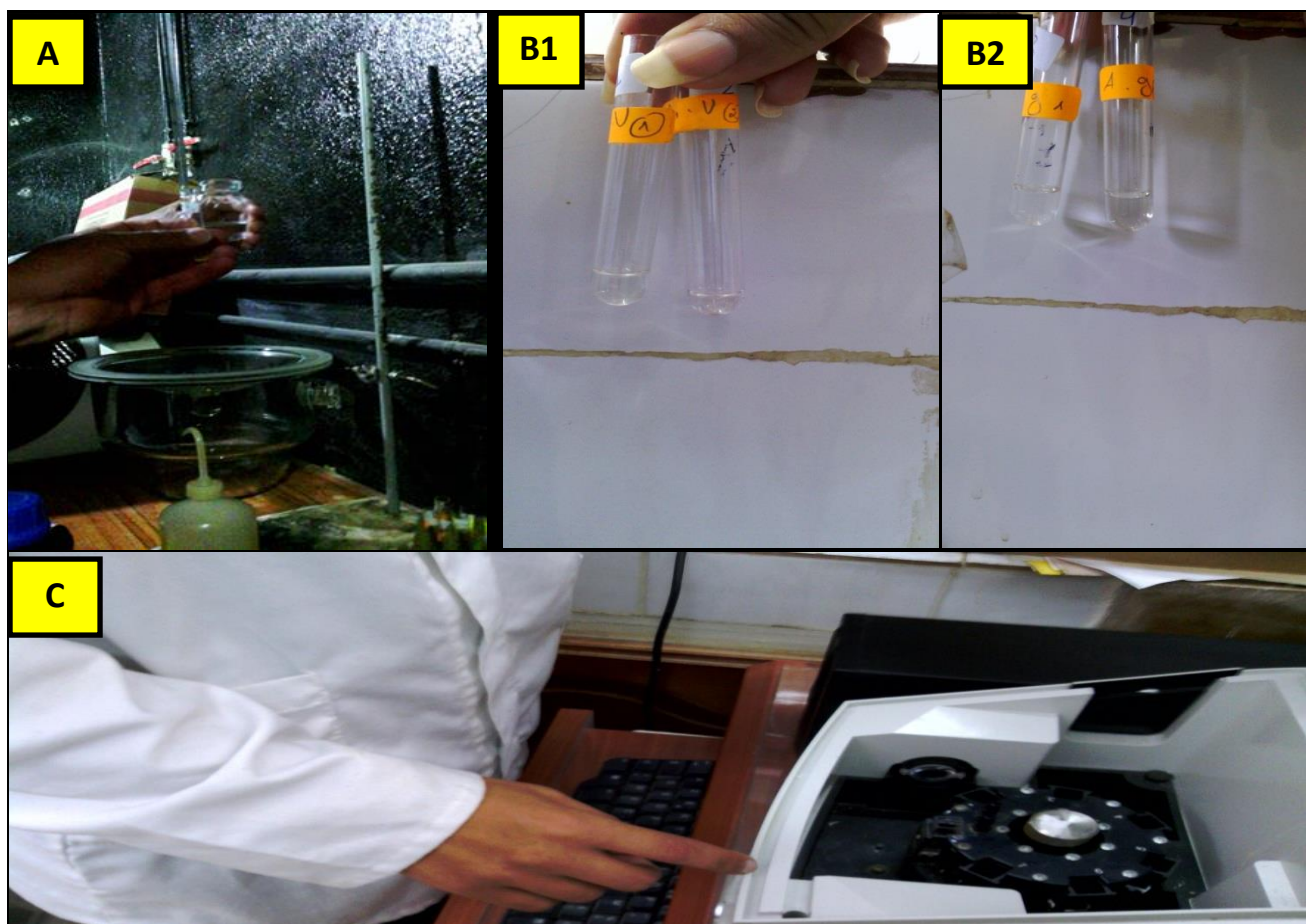


Figure.49 : les principales étapes du dosage des polyphénols

- A : l'extrait + Folin-Ciocalteu.
- B1 : ajusté le mélange d'écorce d'*Aloe barbadensis* Miller par de l'eau distillée.
- B2 : ajusté le mélange d'écorce d'*Agave americana* L. par de l'eau distillée.
- C : la lecture de l'absorbance à la longueur d'onde de 760 nm.

III.1.2 La séparation par CCM :

III.1.2.1 Principe :

Chromatographie d'adsorption sur couche mince permet d'analyser l'avancement d'une réaction (Erika Bourquet, 2008).

Lorsque la plaque sur laquelle on a déposé l'échantillon est placée dans la cuve, l'éluant monte à travers la phase stationnaire, et chaque composant de l'échantillon se déplace à sa propre vitesse cet dernier est reliée d'une part avec les forces électrostatiques

retenant les composants sur la phase stationnaire et d'autre part de sa solubilité dans la phase mobile (Kabouche, 2007).

III.1.2.2 Protocole :

a- La phase stationnaire : Utilisé les plaques commerciales (gel de silice 60 nm imprimé sur une plaque d'aluminium).

b- La phase mobile :

c- b-1 Choix du solvant : L'élution est commencé avec des solvants peu polaires puis poursuivie par des solvants plus polaires (Gwenola *et al.*, 2011).

b-2 Systèmes solvants essayés :

S1 : Acétate d'éthyle / Méthanol / Eau (10 : 1 : 0,5).

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

S3 : Hexane / Acétate d'éthyle (8 : 2).

S4 : Butanol / Acide acétique / Eau (4 : 1 : 5).

S5 : Chloroforme / Méthanol (9 : 1).

b-3 Systèmes choisis :

S1 : Acétate d'éthyle / Méthanol / Eau (10 : 1 : 0,5).

S2 : Hexane / Acétate d'éthyle (8 : 2).

S3 : Chloroforme / Méthanol (9 : 1).

C- Dépôt d'échantillons :

Le dépôt d'échantillons sur la plaque, il est conseillé de tracer une ligne droite parallèle au bord inférieur et d'y placer les marques des futurs dépôts, espacés d'un minimum de 0,5cm. Le dépôt doit être effectué de façon homogène à l'aide d'un capillaire sans creuser le support solide (Erika *et al.*, 2008).

d- Développement de la plaque :

La plaque est placée en position verticale dans une cuve et le solvant (éluant) qui en recouvre le front montre par capillarité. Lorsque la position du front du solvant arrive à environ 1cm de l'extrémité supérieure, la plaque retirée de la cuve. Le niveau attiré par le solvant est marqué par un trait fin, puis la plaque est séchée a l'aire libre (**Kabouche, 2007**).

e- Révélation :

e-1 Révélation par UV :

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

IV. Détermination du PH du gel :

La détermination du PH d'une matière végétale permet la détermination d'utilisation cutané et c'est le cas du gel d'*Aloe barbadensis Miller* et *Agave americana L*.

Nous avons mesuré le PH du gel de chaque espèce par deux méthodes, la première méthode avec les papier colore du PH par l'introduction du papier dans la solution a testé pendant 1 à 2 minutes après comparés la couleur des bandes avec les standards.

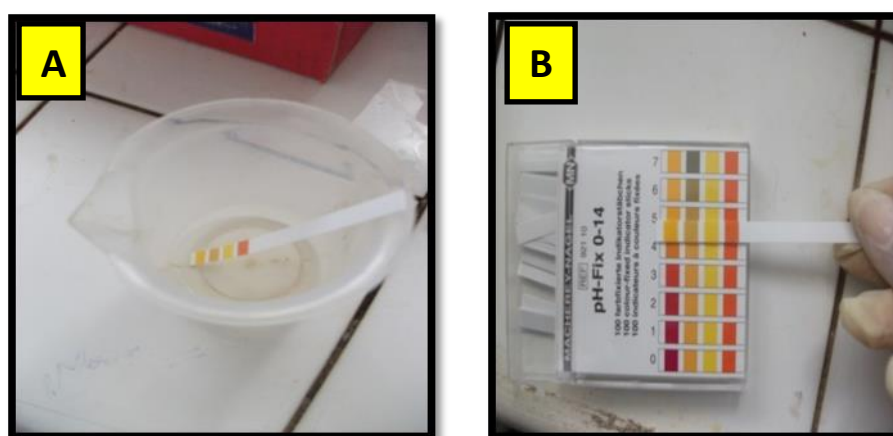


Figure.50 : La détermination du PH du gel d'*Aloe barbadensis Miller* et *Agave americana L*. à l'aide du papier du PH (A), et la comparaison de la couleur avec les standards (B).

Et la deuxième méthode qui est beaucoup plus exacte et fine c'est la détermination à l'aide de l'appareil du PH mètre qui donne un résultat sous forme des chiffres.



Figure.51 : La détermination du PH par l'appareil du PH mètre

V. Activités biologiques :

V.1 Activité antibactérienne de l'extrait hydroalcoolique :

Pour évaluer cette activité, nous avons opté l'activité antibactérienne de l'extrait hydroalcoolique qui a été testé in-vitro par la méthode de diffusion sur gélose cité par (Celiktas *et al.*, 2007) et (Sacchetti *et al.*, 2005).

V.1.1 Protocole expérimental :

a- Les souches de test :

On a choisit de travailler sur 3 souches bactériennes qui sont : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, et *Bacillus cereus*, 3 souches sont procurées par laboratoire de microbiologie de faculté de science et de la vie **d'université -Constantine 1-** Constantine.

Des colonies bien isolées ont été transférées dans des tubes contenant de l'eau distillée stérile afin d'avoir des suspensions microbiennes ayant une turbidité voisine à celle de McFarland 0.5 (106 UFC/ml).

b-Préparation des disques et puits:

Des disques de papier Wattman n°1 de 6 mm de diamètre sont préparés par un appareil spécial puis stérilisé et les puits sont creusés dans la gélose grâce à une pipette pasteur stérile de 6 mm de diamètre.

C-Préparation des boîtes :

La gélose **Muler-Hinton** stérile bouillie dans le bain-marie pendant environ 1h du temps, après, la gélose coulé dans des boîtes de pétries dans un zone stérile par le Bec benzène jusqu'à une épaisseur de 4 à 5 mm puis laissées 1 heure pour la solidification

d-Etalement des souches :

L'étalement est réalisé à l'aide d'une pipette pasteur, Deux boîtes sont utilisées pour chaque souche bactérienne.

e-Dépôt des disques et l'introduction du principe actif dans les puits:

Les disques ont été ensuite imprégnés chacun par 0,5 ml de principe actif et dans le fond de chaque puits est déposé une goutte de même volume du principe actif, cette opération est réalisée auprès de bec benzène.

f-Lecture des boîtes :

L'activité antibactérienne a été déterminée par mesurant à l'aide d'une règle de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques imprégné par l'extrait de les deux plantes et les poulles, déterminé par les différentes concentrations de l'extrait autour des disques et les puits.

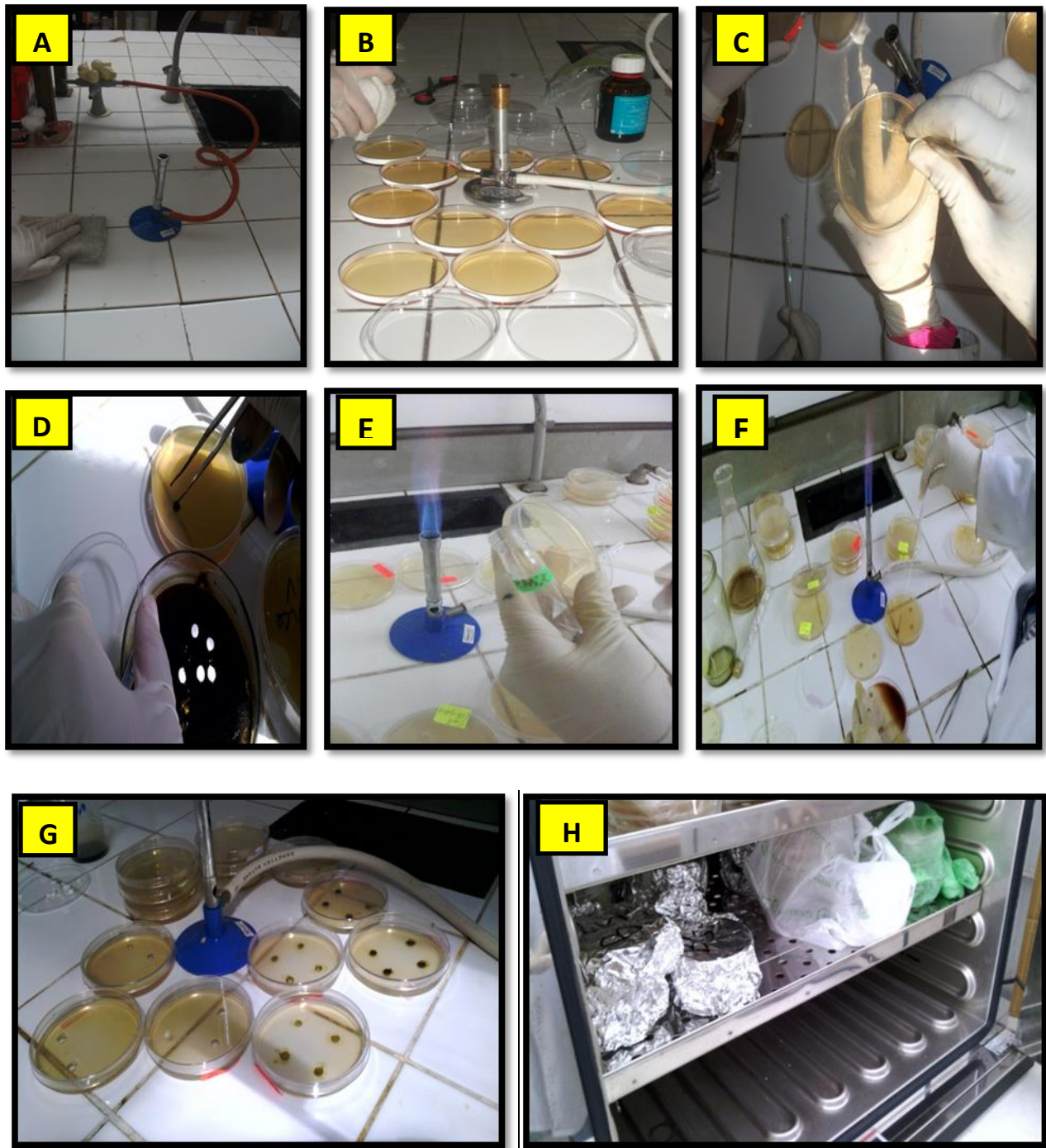


Figure.52 : Les différentes étapes de l'activité antimicrobienne

A : Stérilisation du payasse avec de l'eau de javel.

B : l'écoulement de le milieu Muler-Hinton dans les boites pétries.

C : préparation des pouilles.

D: Dépôt des disques.

E : Etalement des souches bactériennes.

F : Introduction du principe actif.

G : Fermeture des boites pétrie.

H : Incubation dans l'étuve.

V.2 Le pouvoir antioxydant :

Les extraits méthanoliques sont testés pour leur pouvoir antioxydant par la méthode de piégeage du radical libre DPPH et pour évaluer l'activité antioxydant, nous avons utilisé la méthode du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) selon le protocole décrit par (Lopes-Lutz *et al.*, 2008).

Dans ce test les antioxydants réduisent le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl ayant une couleur violette en un composé jaune, le diphénylpicrylhydrazine, dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu.

1- Nous avons prendre 0,05 g de chaque poudre d'extraits différentes (écorce et gel) d'*Aloe barbadensis Miller* et *Agave americana L.* dissoudre dans 10 ml d'eau distillée (solution mère), après nous avons préparés 4 concentrations différentes :

-3 mg/ml : 3 ml de solution mère + 2 ml de MeOH.

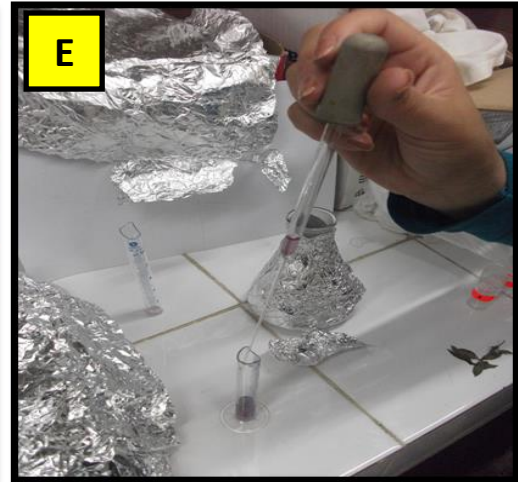
-2 mg/ml : 2 ml de solution mère + 3ml de MeOH.

-1 mg/ml : 1 ml de solution mère + 4ml de MeOH.

-0,5 mg/ml : 0,5 ml de solution mère + 4,5 ml de MeOH.



- 2- Préparer dans un erlen la solution du DPPH (0,5 mg du DPPH dissoudre dans 100 ml de MeOH) et prendre 30 μ L du chaque solution préparé et mélangé avec 3 ml du DPPH.



- 3- Les différentes concentrations préparées sont mises dans le vortex quelques minutes pour mélanger et après cette étape les différents tubes sont mis d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante pendant 30 minutes.



- 4- La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé pour chaque concentration à 517 nm après 30 minutes d'incubation.



Figure.54 : Les différentes étapes d'activité anti-oxydante (A, B, C, D, E, F, G)

Les résultats peuvent être exprimés en tant qu'activité anti-radicalaire où l'inhibition des radicaux libres en pourcentages (%) en utilisant la formule suivante :

$$- I\% = (A \text{ blanc} - A \text{ échantillon}) \times 100 / A \text{ blanc}$$

A blanc : Absorbance du blanc (DPPH dans le méthanol),

A échantillon : Absorbance du composé d'essai.

(Laib imene, 2011).

V.3 Méthode d'étude du pouvoir antifongique des extraits :

La même procédure de l'activité antibactérienne a été suivie pour tester l'activité antifongique du gel et écorce d'*Aloe barbadensis Miller* et *Agave americana L.*, le milieu de culture utilisée pour le repiquage est Sabouraud et les souches sont : *Penicillium sp* et *Bacillus sp*. La durée d'incubation de l'antifongigramme est de 48 heures.

Chapitre

3

I. Screening phytochimique :

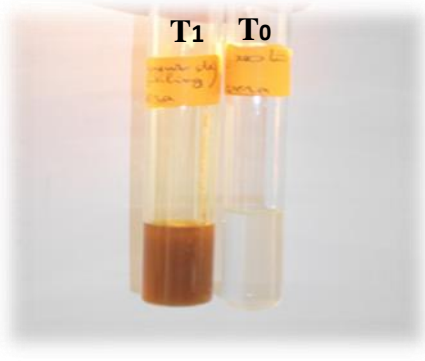
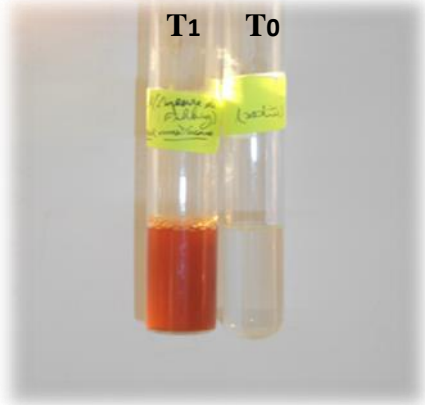
I.1 Métabolites primaires :

I.1.1 Mise en évidence des glucides :

I.1.1.1 Mise en évidence des composés réducteurs :

L'apparition d'une couleur rouge brique avec la liqueur de Fehling indique que le gel des deux espèces *Aloe barbadensis* Miller et *A. americana* L. sont riches en composés réducteurs (**Tableau.6**).

Tableau.6 : Résultats de mise en évidence des composés réducteurs.

Espèce	Extrait et réactif	Gel	Photographié des résultats
<i>Aloebarbadensis</i> <i>Miller</i>	Extrait aqueux +	+ + +	
<i>Agave americana</i> L.	Liqueur du Fehling	+ + +	

Remarque :

_ : test négatif

+ : test faiblement positif

+ + : test faiblement positif

To : Témoin

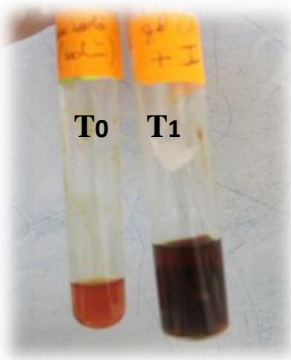
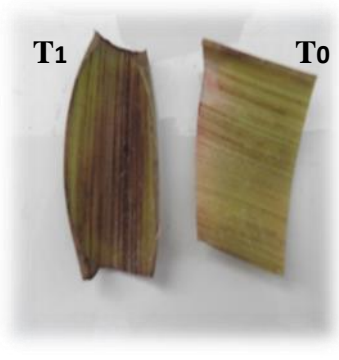


T1 : résultat

+++ : test très positif

I.1.1.2 Mise en évidence de l'amidon :

Les tests phytochimiques ont montré que le gel et l'écorce d'*Aloe barbadensis Miller* sont très abondants en amidon mais avec une quantité plus élevée dans le gel (selon la couleur), et d'autre part il est apparu que le gel d'*Agave americana L.* aussi riche en amidon avec une quantité faible dans l'écorce de ce dernier (Tableau.7).

Tableau.7 : Résultats de mise en évidence d'amidon.

Espèce	Réactif	Gel	Photographie des résultats	Ecorce	Photographie des résultats
<i>Aloe barbadensis Miller</i>	Lugol	+++		++	
<i>Agave americana L.</i>		++		+	

D'après (Li, 2009), les sucres sont répartis beaucoup plus dans le gel que dans l'écorce d'*Aloe barbadensis Miller*, et les sucres totaux constituent ($11,8 \pm 1,02\%$) du PF de la feuille, alors qu'ils constituent $20,6 \pm 0,9\%$ du PF du gel dans l'espèce d'*Aloe barbadensis Miller* tel que le glucose et le mannose (Marc schweizer, 2006), et selon (Hamman, 2008) le niveau de l'amidon dans cet espèce reproduites classique a augmenté de 3,48 à 6,17%.

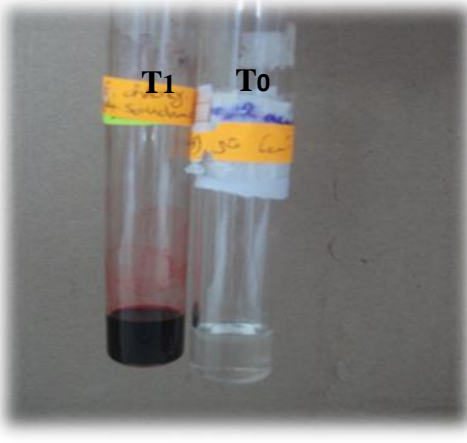
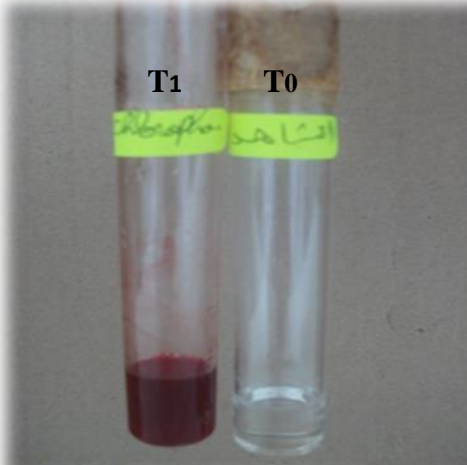
et d'après (Pätzold R et al., 2005) l'*Agave americana L.* contient du fructose et du glucose mais dans une proportion moindre avec une moyenne quantité d'amidon.

Cette recherche confirme nos résultats de la présence des composés glucidique dans les deux espèces étudiées.

I.1.2 Mise en évidence des lipides :

L'apparition de gouttelettes rouge, dans les extraits chloroformiques, des gels des deux espèces étudiés *Aloe barbadensis* Miller et *Agave americana* L. signalent la présence des lipides (**Tableau.8**)

Tableau.8 : Résultats de mise en évidence des lipides.

Espèce	L'extrait et réactif	Gel	Photographié des résultats
<i>Aloebarbadensis</i> <i>Miller</i>	L'extrait chloroformique	+++	
<i>Agave americana</i> <i>L.</i>	+ Soudan III	+++	

D'après (**Zapata, 2013**), l'analyse statistique des lipides d'*Aloe barbadensis* Miller révèle une différence significative entre la teneur en lipides des feuilles et du gel où les lipides constituent 4,5% de PF de la feuille, alors qu'elles ne constituent que 2,9% du poids PF du gel et ce résultat confirme la présence des lipides dans le gel de cette espèce.

Selon (Zapata, 2013), la teneur en lipides dans le gel des aloès varie en fonction des saisons et atteint sa valeur maximale en été.

Et d'après (Mohamed Ali Bouaziz, et al., 2014) l'*Agave americana L.*, contient 2.03% de lipide. Cette valeur confirme notre résultat de la présence des lipides dans le gel de cette espèce.

I.1.3 Détection des acides aminés par CCM :

L'étude analytique sur CCM, des acides aminés de gel des 2 plantes *Aloe barbadensis Miller* et *Agave americana L.* a révélé que le gel de la première espèce est plus riche en acides aminés en nombre et en quantité, avec Phénylalanine, Arginine, Isoleucine, Glycine, Méthionine, Tyrosine, Asparagine, Cystéine, acide aspartique, que *A. americana* qui contient que du tyrosine, et en remarque l'absence d'acide aminé : proline dans le gel d'*Aloe barbadensis Miller* (Tableau.9).

Tableau.9 : Résultats de criblage des acides aminés

Espèce	Extrait et organe	Pro	Asp	Cys	Asn	Tyr	Met	Gly	Ile	Arg	Prg
<i>Aloe barbadensis Miller</i>	Extrait aqueux du gel	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Agave americana L.</i>		-	-	-	-	+	-	-	-	-	-

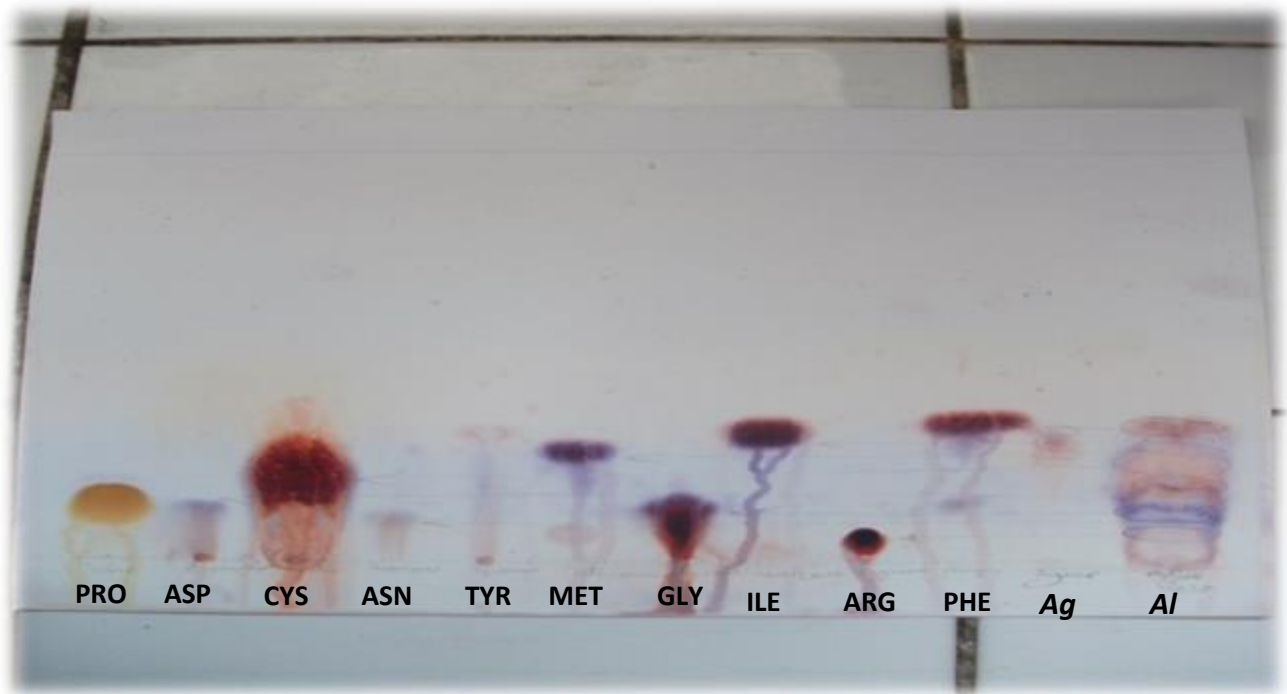


Figure. 55 : CCM des acides aminés du gel d'*Aloe barbadensis Miller* et *Agave americana L.*

Ces résultats d'*Aloe barbadensis Miller* confirment les recherches du (Marc schwiezer, 2006) qui a trouvé les mêmes acides aminés mais avec la présence de la proline, cette petite différence pourrait être due aux conditions climatiques, au temps de la récolte.

I.2 Métabolites secondaires :

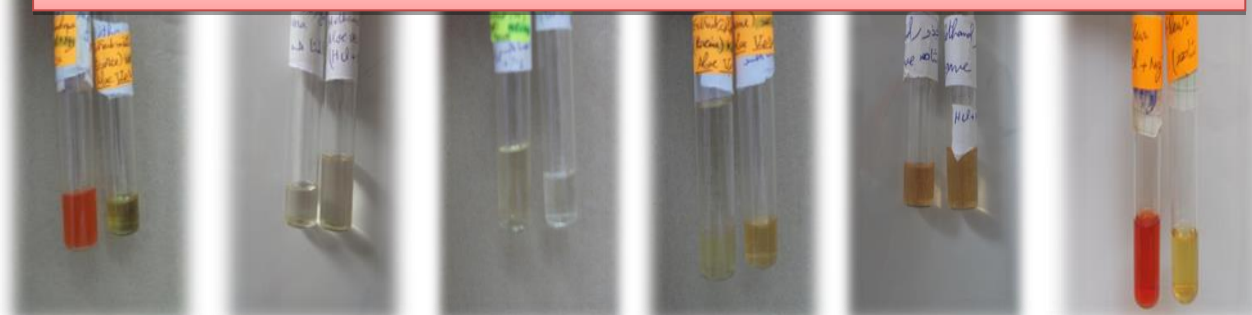
I.2.1 Criblage des Flavonoïdes :

Les tests phytochimiques ont élucidé que l'écorce, racine, et gousse de *l'Agave americana L.*, ainsi que l'écorce et les fleurs d'*Aloe barbadensis Miller* sont riches en flavonoïdes. Avec une faible quantité dans la tige (Al) et racines (Ag) de (tableau.10)

Tableau.10: Résultats de criblage des flavonoïdes.

Espèce	Extrait et réactif	Ecorce	Gel	Tige	Racine	Hampe florale	Fleurs
<i>Aloe barbadensis</i> Miller	Test : Extrait méthanolique	+++	-	-	+	-	+++
<i>Agave americana</i> L.	+ HCl Cc. et Mg	+++	-	+	+++	+++	+++

Aloe barbadensis Miller



Agave americana L.

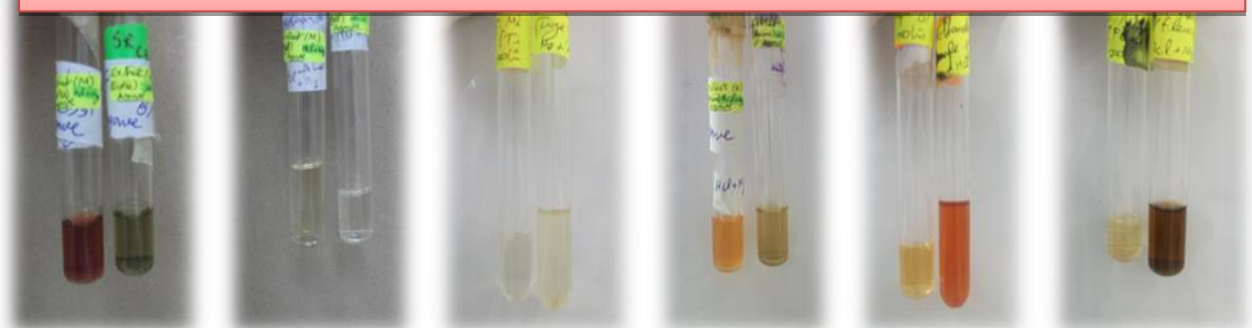


Figure.56 : Photographie de criblage des Flavonoïdes

Selon (Mustafa, 2013), la concentration en flavonoïdes dans les feuilles d'*Aloe barbadensis* Miller est égale à $0,21 \pm 0,013$ % du PF

La valeur obtenue concernant la concentration des flavonoïdes dans les feuilles est largement inférieure à celles trouvées par (Cardoso, 2010), en étudiant les feuilles, il a trouvé que la concentration des flavonoïdes dans celles-ci varie entre $8 \pm 2 \%$ et $14 \pm 3 \%$ du PF et selon les couleurs obtenues dans la (Figure.56) il est apparu que l'écorce d'*Aloe barbadensis Miller* très riche en flavonoides.

I.2.2 Criblage d'Anthraquinones :

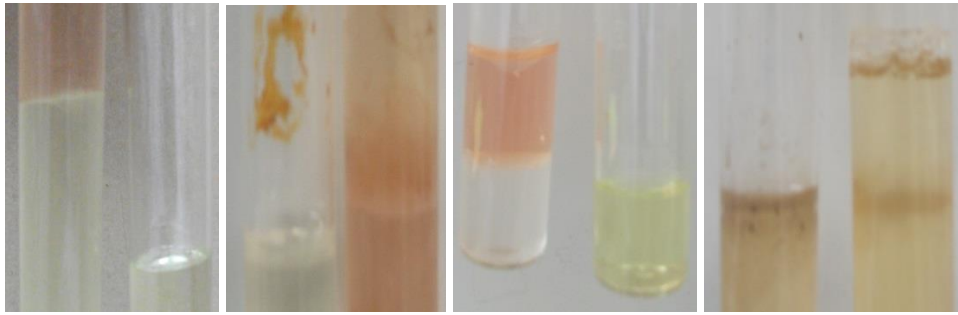
Le reactif KOH utilisé pour la détection des Anthraquinones a démontré que toutes les organes d'*Aloe barbadensis Miller* sont très abondant en anthraquinones sauf la hampe florale, et ont été trouvées aussi dans les l'écorce, tige, racine et les gousses d' et *Agave americana L.* (Tableau.11)

Tableau.11 : Résultats de criblage des Anthraquinones

Espèce	Extrait et réactif	Ecorce	Gel	Tige	Racine	Hampe florale	fleurs
<i>Aloe barbadensis Miller</i>	Extrait Chloroformique	+++	+++	+	++	-	+++
<i>Agave americana L.</i>	+ KOH	++	-	++	+++	-	+

Selon (Mustafa, 2013), les anthraquinones qui sont présentés dans l'*Aloe barbadensis Miller* sont : aloémodine, acide aloéique, aloïne, anthracine, anthranol, barbaloïne, acide chrysophanique, ester d'acide cinnamonic, isobarbaloïne, et resistannol.



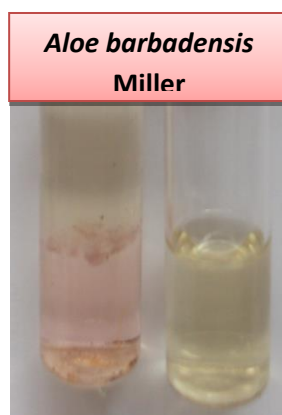


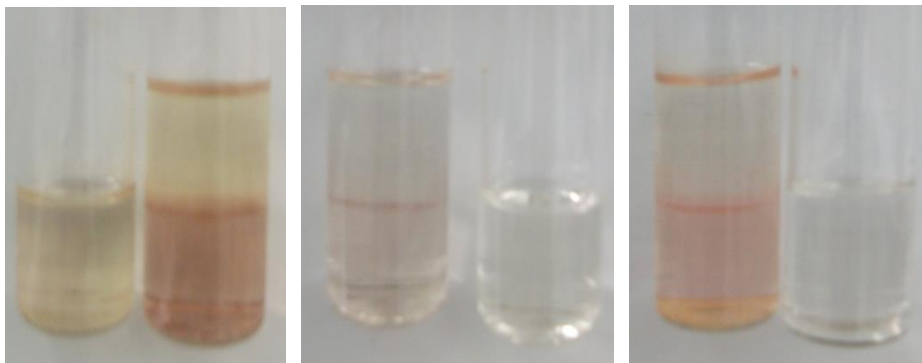
I.2.3 Criblage des Quinones :

Le criblage phytochimique des Quinones a montré que les tiges et gousses d'*Agave americana L.* contiennent des quantités considérables en Quinones. Et la hampe florale, tiges et fleurs *A.barbadensis Miller* sont pourvu de faibles quantités (**Tableau.12**)

Tableau.12 : Résultats de criblage des Quinones

Espèce	Extrait et réactif	Ecorce	Gel	Tige	Racine	Hampe florale	Fleurs(AI) Gousse(Ag)
<i>Aloe barbadensis Miller</i>	Extrait étherique + NaOH	-	-	+	-	-	+
<i>Agave americana L.</i>		-	-	++	-	+	++





I.2.4 Criblage de d'Anthocyanes :

Le criblage phytochimique nous a montré que l'écorce et racine d'*Agave americana L.* et le gel d'*Aloe barbadensis Miller* sont très abondants en Anthocyanes.

Les racines de *Aloe barbadensis Miller* et la hampe florale d'*Agave americana L.* sont moyennement riche en composés Anthocyanidols, Suivie de l'écorce et les fleurs de *Aloe barbadensis Miller* et les tiges d'*Agave americana L.* qui contiennent des quantités moindres (Tableau.13)

Tableau.13 : Résultats de criblage des Anthocyanes

Espèce	Extrait et réactif	Ecorce	Gel	Tige	Racine	Hampe floral	Fleurs(AI) Gousse(Ag)
<i>Aloe barbadensis Miller</i>	Extrait méthanolique	+	+++	-	++	-	+
<i>Agave americana L.</i>	+ HCl conc. (incubation 30mn)	+++	-	+	+++	++	-

Selon (Mustapha, 2013), la concentration des anthocyanes dans les feuilles est égale à $1,16 \pm 0,09$ % du PF, supérieure à celle trouvée dans le gel égale à $1 \pm 0,2$ 100 % , ce qui confirme la présence de ces métabolites dans l'écorce et le gel d'*Aloe barbadensis Miller*.

I.2.5 Criblage des Tanins :

Selon les réactifs utilisés pour la détection des tanins il apparait que l'écorce, hampe florale et gousses d'*Agave americana L.*, sont très riche en tanins catéchique (hampe florale et ecorce) et en tanins gallique (gousses).

Tandis que la plante *Aloe barbadensis* Miller est moins riche que *l'Agave americana* L.,est présente des tanins catéchique, à part les racines et les fleurs de cette espèce contiennent de faibles quantités (Tableau.14).

Tableau.14 : Résultats de criblage des Tanins

Espèce	Extrait	Réactif	Ecorce	Gel	Tige	Racine	Hampe floral	Fleure(AI) Gousse(Ag)
<i>Aloe barbadensis</i> <i>Miller</i>	Extrait méthanolique	Fe Cl ₃	-	-	-	+	-	+
		Gélatine	-	-	-	+++	-	+++
		Gélatine+ Salé	-	-	-	+++	-	+
<i>Agave americana</i> <i>L.</i>		Fe Cl ₃	+++	-	-	+++	+++	++
		Gélatine	+++	-	-	+++	+++	++
		Gélatine+ salé	++	-	-	+++	+++	+++

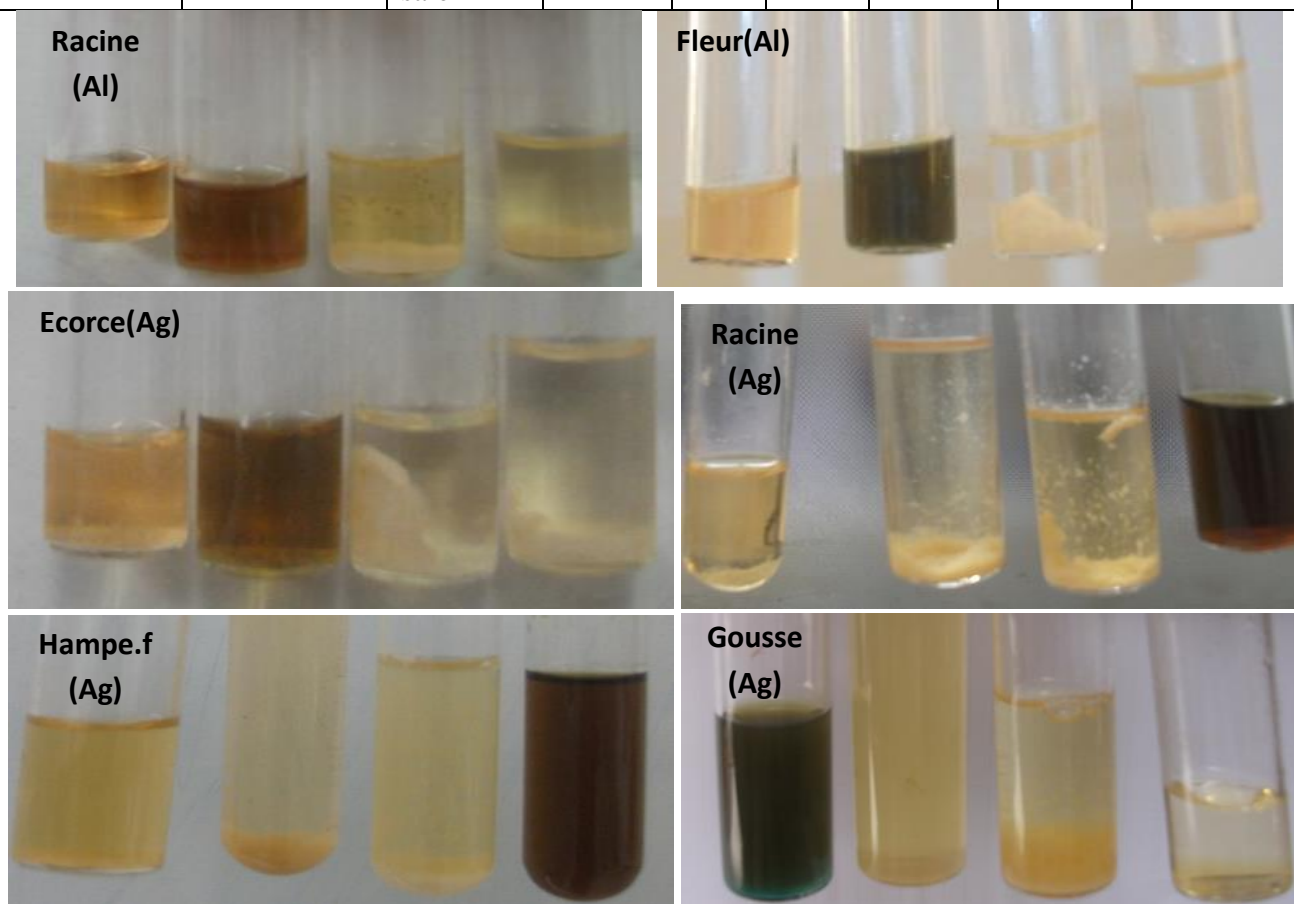


Figure.57 : les résultats du criblage des tanins

Selon (Mustapha, 2013), la teneur des feuilles en tanins est égale à $0,39 \pm 0,1$ % du PF, à celle trouvée dans et la concentration des tanins dans le gel égale à $0,36 \pm 0,12$ % du PF, ces résultats sont très faible ce qui confirme le résultat négative des anthocyanes dans l'écorce et le gel d'*Aloe barbadensis Miller*.

I.2.6 Criblage des Alcaloïdes :

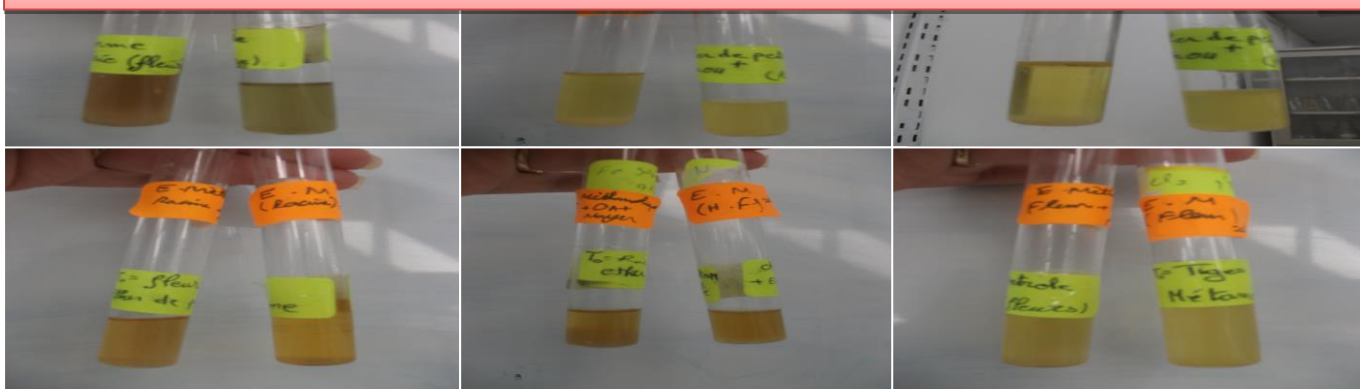
La plante *Aloe barbadensis Miller* paraît plus riche en alcaloïdes surtout les fleurs, l'écorce, tige et la hampe florale qui contiennent des quantités plus au moins abondante.

L'*Agave americana L.* est plus pauvre en alcaloïdes a priori, les gousses qui sont riche suivie de l'écorce qui contient de faible quantité (Tableau.15)

Tableau 15 : Résultats de criblage des Alcaloïdes.

Espèce	Extraits et réactifs	Ecorce	Gel	Tige	Racine	Hampe florale	Fleurs
<i>Aloe barbadensis Miller</i>	Extrait méthanolique + Réactif Mayer	++	-	++	-	++	+++
<i>Agave americana L.</i>	Réactif Mayer	+	-	-	-	-	++

Aloe barbadensis Miller



Agave americana L.

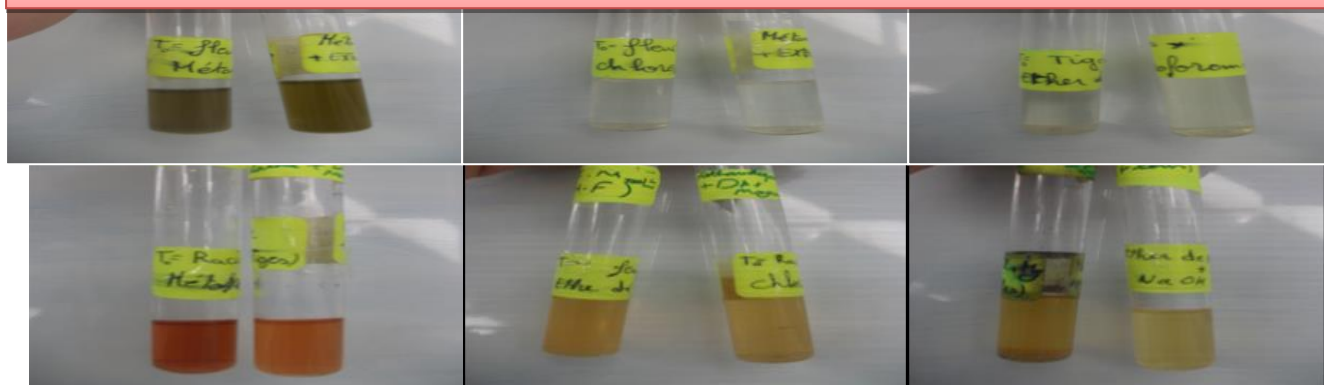


Figure.57 : les résultats du criblage des alcaloïdes

I.2.7 Criblage des saponosides :

Les tests phytochimiques de détection des saponosides par calcul de l'indice de mousse ont élucidé la présence de ces métabolites dans les organes suivants écorce, tige, racine, et fleurs de

Agave americana L. et dans le gel et racine *Aloe barbadensis Miller* avec des quantités considérables (Tableau.16)

Tableau.16 : Résultats de criblage des saponosides.

Espèce	Test	Ecorce	Gel	Tige	Racine	Hampe florale	Fleur(AI) Gousse(Ag)
<i>Aloe barbadensis</i>	Test1 : Matériel végétal + Eau distillé	-	+++	-	++	-	-
	Test02 : Matériel végétale + MeOH	-	-	-	++	-	-
	Test03 : Matériel végétale+CHCl ₃	-	-	-	-	-	-

<i>Agave americana</i> L.	TEST01 : Matériel végétale + eau distillé	+++	-	+++	+++	+	+++
	Test02 : Matériel végétale + MeOH	-	-	-	-	-	-
	Test03 : Matériel végétale+ CHCl3	-	-	-	-	-	-

Selon (Ikbal, 2012), le gel d'*Aloe barbadensis* Miller considéré comme une source de saponines ce qui confirme notre résultats.

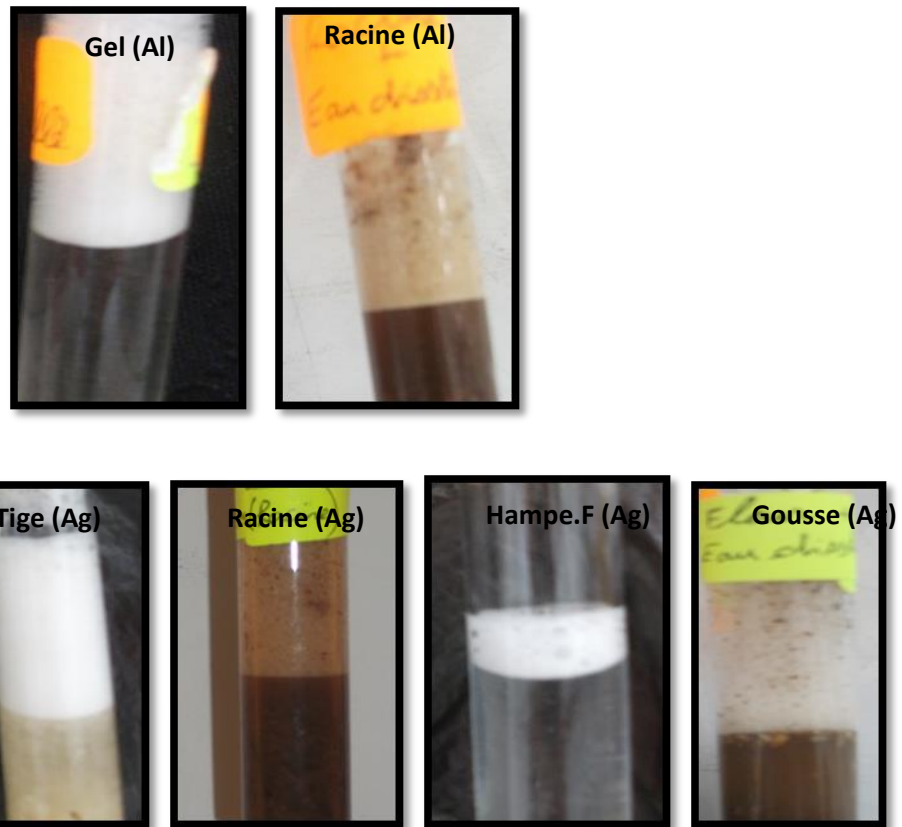


Figure.58 : Photographies des résultats de saponosides dans l'*Aloe barbadensis* Miller et *Agave americana* L.

I.2.8 Criblage des hétérosides cyanogénétiques :

Le reactif micro-sodium, utilisé pour la détection, des Hétérosides cyanogénétiques a démontré l'absence totale, de ce produits dans tous les organes des espèces étudiées, *Aloe barbadensis* Miller et *Agave americana* L. (**Tableau.17**).

Tableau.17 : Résultats de criblage des hétérosides cyanogénétiques.

Espèce	Extrait et réactif	Ecorce	Gel	Tige	Racine	Hampe florale	Fleur
<i>Aloe barbadensis</i> <i>Miller</i>	Extrait chloroformique + Na ₂ CO ₃	—	—	—	—	—	—
<i>Agave americana</i> L.		—	—	—	—	—	—

I.2.9 Criblage des triterpènes et stéroïdes :

Le criblage phytochimique des stérols, a montré que tous les organes des deux espèces étudiés sont riches en stérols. Les tiges, hampe florale et les fleurs d'*Aloe barbadensis* Miller sont moyennement riche en triterpènes, pour les organes, écorce, gel, et racine de cette même espèce contiennent de faibles quantités. La majorité des organes de l'espèce, *Agave americana* L. contiennent des triterpènes avec quantités différentes sauf pour la hampe florale, qui riche en stérides.

Les 2 espèces *Aloe barbadensis* Miller *Agave americana* sont dépourvues de stéroïdes lactoniques.

Tableau.18 : Résultats de criblage des triterpènes et stéroïdes

Espèce	N° = tubes	Reactifs	Ecorce	Gel	Tige	Racine	Hampe florale	Fleure(Al) Gousse(Ag)
<i>Aloe barbadensis</i> <i>Miller</i>	Tube1	H ₂ SO ₄ / CONC.	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	Tube2	5 gouttes Na ₂ So ₄ + H ₂ SO ₄	Rouge	Rouge	Rouge	Rouge	Rouge	Rouge
	Tube3	a. picrique	-	-	-	-	-	-
<i>Agave americana</i> <i>L.</i>	Tube1	H ₂ SO ₄ / CONC.	+++	+	+++	+++	+++	+++
	Tube2	5 gouttes Na ₂ So ₄	Rouge	Rouge	Rouge	Rouge	Bleu	Rouge
	Tube3	a. picrique	-	-	-	-	-	-

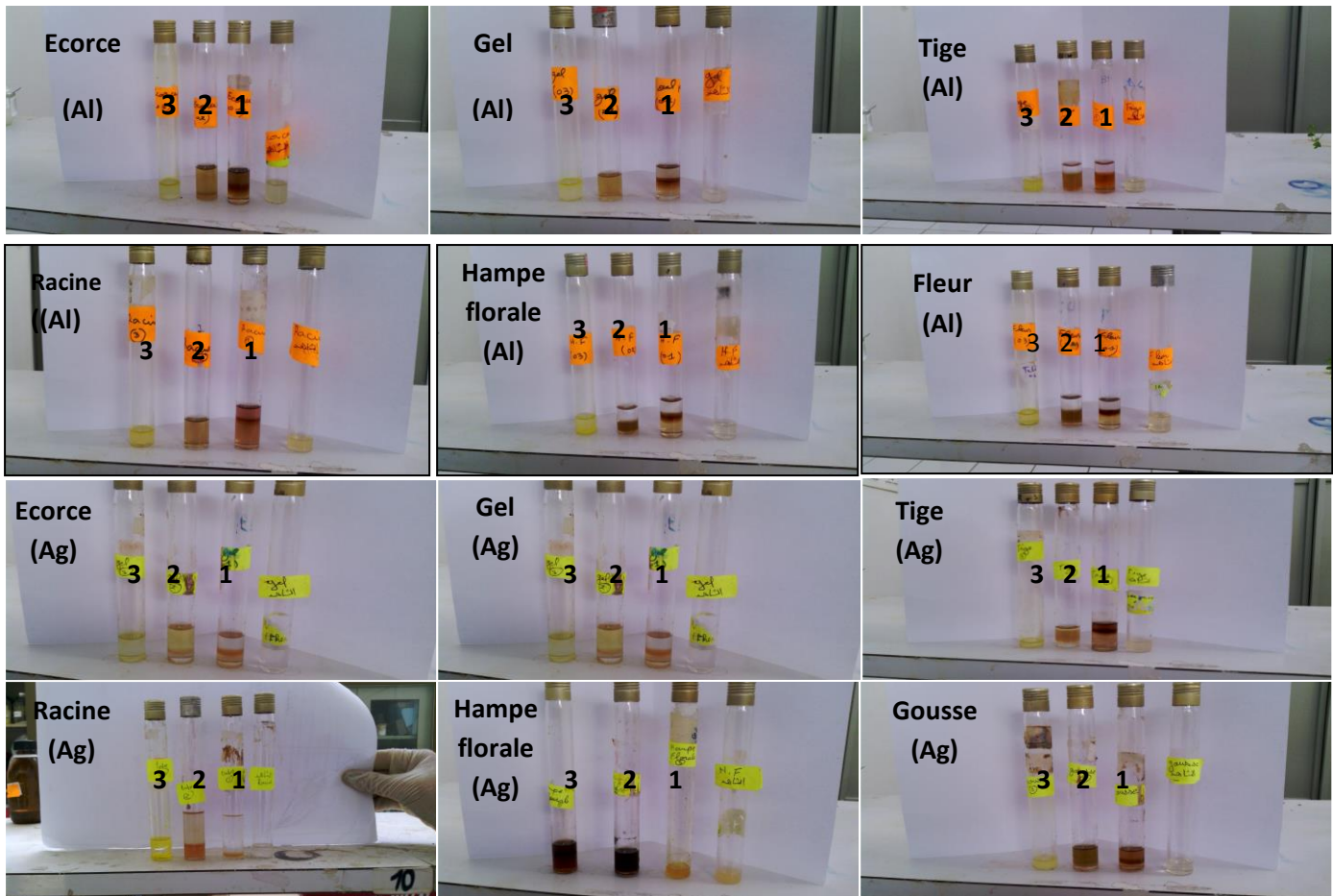


Figure.59 : Photos des résultats des stérols, stéroïdes et tritérpène d'*Aloe barbadensis* Miller et *Agave americana* L.

I.2.10 Criblage des coumarines :

Le criblage des coumarines par la méthode du CCM avec deux méthodes a révélé la présence de ces métabolites dans les organes : écorce, racine, hampe florale, fleurs, dans l'EEAB.

Et pour l'*Agave americana* L. les coumarines se sont trouvés dans tous les organes sauf les gousses.















Tableau.19 : CCM des coumarines des organes d'*Aloe barbadensis* Miller et *Agave americana* L.

		UV 366 nm	
Espèce	Photographie du résultat 1	Photographie du résultat 2	
<i>Aloe barbadensis</i> <i>Miller</i>			
<i>Agave americana</i> <i>L.</i>			

I.3 Criblage des sels minéraux :

Le tableau récent illustre que le gel de les deux plantes étudiées *Aloe barbadensis* Miller et *Agave americana* L. constitué de sel minéraux qui sont : Potassium, Chlorure, Calcium Nitrate, Cuivre, Sulfate sauf le Fer il est présente à une faible quantité dans le gel d'*Aloe barbadensis* Miller et absent dans le gel d'*Agave americana* L.

Tableau.20 : Résultats du test de chimique des sels minéraux

		Photographie du résultat					
Espèce	Potassium	Chlorure	Calcium	Nitrate	Fer	Cuivre	Sulfate
Al							
Ag							

Selon (**Robson et al. 1982**), le Sodium, potassium, calcium sont les plus dominant minéraux détecté dans le gel d'*Aloe barbadensis Miller*.

I.4 la détermination du PH :

Le pH est l'un des trois paramètres utilisés habituellement pour l'évaluation et l'identification des composés commerciaux des aloès.

Selon (**tableau 20**) on constate que le pH du gel d'*Aloe barbadensis Miller* (pH=4,91)

La valeur obtenue du pH de gel étudié, est largement inférieure à celle obtenue par (**O'Brien, 2005**), qui a travaillé sur la même espèce (pH= 6,8), cette différence pourrait être due au temps et à la saison de la récolte. Selon le même auteur.

Et d'un autre cotée la valeur du PH du gel d'*Agave americana L.*, c'est (PH= 6,37), cet valeur il est rapproché aussi a le PH qui est mesuré par (**Mohamed Ali et al., 2014**), qui est entre (5.53-5.98).

A partir de ces deux résultats il apparut que le PH du gel d'*Aloe barbadensis Miller* il est très proche du PH de la peau (PH=5), donc nous pouvons appliquer ce gel sur la peau facilement pour bénéfice a ces

différentes vertus dermatologique, et il est préférable de ne pas appliquer le gel d'*Agave americana L.*, sur la peau grâce à leur PH qui est non-compatible avec la peau.

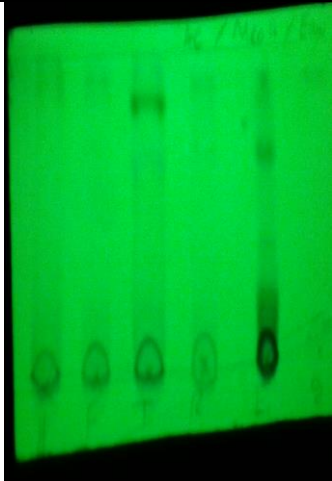
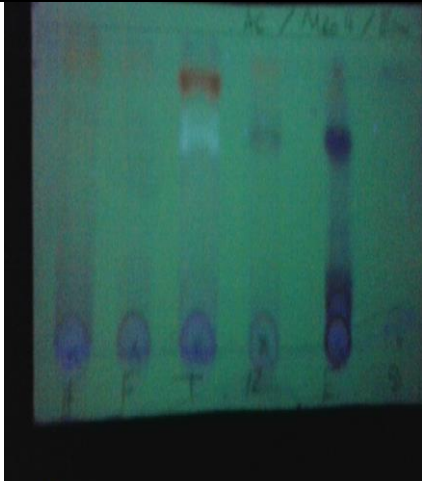
Tableau.21 : La différente valeur du PH de gel d'*Aloe barbadensis Miller* et *Agave americana L.*


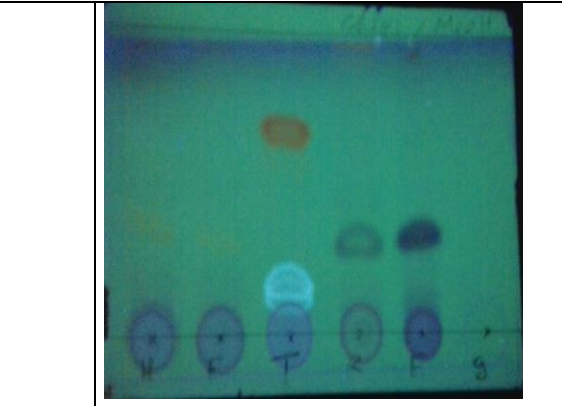
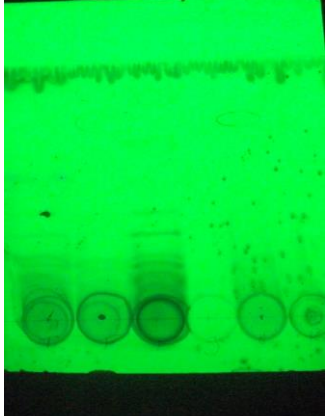
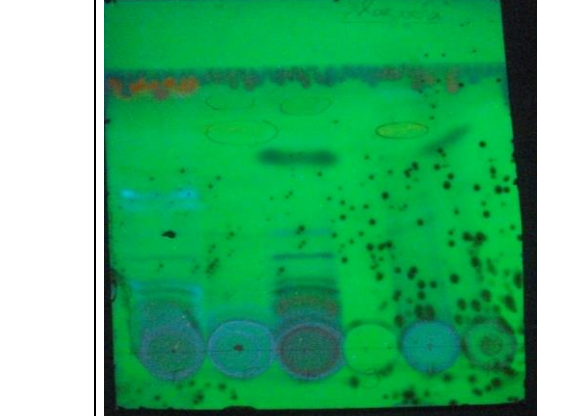
Espèce / Gel	Bande du PH/Valeur	PH mètre/Valeur
<i>Aloe barbadensis Miller</i>	5	4,91
<i>Agave americana L.</i>	5	6,37

I.5 Chromathographie sur couche mince :

I.5.1 CCM *Aloe barbadensis Miller* :

Tableau.22 : CCM d'EMAB et révélation avec deux longueurs d'onde UV 254, UV 366

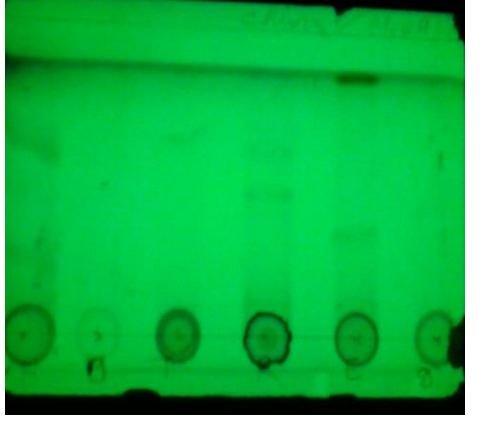
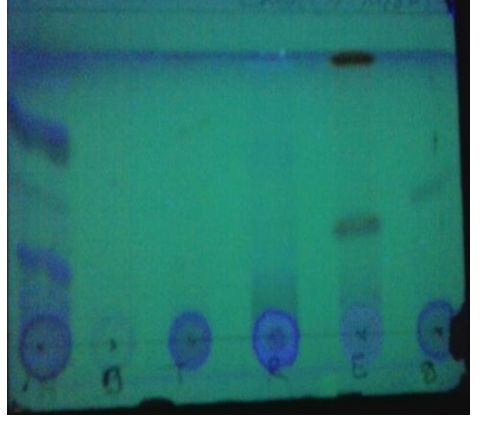
Systeme solvant	Observation par UV 254	Observation par UV 366
<p>S₁ :</p> <p>Acétate /MeoH/eau 10/1/0,5</p>		

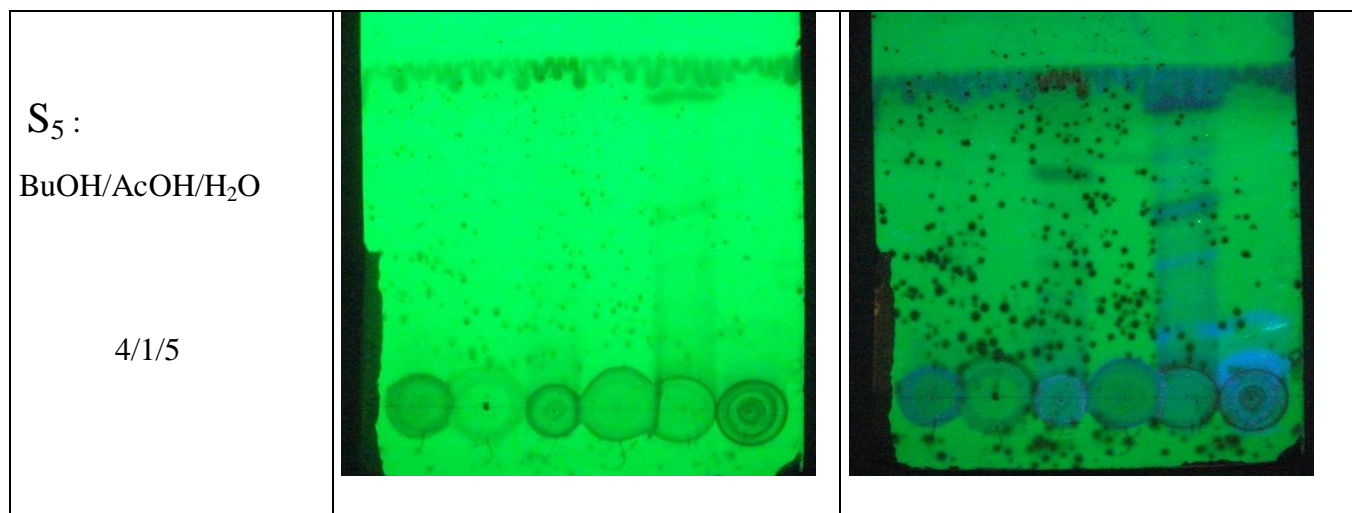
<p>S₄: chloroforme/MeOH 9/1</p>		
<p>S₅: BuOH/AcOH/H₂O 4/1/5</p>		

L'étude analytique des extraits méthanolique par CCM d'EMAB, en utilisant les systèmes suivants (sur photographies) visualisée avec UV : 254 et 366 nm, (Figure.), montre que presque toutes les organes de l'*Aloe barbadensis* Miller sont très riche en métabolites secondaire surtout flavonoïdes et terpènes ce qui confirme les résultats obtenue par les criblages précédent.

I.5.2 CCM d'*Agave americana* L. :

Tableau.23 : CCM d'EMAA et révélation avec deux longueurs d'onde UV 254, UV 366

Système solvant	Observation par UV 254	Observation par UV 366
<p>S₄: Chloroforme/MeOH 9/1</p>		



L'étude analytique des extraits méthanolique par CCM d'EMAA, en utilisant les systèmes suivants (sur photographies) visualisée avec UV : 254 et 366 nm, (Figure.), montre que presque toutes les organes de l'*Agave americana L.*, sont très riche en métabolites secondaire surtout flavonoïdes et terpènes et caroténoïdes ce qui confirme les résultats obtenue par les criblages précédent.

II. Dosage des polyphénols :

Les taux de polyphénols existant dans les extraits méthanolique (EMAB) et (EMAA) calculés sont présentés dans le (tableau.), ainsi que ce de la référence standard.

Il apparait que l'EMAA (8,64±3,39) est plus riche que l'EMAB en polyphénols (6,44± 1,98). Comparativement à la référence standard, nous pouvons conclure que nos deux extraits sont moins riches en polyphénols.

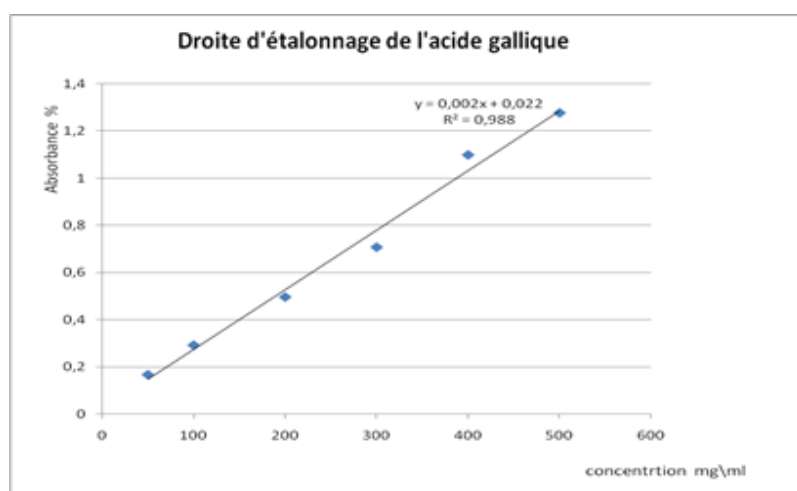


Figure.60 : Droite d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux

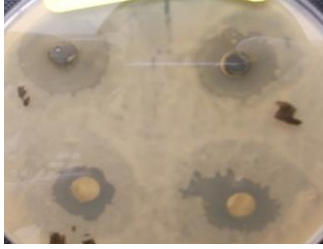

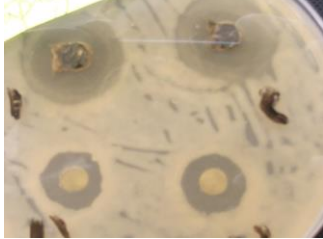

Tableau.24 : Taux de polyphénols existant dans les extraits EMAB et EMAA.

Echantillon dosé	Taux de polyphénols (mg EAG ¹ MS)
EMAB	6,44± 1,98
EMAA	8,64± 3,39
* Référence standard	30,70

III. Les activités biologiques :

III.1 Activité antibactérienne de l'extrait méthanolique :

Tableau.25 : Activité antibactérienne d'extrait d'*Aloe barbadensis Miller*



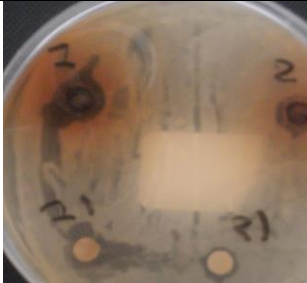



		Diamètre (mm)			
Organe Bactérie	Ecorce	Gel	Photographie d'écorce	Photographie de gel	
	<i>Escherichia coli</i>	P ₁ =15 mm D ₁ =12 mm P ₂ =16 mm D ₂ = 13 mm			
<i>Bacillus cereus</i>	P ₁ =24 mm D ₁ = 15 mm p ₂ = 23mm D ₂ = 17 mm	P ₁ =0mm D ₁ =2mm P ₂ =8 mm D ₂ =7 mm			
<i>Staphylococcus aureus</i>	P ₁ =25 mm D ₁ =16 mm P ₂ =25 mm D ₂ =15 mm	P ₁ = 23mm D ₁ = 9 mm P ₂ = 22mm D ₂ = 6 mm			

Les tests préliminaires de l'activité

antibactériennes test par la méthode de la diffusion sur disque et puits en montrant que les extraits méthanoliques de l'écorce et le gel de la plante d'Aloe barbadensis Miller ont un effet antibactérien très puissant sur la croissance d'E.Coli et S.aureus et B.cereus sauf une exception du gel sur la souche B.cereus.

Tableau.26: Activité antibactérienne d'extrait d'Agave americana L.

Diamètre(mm)

Organe Bactérie	Ecorce	Gel	Photographie d'écorce	Photographie de gel
<i>Escherichia coli</i>	P ₁ =10mm	P ₁ =5 mm		
	D ₁ =13mm	D ₁ =5 mm		
	P ₂ =11mm	P ₂ =5 mm		
	D ₂ =11mm	D ₂ =5 mm		
<i>Bacillus cereus</i>	P ₁ =12mm	P ₁ =5 mm		
	D ₁ =10mm	D ₁ =6 mm		
	p ₂ =9 mm	P ₂ =5 mm		
	D ₂ =6 mm	D ₂ =6 mm		
<i>Staphylococcus aureus</i>	P ₁ =25mm	P ₁ =26mm		
	D ₁ =10mm	D ₁ =13mm		
	p ₂ =25mm	P ₂ =23mm		
	D ₂ =11mm	D ₂ =12mm		

L'extrait méthanolique de l'écorce et gel d'*Agave americana* L. a un effet d'inhibition très puissant sur les souches *S.aureus* et *B.cereus* et *E.coli* respectivement sauf une exception du gel sur les souches *B.cereus* et *E.coli*.

III.2 Activité antioxydante :

Tableau.27 : Le pourcentage d'inhibition d'EMAB et EMAA

Extrait (µg/ml)	50	100	200	500
% d'inhibition EMAB (Ecorce)	88,41%	73,11%	56,58%	46,62%
% d'inhibition EMAB (Gel)	84,49%	63,34%	46,42%	40,78%
% d'inhibition EMAA (Ecorce)	77,54%	32,82%	26,48%	23,76%
% d'inhibition EMAA (Gel)	12,68%	10,07%	10,27%	8,30%

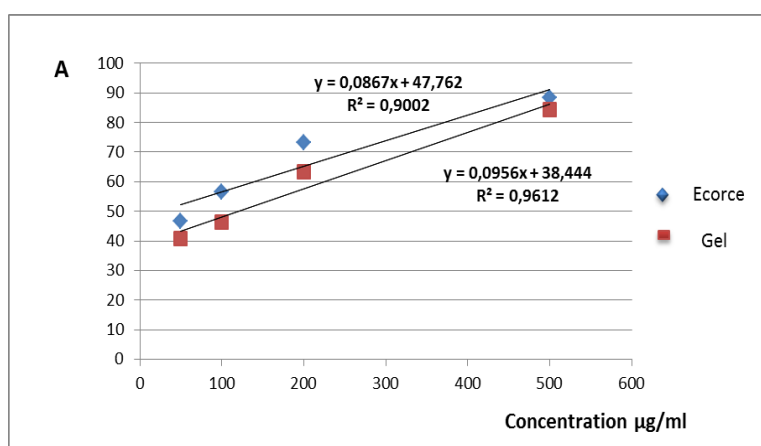


Figure.61 : Pourcentage d'inhibition du radical libre en fonction des concentrations des extraits d'écorce et gel d'*Aloe barbadensis* Miller.

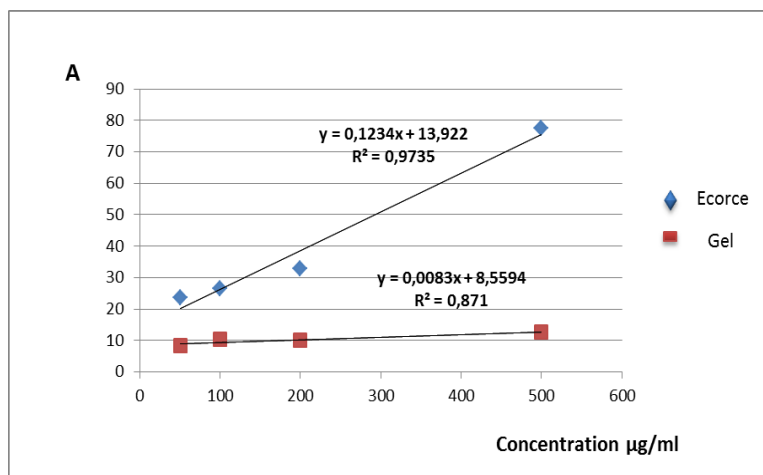


Figure.62 : Pourcentage d'inhibition du radicale libre en fonction des concentrations des extraits d'écorce et gel d'*Agave americana L.*

Tableau.28 : Concentration inhibition 50% (CI)

Extrait	CI50
EMAB (Ecorce)	25,813
EMAB (Gel)	120,878
EMAA (Ecorce)	292,36
EMAA (Gel)	4992,891
Quercetine	12
Vitamine E	25

Ces résultats montrent un meilleur effet antioxydant de l'EMAB (Ecorce) , car environ 88,41 % du DPPH sont inhibés à une concentration de 500 µg/ml et que le gel de la même espèce a aussi un effet antioxydant fort puisque environ 84,49 % DPPH sont piégé par la même concentration, et Comparativement à la vitamine E et à la quercétine, les valeurs de la CI50 (Ecorce) et le (gel) de EMAB sont de : (25,813 µg/ml) et (120,878 µg/ml) respectivement, ces résultats permet de conclure que cet extrait possède une assez bonne activité antioxydante. Si on compare, les valeurs des polyphénols totaux des extraits EMAB, il apparaît que celui qui est moins riche en polyphénols est le plus antioxydant. Ceci peut être expliqué par la présence d'autres métabolites dans l'extrait qui augmentent son activité antioxydante comme les anthraquinones et les tanins et aussi grâce aux sels minéraux.

Et pour l'*Agave americana L.* la valeur de CI50 pour l'EMAA (Ecorce) est de (292,36 µg/ml), cette valeur est très supérieur au CI50 d'Ecorce et gel d'EMAB.

D'autre part (Mustapha et *al.*, 2014), a montré que la concentration des composés phénoliques totaux dans les feuilles d'Aloe barbadensis Miller est égale à $8,45 \pm 0,73$ mg Eq AG/100 g du PF de la feuille, ces résultats sont très proche a ceux que nous avons obtenue.

III.3 Activité antifongique :

L' extrait méthanolique de l' écorce de l' espèce *A. barbadensis Miller* a un effet d'inhibition puissant sur la croissance du champignon *Rhizopus sp*, avec des zones d' inhibition de diamètre supérieur à 15 mm (Tableau.29)

Tableau.29 : l'Activité fongicide d'EMAB


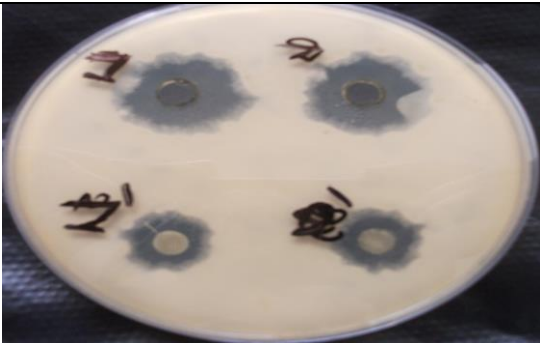
Organe	Ecorce	Photographie du résultat
Champignon		
<i>Rhizopus sp.</i>	P ₁ = 27 mm	
	D ₁ = 15 mm	
	P ₂ = 28 mm	
	D ₂ = 15 mm	

Tableau.30 : l'Activité fongicide d'EMAA

	Diamètre (mm)	
Organe champignon	Ecorce	Photographie du résultat
<i>Rhizopus sp.</i>	P ₁ = 25 mm	
	D ₁ = 10mm	
	P ₂ = 25 mm	
	D ₂ = 11 mm	

Comparativement , a l' effet anti fongique , de l' écorce de l' espèce Aloe barbendensis Miller sur Rhizopus sp. Agave americana L., a un effet inhibiteur supérieur avec des diamètres des zones d'inhibition très élevé.

Conclusion

L'*Aloe barbadensis* Miller et *Agave americana* L. est l'une des plantes médicinales les plus réputées aujourd'hui, cette réputation est issue de ses caractéristiques thérapeutiques, alimentaires et cosmétiques, à cause d'une multitude de principes actifs qu'elles contiennent.

Le but de ce travail est de valoriser l'une des plantes méconnues en Algérie *Agave americana* L., et *Aloe barbadensis* Miller, et d'exploiter ses vertus thérapeutiques et alimentaires. Cette dernière englobe les caractéristiques thérapeutiques et nutritionnelles des différents organes en métabolites et quelques molécules bioactifs et possédant des activités biologiques importantes.

Au terme de ce travail concernant la caractérisation de métabolites secondaires et activité biologique des espèces nous pouvons dire que :

Les deux plantes sont riches en Anthraquinones, Flavonoïdes, Tanins, Saponosides, Alcaloïdes et Stérols. Nos travaux de recherche ont élucidé que ces 2 espèces sont riches en sucres réducteurs, amidon, acides aminés, lipides, et sels minéraux (Cl, Ca, Fe, K ,.....)

Le dosage des polyphénols totaux par la méthode colorimétrique, de l'étalonnage acide gallique a montré que *A. barbadensis* et *Agave americana* sont pourvu de composés phénoliques qui est : $(6,44 \pm 1,98)$ d'EMAB, et $(8,64 \pm 3,39)$ d'EMAA.

Concernant l'activité biologique effectué sur les extraits hydrométhanoliques nous pouvons la résumer comme suit :

L'inhibition de la croissance des souches *Bacillus* et *Staphylococcus sp* par l'effet de l'extrait EMAB est excellente.

Les extraits de EMAB (écorce, gel) et EMAA (écorce) ont montré un bon pouvoir anti-oxydant qui est, CI50 (Ecorce) et le (gel) de EMAB sont de : $(25,813 \mu\text{g/ml})$ et $(120,878 \mu\text{g/ml})$ respectivement, et pour l'EMAA sont (Ecorce) 292,36 et (Gel) 4992,891.

Afin de mieux commencer à donner plus d'importance à ces deux plantes miracle et de bénéficier au maximum de sa valeur nutritionnelle et vertus thérapeutiques, il serait souhaitable d'approfondir cette étude par d'autres recherches, en exploitant d'autres recherche .de ces deux plantes, en essayant de fabriquer d'autres produits alimentaires à effets médicinaux à base de celle-ci, et en étudiant d'autres propriétés (antidiabétiques, antiinflammatoires, anti-tumorales,...etc).

Summary :

The research of active ingredients patterned, our choice was made on the species: *Aloe barbadensis* Miller, harvested Zarzis (Tunisia) and *Agave americana* L., the region of Constantine (Algeria), has

elucidated the presence of metabolites primary and as flavonoids, tannins, saponins, anthraquinones, sterols, and alkaloids.

The determination of polyphenols in methanol extracts was used to assess a small amount of polyphenols in both species.

Evaluation of the antioxidant activity of 2 indicates that the plant has two species are excellent antioxidants.

Evaluation of the antibacterial activity of bark and gel of *Aloe barbadensis* Miller showed excellent inhibition on the growth of *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* strains underwent a strong inhibition due to the effect of the bark *Agave americana* L.

The extract of the bark of *Agave americana* L., strongly inhibited the growth of *Rhizopus sp.*

Keywords: *Aloe barbadensis* Miller, *Agave americana* L., phenolics, flavonoids, antioxidant, antimicrobial power antifonqique power.

المخلص :

من اجل البحث عن الجزيئات الفعالة النموذجية لقد وقع الاختيار على نباتي الصبر الحقيقي الذي تم جمعه من جرجيس (تونس) و نبات اغافا اميريكانا من قسنطينة,مكننا م ايجاد كل مركبات الايض الأولي في كلا النباتين و كذلك من ايجاد كل من مركبات الايض الثانوي و هي الفلافونويدات و التانينات و الصابونينات و الانتراكينونات والستيرولات و القلويدات.

ان تقدير المركبات الفينولية في المستخلصات الميتانولية سمح لنا بتحديد كميات ضعيفة من هذه المركبات في النباتين.

كما ان المستخلصات الميتانولية لكلا النباتين اظهرت فعالية كبيرة مضادة للأكسدة .

تمتاز المستخلصات الميتانولية بنشاط ضد بكتيري للبكتيريا *Staphylococcus sp, Bacillus sp, Escherichia coli* .

اظهر مستخلص قشرة نبات اغافا اميريكي نشاط كبير ضد نمو الفطر *rhizopus sp* .

الكلمات المفتاحية:

الصبر الحقيقي , اغافا اميريكي , المركبات الفينولية , الفلافونويدات , النشاط مضادة للأكسدة , النشاط المضاد للبكتيريا , النشاط المضاد للفطريات.

Références

-Aikhenbaum (Jaen) & Daszkiewicz (piotr) : Encyclopédie de santé, éditions Godefroy, Chantilly (1998).

-Benz (Dr Emil-August): Aloe Vera, eine Wunderpflanze ,sonneverlag ,leipzig(1931).

-BLOOMFIELD (F.): Miracle plant Aloe Vera, Century Publishing ,USA (1985).

- Brandt (Max) :Aloe vera :Die Pflanze des Könige ,Berige (1937).
- Coats (Bill C.) &Spanky (Stephen) :Healing Winner ,Edit .Robert Ahola (1982) .
- Coats (Bill C.) & :The Silent Healer, A modern study of Aloe Vera(1979)
- Coats (Bill C.) &Holland (Richard E.) :Creatures in our care.
- The Veterinary Uses of Aloe Vera,(1985).
- Danhof (Ivan E.) &McAnalley (Bill) : Stabilized Aloe Vera . Effect on human skin cells ,(1983)
- Dehin (Robert) : Le Docteur vert ou Docteur Aloés –Aloe Vera plante médicinale, édition française , Laboratoire Marcel Violet , Paris (1996) .
- Donadineu (Dr Yves) : L'Aloés pour votre santé , Donadineu éd. (1997) .
- James (Robert) : Aloe Vera : nature 's miracle plant ,Alive Pub . Los Angeles (1949).
- Kabuchi (Mitsuko) : Aloe Vera healing Wonder or phantas ? Caledonian press (1986). -Dr Krumm –Heller : Magie der Duftstoffe , Verlag Richard Schikowski, Berlin (1935) .
- Ladorenko (Vladimir) : Aloe Vera and Ayurveda , the science of self hea
- Chemical Composition, Functional Properties, and Effect of Inulin from Tunisian Agave americana L. Leaves on Textural Qualities of Pectin Gel
- Ali (M.I.A.), Shalaby (N.M.M.), Elgamal (M.H.A.), Moussa (A.S.M.)
- Antifungal effects of different plant extracts and their major
- Heggens J, Kucukcelebi A, et al. Beneficial effect of aloe on
- Davis R, Stewart G, et al. Aloe vera and the inflamed
- Helvig El. Managing thermal injuries within WOCN
- Chase MW, Reveal JL, Fay MF. 2009. A subfamilial classification for the expanded asparagalean families Amaryllidaceae, Asparagaceae and Xanthorrhoeaceae. Botanical Journal of the Linnean Society 161: 132–136.
- Berardi RR, DeSimone EM, Newton GD, Oszko MA, Popovich NG, Rollins CJ, Shimp LA, Tietze KJ, éditeurs. Handbook of Nonprescription Drugs: An Interactive Approach to Self-Care, 13e édition. Washington (DC): American Pharmaceutical Association; 2002.
- Bruneton J. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales, 3e édition. Paris (FR): Technique & Documentation; 1999.
- Vogler BK, Ernst E. 1999. Aloe vera: a systematic review of its clinical effectiveness. British Journal of General Practice 49(447):823-828.
- Agavaceae in Flora of North America.

- Suleyman (A.), Agaoglu (S.) - Investigation of an *in vitro* 249-256 (1980).
- Guendo L, "Flore Européenne", Hachette, Paris, 1998, 914-918.
- T. Reynolds, A.C. Dweek, "Aloe vera Leaf Gel: A Review
- J.P. Brown, "A Review of the Genetic Effects of Naturally 4, 851, 22, 4, 959, 214 and 4, 966, 892 (1988).
- G. Mendal, and A. Das, "Characterisation of the
- G. Mendal and A. Das, "Characterisation of the
- A.H. McAnalley, "Identification of Polysaccharides (the
- M.S. Shelton, "Aloe vera, Its Chemical and
- Castillo (S.), Navarro (D.), Zapata (P.J.), Guillen (F.), Valero (D.),
- 63. T.Hirat and T. Suga, "The efficiency of aloe plants, 76–82.
- Agavaceae in L. Watson and M.J. Dallwitz (1992 onwards). The families of flowering plants: descriptions, illustrations, identification, information retrieval.
- antimicrobial activity of *Aloe vera* juice. - *J. Anim. Vet. Adv.*, 2009,
- Barnes J, Anderson LA, Philipson JD. 2007. Herbal Medicines, 3e édition. London (GB): Pharmaceutical Press.-
- Boullard B. Plantes Médicinales du Monde: Réalités et Croyances. Paris (FR): Éditions ESTEM; 2001.
- Certain Anthraquinones and Anthrones", Planta
- Chase, M.W.; Reveal, J.L. & Fay, M.F. (2009), "A subfamilial classification for the expanded asparagalean families Amaryllidaceae, Asparagaceae and Xanthorrhoeaceae", *Botanical Journal of the Linnean Society* 161 (2): 132–136
- Choi S., Chung M.H., 2003. A review on the relationship between Aloe vera Components and their biologic effects. *Seminars in Integrative Medicine*. 1 (1) :53-62.
- components of selected *Aloe* species. - *Phytother. Res.*, 1999, 13(5),
- Compounds", *Mutat. Res.*, 75, 243-277 (1980).
- Cosmetics and toiletries, 98, 105-108, (1983).
- Dermatology, 30, 679-683.
- Gallagher J, Gray M. 2003. Is aloe vera effective for healing chronic wounds? *Journal of Wound, Ostomy and Continence Nursing* 30(2):68-71.

Sites internet:

<http://aloeplantedevie.e-monsite.com/pages/tout-ou-presque-sur-l-aloe-vera/descriptif.html>

<http://docsdrive.com/pdfs/medwelljournals/javaa/>

<http://barbanoit.over-blog.com/article-l-aloe-vera-bio-et-ses-vertus-109418963.html>

<http://crdp-montpellier.fr/ressources/RD/SVT/JDID/JDid06/JDid0601.pdf>

<http://www.achat-martinique.com/pro1287-SIROP-DE-SALSEPAREILLE-FIDELINE-2000.htm>

<http://www.aloemagazine.com/aloe-et-agave-2-plantes-a-ne-pas-confondre/>

http://www.aujardin.info/plantes/agave_america.php

<http://www.emea.europa.eu/pdfs/human/hmpc/aloe/7631006en.pdf> [Consulté le 8 août

<http://www.lecomptoirdesfees.com/Atalie-coton-Agave>

Noms : *Seguen Brimess*

Prénom : *Wafa Sara*

Mémoire de fin de cycle

Pour l'obtention du diplôme de Master

Filière : *Biologie et physiologie végétale*

Option : *Métabolisme secondaires et molécule bioactive*

Thème : *Etude comparative phytochimique et biologique de deux plantes médicinales Aloe barbadensis Miller et Agave americana L.*

Résumé :

Pour la recherche de principes actifs modélisés, notre choix a été effectué sur les espèces : *Aloe barbadensis* Miller, récolté de Zarzis (Tunisie) et *Agave americana* L., de la région de Constantine (Algérie), a permis d'élucider la présence de métabolites primaires et aussi les flavonoïdes, Tanins, Saponosides, Anthraquinones, Stéroïdes, et Alcaloïdes.

Le dosage des polyphénols des extraits méthanoliques a permis d'évaluer une quantité faible de polyphénols dans les deux espèces.

L'évaluation de l'activité antioxydante des 2 plantes a indiqué que les deux espèces sont d'excellentes antioxydants.

L'évaluation de l'activité antibactérienne d'écorce et de gel de l'*Aloe barbadensis* Miller ont montré une inhibition excellente, sur la croissance des souches *Bacillus cereus* et *Staphylococcus sp* a subi une forte inhibition due à l'effet de l'écorce de *Agave americana* L.

L'extrait de l'écorce d'*Agave americana* L., a fortement inhibé la croissance de *Rhizopus sp*.

Mots clés : *Aloe barbadensis* Miller, *Agave americana* L., composés phénoliques, flavonoïdes, pouvoir antioxydant, pouvoir antimicrobien, pouvoir antifongique.

Soutenu le : 23/06/2014

Devant le jury :

- **Présidente :** Melle. CHAIB GHANIA // M.A.A Université Constantine 1
- **Promoteur :** Mr. CHIBANI SALIH // M.A.A Université Constantine 1
- **Examinatrice :** Mme. BAAZIZ NACIRA // M.A.A Université Constantine 1