



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
Ecologie Végétale
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

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

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة



**Facultés des sciences de la Nature et de le Vie
Département de Biologie et Ecologie Végétale**

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

Filière : Sciences Biologiques

Option: Métabolisme secondaire et molécules bioactives

Thème

Etude phytochimique et évaluation de l'activité
antibactérienne et l'activité antifongique des deux
plantes :
Artemisia compestris L. et *Ephédra alata alenda Staph.*

Présenté et soutenu par : BOULBERHANE SAOUSSENE

NABTI HICHEM

Le : 19 juin 2017

Jury d'évaluation :

- **Président du jury : Mme. CHAIB GHANIA //M.C.A Université Constantine 1**
- **Rapporteur : Mr. CHIBANI SALIH //M.C.A Université Constantine 1**
- **Examineurs : Mme. NEBBACHE SELOUA //MAA Université Constantine1**

**Année universitaire
2017 – 2018**

Remerciements



*Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements et toute notre reconnaissance à l'égard de Monsieur **CHIBANI SALIH**, Université Constantine 1 pour avoir accepté de diriger ce travail et aussi pour son enthousiasme commutatif, sa compétence, sa disponibilité et surtout sa patience.*

*Nous adressons nos sincères remerciements à Mme **CHAIB GHANIA**, docteur à l'Université Constantine 1, pour l'honneur qu'elle nous fait de présider le jury et d'évaluer ce travail ; qu'elle trouve ici l'expression de ma grande reconnaissance.*

*Nous sommes très sensibles à l'honneur que nous fait Mme **NEBBACHE**, docteur, d'avoir accepté d'examiner ce travail et de faire partie du jury. Qu'elles trouvent ici mes sincères remerciements.*

Permettez-nous de vous exprimer notre profonde gratitude et notre profond respect.

Nous exprimons aussi nos remerciements et notre gratitude à tout le personnel des laboratoires de CHU Constantine, pour leurs encouragements et leurs aides précieuses durant toute la période de notre travail.



Dédicaces

Je dédie ce travail

*A mes chers parents ma mère et mon père
Pour leur patience, leur amour, leur soutien et
leur encouragement tout au long de ma vie.*

A mes frères.

A mes sœurs.

À toute ma famille de près ou de loin

À mes amies.

À tous ceux qui aiment la science.

Je dédie ce modeste travail.

Boulberhane Saoussene

Dédicaces

A la mémoire de ma mère Qui été toujours dans mon esprit et dans mon cœur, je vous dédie aujourd'hui ma réussite. Que Dieu, le miséricordieux, vous accueille dans son éternel paradis.

Mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie.

Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.

A Mes frères et ma sœur

À toute ma famille de près ou de loin

À toutes mes amies

À tous ceux qui me connaissent

Je dédie ce modeste travail

Nabti Hichem



Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Sommaire

	Page
Introduction.....	1
Premier partie : Etude bibliographique	
Chapitre I : Etude botanique.....	3
I-1- Généralité de la famille des Astéraceae.....	3
I-1-1-Présentation du genre <i>Artemisia</i>	4
I-1-2-Présentation de l'espèce <i>Artemisia campestris</i>	4
I-1-3-Description botanique.....	4
I-1-4-Position systématique.....	5
I-1-5-Répartition géographique.....	6
I-1-6-Composition chimiques.....	6
I-1-7-Utilisation en médecine traditionnelle.....	6
I.2.- Généralité de la famille des Ephédraceae.....	7
I-2-1 Présentation du genre <i>Ephédra</i>	8
I-2-2-Description botanique de l'espèce <i>Ephédra alata</i>	9
I-2-3-Position systématique.....	9
I-2-4-Répartition géographique.....	10
I-2-5-Toxicologie.....	10
I-2-6-Utilisation en médecine traditionnelle.....	10
Chapitre II : Métabolites secondaires	
II-1-Deffinition générale.....	12
II-2- Fonction des métabolites secondaires.....	12
II.3.Type et origine des métabolites secondaires.....	12
II.4.Les polyphénols.....	13
II.4.1. Les quinones.....	14
II.4.2. Les Anthraquinones.....	14
II.4.3. Les flavonoïdes.....	15
II.4.3.1. Propriétés des flavonoïdes.....	15
II.4.4. Les anthocyanes.....	16
II.4.5. Les tannins.....	16
II.4.5.1. Utilisation des tannins.....	17
II.5. Les terpènes.....	18
II.6. Les coumarines.....	19

II.7. Les alcaloïdes.....	19
II.7.1. Distribution des alcaloïdes	19
II.7.2. Localisation des alcaloïdes.....	19
II.7.3. Intérêts des alcaloïdes.....	20
II.8. Les stérols.....	20

Chapitre III : Les activités biologiques

III-1-Activité antibactérienne.....	21
III-1-1- Généralités.....	21
III-1-2-Culture des bactéries.....	21
III-1-3- Description des bactéries étudiées.....	22
III-1-3-1- <i>Salmonella</i> (Gram -).....	22
III-1-3-2- <i>Staphylococcus aureus</i> (Gram +).....	23
III-1-3-3- <i>Streptocoque pyogènes</i> (Gram +).....	24
III-1-3-4- <i>providentia stuartii</i> (Gram -).....	25
III-2- Activité antifongique.....	26
III.2.1. champignons étudiés.....	26
III-2-1-1- <i>Alternaria</i>	26
III-2-1-2- <i>Rhizopus</i>	27

Deuxième partie : Etude expérimental

Chapitre I : Matériel et méthode

I.1.Matérielle végétal.....	28
I-1-1-Récolte de la matière végétale.....	29
I.1.2. Conservation (séchage).....	29
I.1.3. La poudre végétale (broyage).....	29
I-1-4- Macération de la matière végétale.....	30
I-1-5-Extraction.....	31
I.2.Tests phytochimiques.....	33
I.2.1. Détection des polyphénols.....	33
I.2.1.1. Détection des quinones.....	33
I.2.1.2. Détection des Anthraquinones.....	33
I.2.1.3. Détection des flavonoïdes	33
I.2.1.4. Détection des Anthocyanes.....	34
I.2.1.5. Détection des tannins.....	34
I.2.2. Détection des alcaloïdes.....	34
I.2.3. Détection des Stérols et triterpènes.....	35
I.2.4. Détection des coumarines.....	36
I.2.5. Chromatographie sur couche mince.....	36
I.2.5.1. Principe.....	36
I.2.5.2. Dépôt de l'échantillon.....	37

I.2.5.3. Développement de la plaque.....	37
I.2.5.4. Révélation.....	38
I.3. Activités biologiques.....	39
I.3.1. Activité antibactérienne.....	39
I.3.1.1. Echantillonnage.....	39
I.3.1.2. Ensemencement du milieu de culture en boites de pétri et dépôt des disques...	40
I.3.1.3. Préparation de milieu de culture.....	41
I.3.1.4. Préparation des boites.....	41
I.3.1.5. Préparation de différentes concentrations.....	41
I.3.1.6. Tests antimicrobiens.....	42
I.3.1.7. Application.....	42
I.3.2. Activité antifongique.....	43
I.3.2.1. Application.....	44
Chapitre 2 : Résultats et discussions	
II.1. Screening phytochimique des métabolites secondaires.....	45
II.1.1. Les polyphénols.....	47
II.1.1.1. Criblage des quinones et anthraquinones.....	47
II.1.1.2. Criblage des flavonoïdes et anthocyanes.....	50
II.1.1.3. Criblage des tannins.....	52
II.1.2. Criblage des Alcaloïdes.....	53
II.1.3. Criblage des stérols et triterpènes.....	55
II.1.4. Chromatographie sur couche mince des coumarines.....	56
II.2. Activités biologiques.....	59
II.2.1. Evaluation de l'activité antibactérienne.....	59
II.2.2. Evaluation de l'activité antifongique.....	66
Conclusion.....	67
Resumée	
Refference bibliographique	

Liste des figures

Figure	Titre	Page
01	Généralités sur la famille des Astéraceae.	01
02	Photo d'Artemisia compestris.	03
03	Répartition géographique d'Artemisia compestris dans le monde	04
04	Généralité sur la famille des Ephédraceae.	06
05	Photo d'Ephédra alata.	07
06	Répartition géographique de l'Ephédra dans le monde	08
07	Constituants actifs des végétaux	10
08	Fonction chimiques des métabolites secondaires.	11
09	Structure chimique des quinones.	12
10	Structure chimique des anthraquinones.	13
11	Structure chimique des anthocyanes.	14
12	Classification des tanins	14
13	Les éléments actifs des plantes	16
14	Structure d'une bactérie.	19
15	Culture des bactéries dans deux milieux	20
16	Bactérie de Salmonella.	21
17	Bactérie de staphylococcus aureus.	21
18	L'influence du staphylococcus sur l'humain.	22
19	Bactérie de streptocoque pyogène.	22
20	L'influence du streptocoque sur l'humain	23
21	Bactérie de providentia satuartii.	23
22	Les étapes de l'activité antifongique.	24

23	Champignon d'Alternaria.	25
24	Champignon de Rhizopus.	25
25	Plante Artemisia Compestris.	26
26	Plante Ephédra Alata.	26
27	Séchage des matières végétales.	27
28	Broyage des matières végétales.	28
29	Macération de la matière végétale de chaque espèce pour les tests phytochimiques	29
30	Macérations des deux plantes pour les tests des activités biologiques	29
31	Extraits brutes concentrés des deux plantes.	30
32	Réactif utilisés pour la détection des alcaloïdes.	32
33	La première étape pour détecter les stérols, Stéroïdes, tritérpènes.	33
34	Le développement du chromatogramme.	34
35	développement de la plaque.	36
36	Préparation de milieu de culture.	39
37	Différents concentration des deux espèces.	40
38	Payasse de travail au laboratoire de bactériologie (CHU).	41
39	Préparation de l'activité antifongique pour Ephédra alata Staph.	42
40	Préparation de l'activité antifongique pour Artemisia compestris L.	42
41	Détection des polyphénols.	45
42	Détection des quinones.	47
43	Détections des Anthraquinones.	47
44	Photographie des flavonoïdes.	49

45	Photographie des Anthocyanes.	50
46	Détection des tannins.	51
47	Photographie des Alcaloïdes.	52
48	Photographie des stérols et triterpènes.	53
49	Zone d'inhibitions des souches en présences de différentes concentrations d'extrait Artemisia compestris L.	58
50	Zone d'inhibitions des souches en présences de différentes concentrations d'extrait Ephédra alata Staph.	60
51	Sensibilité des 4 souches Gram (+) vis-à-vis des extraits EM.Art et EM.Eph.	62
52	Sensibilité des deux souches fongiques envers les différents extraits de l'Ephédra alata alenda Staph. et Artemisia compestris L.	64

Liste des tableaux

Tableaux	Titre	Page
01	Type et origine des métabolites secondaires.	11
02	Les différents systèmes solvants utilisés pour la CCM.	35
03	Souches testés dans l'activité antibactérienne.	37
04	Représente les matériels utilisés.	38
05	Préparation des champignons.	41
06	Mise en évidence de la présence ou de l'absence de certaines familles de métabolites secondaires	44
07	Résultat de criblage des quinones et anthraquinones	46
08	Résultats de criblage des flavonoïdes et anthocyanes	48
09	Résultats de criblage des tannins.	50
10	Résultats de criblage des alcaloïdes.	52
11	Résultats de criblage des stérols et tritérpènes	53
12	Chromatogrammes des Coumarines des extraits EM.Art et EM.Eph à 254 nm.	54
13	Chromatogrammes des Coumarines des deux extraits à 365 nm.	55
14	Effet inhibiteur de l'extrait EM.Art sur la croissance des germes testés	57
15	Diamètre d'inhibition de la croissance des germes testés d'EM.Eph	59

16	Antibiotiques testés sur les dix souches.	61
17	Zones d'inhibition des souches fongiques en présence de l'EM.Art.	63
18	Zones d'inhibition des souches fongiques en présence de l'EM.Eph.	63



Liste des abréviations

MS.	Matière sèche
AcOEt.	Acétate d'éthyle
ATB.	Antibiotique
CCM	Chromatographie sur couche mince
Cm.	Centimètre
MeOH.	Méthanol
CHCl₃.	Cloroforme
Mg.	Magnésium
<i>Et al.</i>	Et autres auteurs
mg.	Milligramme
min.	Minutes
ml.	Millilitre
BuOH.	Butanol
UV	Ultra-violet
[C]	Concentration

mg.	Microgramme
C⁰.	Degré celcius
EtOH.	Ethanol
g.	Gramme
mm.	Micrometre
O.M.S.	Organisation mondiale de la sante
S.M	Solution méthanolique
M.V.	Matiere végétale
FeCl₃.	Chlorure de fer III
HCl.	Acide chlorohydrique
H₂SO₄.	Acide sulfurique
nm.	Nanomètre
%.	Pourcentage
HgCl₂.	Chlorure de mercure
Art.	<i>Artemisia compestris</i>
Eph.	<i>Ephédra alata</i>

A₀.	Témoin (<i>Artemisia compestris</i>)
A₁.	<i>Artemisia compestris</i> feuille
A₂.	<i>Artemisia compestris</i> fleur
A₃.	<i>Artemisia compestris</i> écorce
E₀.	Témoin (<i>Ephédra alata</i>)
E₁.	<i>Ephédra alata</i> tige
E₂.	<i>Ephédra alata</i> racine
A^T.	<i>Artemisia compestris</i> triterpene
A^S.	<i>Artemisia compestris</i> stérols
E^T.	<i>Ephédra alata</i> triterpene
E^S.	<i>Ephédra alata</i> sterols
EM.	Extrait méthanolique
EM.Art.	Extrait méthanolique d'<i>Artemisia compestris</i>
EM.Eph.	Extrait méthanolique d'<i>Ephédra alata</i>

Introduction

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité, pour soulager et guérir les maladies humaines. En fait, leurs propriétés thérapeutiques sont dues à la présence de centaines, voire des milliers de composés naturels bioactifs appelés: les métabolites secondaires. Ces derniers sont par la suite accumulés dans différents organes et parfois dans des cellules spécialisées de la plante, malgré le progrès de la pharmacologie, l'usage thérapeutique des plantes médicinales est très présent dans certains pays du monde et surtout les pays en voie de développement, en l'absence d'un système médical moderne (Tabuti et *al.*, 2003).

Actuellement, le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques ont conduit les chercheurs à puiser dans le monde végétal et particulièrement les plantes médicinales et culinaires en quête de molécules naturelles efficaces et dénuées de tout effet adverse.

De nombreuses études ont mis en évidence la présence de métabolites secondaires doués d'activités biologiques telles que les polyphénols, alcaloïdes, terpènes ...etc. La flore algérienne, avec ses différentes espèces appartenant à plusieurs familles botaniques, reste très peu explorée tant sur le plan phytochimique que sur le plan pharmacologique (Merzoug, 2009).

Le présent travail a pour objectif de criblage des métabolites secondaires, avec la détermination de la concentration de certains groupes, comme il vise à tester les activités biologiques des différents extraits organiques surtout l'activité antifongique et l'activité antibactérienne.

Dans ce contexte et notamment dans le cadre du programme de recherche sur les plantes médicinales, nous nous sommes intéressées à l'étude de deux espèces médicinales, appartenant au genre *Artemisia* et *Ephédra*.

Ce manuscrit est divisé en trois parties :

❖ La première partie est consacrée à une étude bibliographique .Nous avons entamé cette partie par une enquête ethnobotanique, en vue d'évaluer l'intérêt et l'usage de ces plantes chez la population sur les aspects botaniques et phytochimiques de deux plantes. Des généralités, sur les activités antibactériennes et antifongiques, ainsi que sur les alcaloïdes et les composés phénoliques et notamment les flavonoïdes, tannins, quinone, anthraquinone....etc.

- Elle contient trois chapitres :
 - ♣ Chapitre 1 : Etude botanique.
 - ♣ Chapitre 2 : Métabolites secondaires.
 - ♣ Chapitre 3 : Activités biologiques.
- ❖ La deuxième partie : étude expérimental illustre le matériel et les méthodes utilisés dans les différentes étapes de notre travail : Des tests phytochimiques préliminaires sont ensuite effectués sur les parties aérienne et souterraine des deux plantes, justifiant notre choix porté sur les alcaloïdes et les composés phénoliques de ces plantes, en vue de leurs extractions et de leurs analyses. Et enfin l'application des extraits de l'*Ephédra alata alanda Staph.* et les extraits de l'*Artemisia compestris L.* sont testés pour leurs activités antibactériennes et antifongiques.
- Elle contient deux chapitres :
 - ♣ Chapitre 1 : Matériel et méthode.
 - ♣ Chapitre 2 : Résultats et discussions.
- ❖ Enfin, notre manuscrit est ponctué d'une conclusion générale et de perspectives envisageables.

Etude bibliographique

I.1. Généralité de la famille des Astéraceae

La famille des Astéraceae (anciennement nommées composées) est une importante famille de plantes dicotylédones (principalement herbacées) qui comprend près de 13000 espèces réparties en 1500 genres.

Ces plantes ont la caractéristique commune d'avoir une inflorescence en capitule, c'est-à-dire une multitude de fleurs sans pédoncule regroupées sur un réceptacle et entourées de bractées florales.

Les fruits sont des akènes, souvent couronnés d'une aigrette de soies appelée Pappus qui favorise la dispersion des graines par le vent (Agrobio., 2012).

Cette immense famille est utile dans de nombreux domaines:

- Plantes alimentaires.
- Plantes ornementales.
- Plantes adventices.
- Plantes insecticides.
- Plantes médicinales.



Figure.01: Généralités sur la famille des Astéraceae.

I.1.1. Présentation du genre *Artemisia*

Le genre *Artemisia* appartient à la famille des Astéraceae: c'est l'un des genres le plus répandu et le plus étudié de cette famille; il contient un nombre variable d'espèces allant jusqu'à 400 espèces (Mucciarelli and Maffei., 2002).

Il a été rapporté que le genre *Artemisia* est riche en métabolites secondaires tels que les Flavonoïdes, les coumarines, les stérols, les quinones, les anthraquinones...etc. (Kundan et Anupam., 2010).

Les espèces qui appartiennent au genre *Artemisia* possèdent des propriétés thérapeutiques, elles sont non seulement utilisées dans la médecine traditionnelle, mais aussi dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique (Mirjalili et *al.*, 2007). Elle est utilisée comme antiseptique anti-inflammatoire antirhumatismale antimicrobienne, maladies d'estomac.

I.1.2. Présentation de l'espèce *Artemisia compestris*

✓ Capitules très petits, limités (1 à 1,5mm), ovales, à involucre scarieux, ne contenant que 3 à 8 fleurs ; feuilles à division longues, étroites et séparées.

✓ Feuilles lisses, d'un vert foncé ; rameaux rougeâtres ; capitules coniques (Urquiaga.I et Leighton., 2000).

I.1.3. Description botanique

- ✓ Fleurons du disque stérile (ovaire avorté).
- ✓ Plante de 30 à 150 cm.
- ✓ Un rameau large.
- ✓ Tige ligneux à base striée.
- ✓ Feuilles vert foncé : les essentiels pétiolées et auriculées, les autres sessiles.
- ✓ Très appétant en été et en automne (Urquiaga.I et Leighton., 2000).
- ✓ **Noms français :**
 - Armoise champêtre*
 - Armoise des champs*
 - Armoise rouge*
- ✓ **Noms anglais :**
 - Field Sagenort*
 - Field Sagewort*
 - Field Wormwood*
- ✓ **Noms vernaculaire :**
 - Dgouft ou tgouft*
 - Alala*



Figure. 02 : photo d'*Artemisia compestris*.

I.1.4. Position systématique

Selon (Kening.Y., Vincenzo.D.L et Normand., 1995), la plante *Artemisia compestris* est classée dans :

- Règne : Plantae
- Sous règne : Tracheobionta
- Embranchement : Spermatophyta
- Sous embranchement : Magnoliophyta
- Classe : Magnoliopsida
- Sous classe : Asteridae
- Ordre : Asterales
- Famille : Astéracées
- Sous famille : Asteroideae
- Tribu : Anthemideae
- Genre ; *Artemisia*
- Espèce : *Artemisia compestris*

I.1.5. Répartition géographique

L'espèce *Artemisia compestris* est distribuée dans l'hémisphère nord, en particulier sur la côte méditerranéenne de l'Europe, sud-ouest de l'Asie et de l'Afrique (Floss.H.G., 1997).

Dans l'hémisphère sud elles sont trouvées en Afrique du sud, l'Australie et L'Amérique du sud (Kyeong., 2007).



Figure. 03 : Répartition géographique d'*Artemisia campestris* dans le monde

(Tela Botanica., 2016).

I.1.6. Composition chimiques

L'utilisation des solvants à polarité différente, suivie par des étapes de fractionnements et l'emploi de différentes techniques de chromatographie permettent d'extraire, séparer et identifier les différents composés présents dans les extraits de plantes.

De nombreuses études chimiques ont révélé que la partie aérienne d'*Artemisia campestris* est riches en métabolites secondaires tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins...etc.(Joao et al., 1998 ; Juteau et al., 2002).

I.1.7. Utilisation en médecine traditionnelle

Artemisia campestris est une plante utilisée depuis longtemps dans la médecine traditionnelle pour traiter plusieurs maladies.

En usage local *Artemisia campestris* est utilisée pour traiter les troubles digestives, les ulcères et les douleurs menstruelles (Dob et al., 2005). Elle est également utilisée dans le traitement de diabète (Sefi et al., 2010).

La partie aérienne est utilisée dans le traitement de brûlures, de la diarrhée, les morsures de serpents, les piqûres de scorpions, l'eczéma, la gastroentérite, la dysenterie, le rhumatisme, elle est utilisée également pour traiter les infections urinaires, la fièvre et la toux (Ben Sassi *et al.*, 2007).

Selon Saoudi *et al* (2010) la consommation journalière d'une décoction préparée à partir des tiges et feuilles d'*Artemisia campestris* permet de réduire les symptômes digestifs.

I.2. Généralité de la famille des Ephédraceae

Arbustes ligneux, leurs branches longues restent vertes, ressemblant à des tiges de prèles. Elles ne possèdent ni feuilles vertes, ni aiguilles, des organes contenant de la chlorophylle participent à la formation de la plante, la tige à l'élaboration et à la circulation des aliments.

La famille des Ephedraceae ne renferme qu'un seul genre *Ephédra* composé d'une cinquantaine d'espèces que l'on rencontre essentiellement dans les régions tropicales et subtropicales. Il se plaît sur une terre désertique, sèche et caillouteuse autour de la Méditerranée et en Californie.

Depuis des siècles *Ephédra* est une plante médicinale recherchée pour ses effets sur les affections des voies respiratoires, employée sous le nom d'éphédrine dans les médicaments Européens. Pousse en Europe centrale et sur le pourtour Méditerranéen. Leurs baies sont utilisées comme médicament (Pellay Maryvonne., 2011).

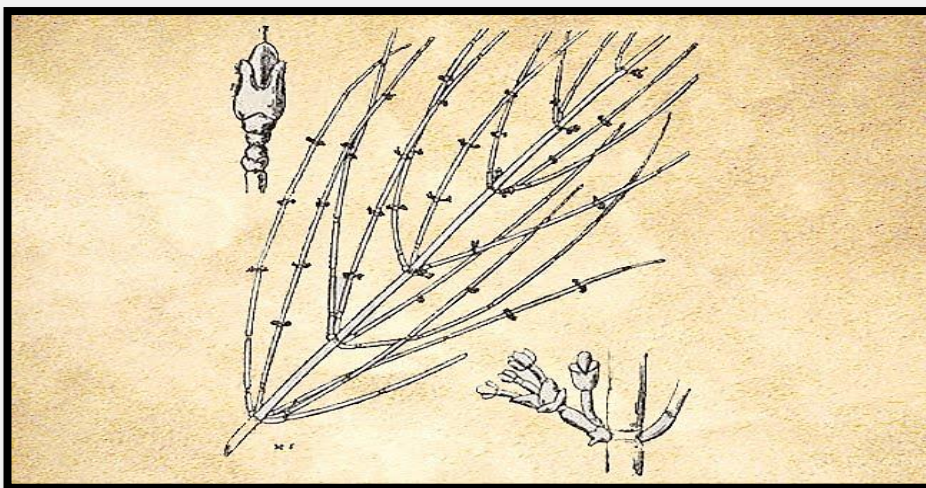


Figure .04 : Généralité sur la famille des Ephédraceae.

I.2.1. Présentation du genre *Ephédra*

L'origine de l'*Ephédra* a parfois été considérée comme ancienne, peut-être dès ou avant l'éclatement de la Pangée (environ 200 millions d'années passant dans le Trias moyen) (Huang et Price, 2003).

La famille des Ephedraceae représentée par le seul genre *Ephédra* inclue environ 40 espèces dans le monde (Evans, 2009) est représentée par des arbustes dioïques vivaces à rameaux articulés, qui peuvent atteindre 1 à 3 mètre de haut, avec de minces tiges dressées, verts jaunâtres, intersectées et légèrement nervurées, à canalicules de 1,5 mm de diamètre et qui se termine par une pointe souvent acérée. Au niveau des nœuds, qui sont écarté de 4 à 6 cm, les feuilles réduites en écailles apparaissent triangulaires qui se développent en paires opposées ou en verticilles de trois, donnant à la plante l'aspect d'un arbuste sans feuille. De petites fleurs apparaissent en été (Limberger et *al.*, 2013; Ozenda, 1991; Abourashed et *al.*, 2003). Les espèces de ce genre peuvent pousser dans des conditions semi-arides et désertiques, ce qui rend les six continents appropriés pour la croissance de ce genre. Ce dernier se développe habituellement dans des sols sableux, des pentes sèches et des côtés secs de montagnes (Limberger et *al.*, 2013; Qingbiao, 2006) et qui poussent surtout dans la Chine, l'Inde, l'Égypte, le Moyen-Orient, en Europe et dans les Amériques (Hegazi et El-Lamey, 2011).

I.2.2. Description botanique de l'espèce *Ephédra alata*

Cette espèce, qui est réputée pour sa tolérance élevée à la carence en eau dans les régions sahariennes.

- ✓ Un arbuste de 1 à 3 mètres de haut.
- ✓ Rameaux articulés et très ramifiés d'une couleur vert-jaunâtre.
- ✓ Portant au niveau des nœuds de petites feuilles opposées, alternant d'un nœud à l'autre.
- ✓ Les fleurs sont en petits cônes blanchâtres, dioïques (fleurs mâles et femelles sur des pieds différents).
- ✓ Les fruits entourés de bractées largement membraneuses.
- ✓ Elle présente un système de racines latérales extrêmement puissant (Ozenda, 1991; Derbel *et al.*, 2010).
- ✓ Floraison : hiver, printemps



Figure .05 : Photo d'*Ephédra alata*.

I.2.3. Position systématique

- Embranchement : Spermaphytes
- Sous embranchement: Gymnospermes
- Classe : Gnetopsida
- Ordre : Ephedrales
- Famille : Ephedraceae
- Genre : *Ephédra*
- Espèce : *Ephédra alata*

I.2.4. Répartition géographique

L'espèce *Ephédra alata* est une plante médicinale appartenant au genre *Ephédra* originaire d'Asie, y compris l'Arabie Saoudite (Al-Qarawi et *al.*, 2011). Elle est commune dans le Sahara du Maroc à la Libye jusqu'à l'Égypte et l'Arabie (Ozenda, 1991). En Algérie, *Ephédra alata* se trouve dans le Sahara septentrional et occidental au niveau des terrains sableux, des regs et les lits sablonneux des oueds. Elle est même rencontrée dans le sable de l'étage tropical et la Hamada de Tinghert (Ozenda, 1991).

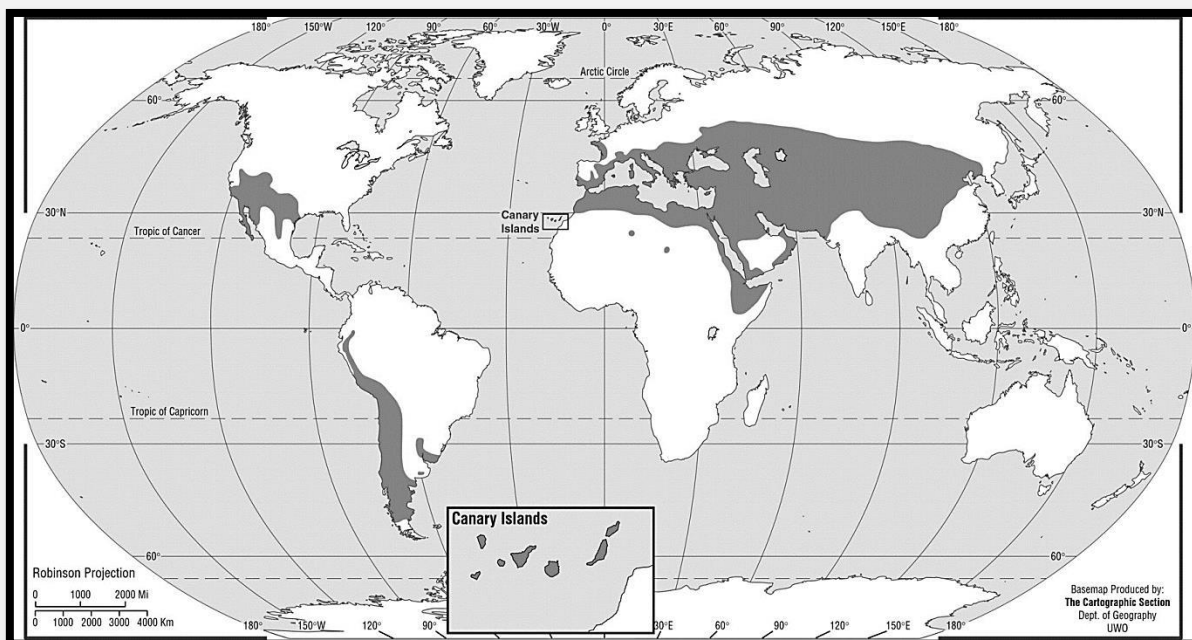


Figure. 06 : Répartition géographique de l'*Ephédra* dans le monde

(Caveney et al., 2001).

I.2.5. Toxicologie

Les espèces de l'*Ephédra* ont des effets bénéfiques et néfastes (Ma et al., 2007). Cliniquement, il peut en résulter une tachycardie, une hypertension, une hypersudation, une bronchodilatation, une agitation et une mydriase. L'utilisation de l'*Ephédra* est également connue pour être associée avec des manifestations gastro-intestinales et psychiatriques (Peters et al., 2005). Ces effets peuvent être les raisons pour lesquelles l'utilisation de l'*Ephédra* est recommandée uniquement pour les situations aiguës en médecine traditionnelle chinoise et contre-indiqué pour une utilisation à long terme (Chen et al., 2010).

I.2.6. Utilisation en médecines traditionnelles

Les espèces *Ephédra* d'Asie ont été récemment utilisées dans la fabrication clandestine d'une drogue de rue, de la méthamphétamine (Caveney et al., 2001).

En Egypte, *Ephédra alata* est utilisée en médecine traditionnelle comme dépurative, hypotensive, antiasthmatique et agent astringent (Nawwar et al., 1984).

En Arabie Saoudite, *Ephédra* est l'une des plantes de parcours les plus répandues. Elle a été utilisée comme pâturage pour de nombreux animaux attirés par son arôme acceptable (AL-Qarawi et al., 2012).

Au Maroc, l'*Ephédra alata* est utilisée pour lutter contre le diabète (Ghourri et al., 2013).

En Algérie, *Ephédra alata* s'utilise contre la grippe, la coqueluche et la faiblesse générale en tisane et par inhalation ainsi que sous forme de gouttes nasales contre les rhumes (Ould El Hadj et *al.*, 2003). Elle est très appréciée par le dromadaire.

Les organes utilisés dans la médecine traditionnelle sont les tiges vertes séchées, qui sont usuellement bouillies dans de l'eau pendant environ trente minutes et administrées comme thé chaud (Abourashed et *al.*, 2003).

En dépit de sa longue histoire et sa promesse agronomique, l'utilisation de l'herbe a diminué au fil des ans, mais au début du vingtième siècle, l'importance de l'herbe a graduellement revécu comme il est démontré par son large utilisation aux Etats Unis dont beaucoup de produits contenant de l'*Ephédra* vendus sous des noms tels que "Herbal Ecstasy and Escalation" sont supposés être efficaces pour la perte de poids et l'amélioration des performances physiques (Abourashed et *al.*, 2003; Caveney et *al.*, 2001).

II.1. Définition générale

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes, ils sont divisés principalement en trois grandes familles:

- Les polyphénols,
- les terpènes,
- les alcaloïdes (Lutge et *al.*, 2002 ; Abderrazak et Joël., 2007).

Ils sont des molécules qui ne participent pas directement au développement des plantes mais plutôt interviennent dans les relations avec les stress biotiques, abiotiques ou améliorent l'efficacité de reproduction.

Ils sont différents dans les différentes espèces.

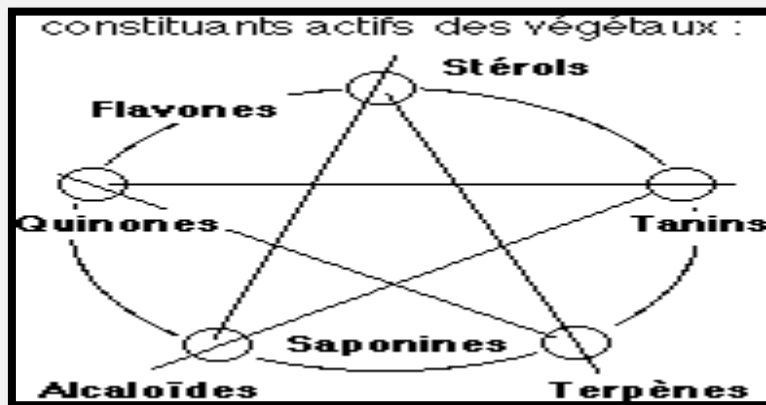


Figure.07 : Constituants actifs des végétaux.

II.2. Fonction des métabolites secondaires

Ils ont des fonctions très différentes, exemples:

- ✓ Protection de l'attaque des pathogènes ou des herbivores.
- ✓ Attraction des pollinisateurs.
- ✓ Ils participent à des réponses allélopathiques (compétition entre les plantes pour la germination et croissance).
- ✓ Ils sont des molécules qui sont aussi très utiles pour l'homme, comme colorants, arômes, antibiotiques, herbicides, drogues etc.

II.3. Type et origine des métabolites secondaires

On peut identifier trois types de métabolites secondaires:

Ils dérivent de (Buchanan, Cap. 24)

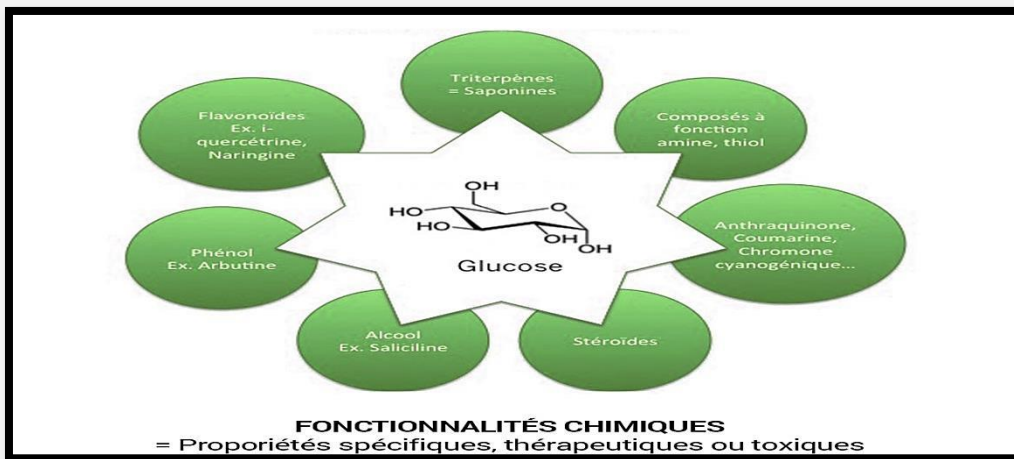


Figure. 08 : Fonction chimiques des métabolites secondaires.

Tableau. 01: Type et origine des métabolites secondaires.

-Terpènes	- l'IPP (isopentenyl diphosphate) une molécule à 5 C
Alcaloïdes	- Acides aminés.
-Molécules phénoliques	-Voie de l'acide shikimique et acétate/malonate

II.4. Les polyphénols

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux, caractérisés par la présence d'au moins d'un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre, ou engagé dans une autre fonction tels que : éther, ester, hétéroside...etc. (Bruneton, 1999 ; Lugasi et *al.*, 2003).

En effet les composés phénoliques, constituent le groupe le plus nombreux et le plus largement distribué dans le royaume des végétaux, avec plus de 8000 structures phénoliques connus (Lugasi et *al.*, 2003).

Les principales classes de composants phénoliques sont: les acides phénoliques (acide caféique, acide hydroxycinnamique, acide chlorogénique), les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols, les tanins, et les coumarines (King et Young., 1999 ; Tapiero et *al.*, 2002).

Les polyphénols sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs: racine, tiges, feuilles, fleurs, fruits (Boizot et Charpentier., 2006).

II.4.1. Les quinones

Cétones aromatiques provenant de l'oxydation de diphénols. Les quinones constituent un groupe de substances biologiquement très actives. Beaucoup sont antimicrobiennes, c'est à dire antibiotiques naturels agissant surtout sur les Gram +, ce sont aussi des fongicides, parfois des vermifuges. La vitamine K1 (méthyl2-naphtoquinone) est abondante dans la Luzerne, on trouve également dans ce groupe des plantes tinctoriales. Enfin, la majorité des anthraquinones est apéritive, mais aussi purgative, agissant directement sur la musculature lisse au niveau du côlon et entravant la résorption de l'eau.

En présence d'une base (NaOH ou KOH) les quinones donnent une coloration caractéristique allant de rouge orange au violet pourpre (Bruneton, 2009).

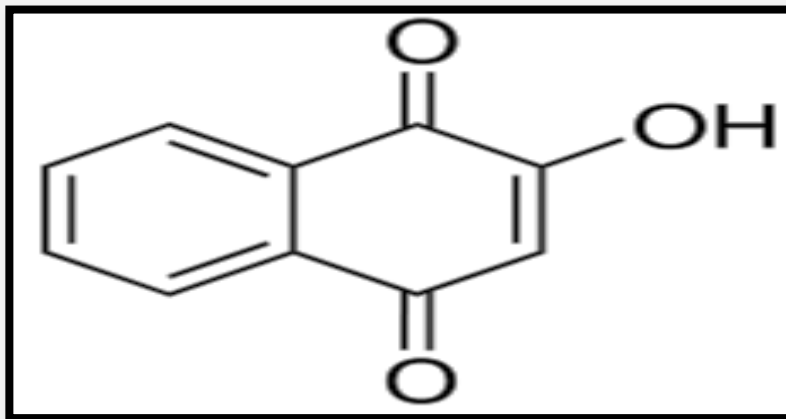


Figure. 09: Structure chimique des quinones.

II.4.2. Les Anthraquinones

L'antraquinone est une molécule dérivée de l'anthracène, elle appartient aux hydrocarbures aromatiques polycycliques.

L'antraquinone existe dans les plantes, les champignons et les insectes. On peut la trouver dans les racines, tiges vertes et les graines.

L'antraquinone fait partie des quinones naturelles, c'est une substance oxygénée engendrée par l'oxydation des composés aromatiques (Gérard Gomez., 2015).

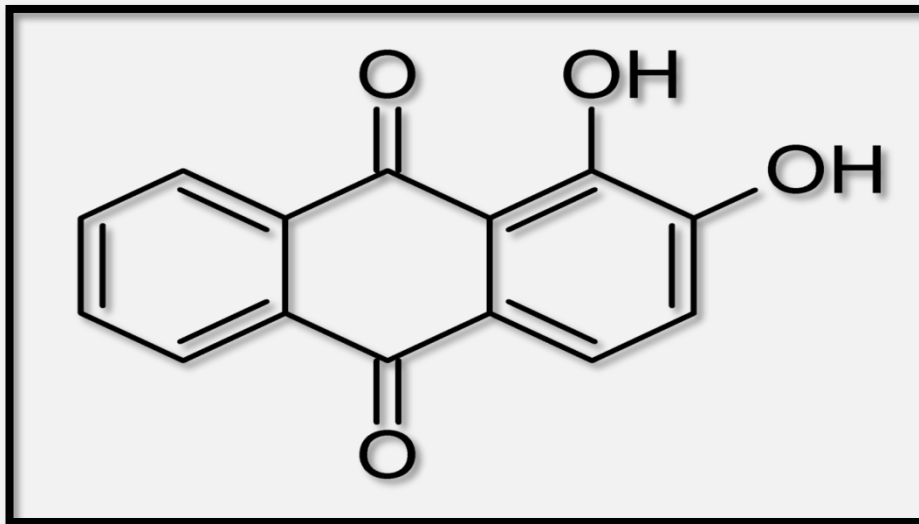


Figure.10 : structure chimique des anthraquinones.

II.4.3. Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (Seyoum et *al.*, 2006), ils sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. À l'état naturel les flavonoïdes se trouvent le plus souvent sous forme d'hétérosides (Ghestem et *al.*, 2001; Bruneton, 1999).

Les flavonoïdes sont dépourvus de toxicité et ont des propriétés tinctoriales et vitaminiques P (diminution de la perméabilité capillaire) : les plantes qui en contiennent sont fréquemment des diurétiques ou des antispasmodiques, certaines ont des propriétés ostrogéniques

II.4.3.1. Propriétés des flavonoïdes

- ✓ Protection des plantes contre les radiations UV.
- ✓ Sont impliqués dans les processus de défense de la plante contre les infections bactériennes et virales.
- ✓ Agissent comme des pigments ou des co-pigments.
- ✓ Fonctionnent comme des signaux moléculaires de reconnaissance entre les bactéries symbiotiques et les légumineuses afin de faciliter la fixation de l'azote moléculaire.
- ✓ Régulation de l'élongation des tiges.
- ✓ Interviennent dans la maturité des fruits.
- ✓ Sont à l'origine des goûts amers (Yang.R.Y., Lin.S., et Kuo.G., 2008).

II.4.4. Les anthocyanes

Sont des pigments hydrosolubles qui colorent les plantes en bleu ; rouge, mauve, rose ou orange. Il appartient à la famille des polyphénols (Malien 2004).

Ce sont des dérivés glycosylés d'anthocyanidines.

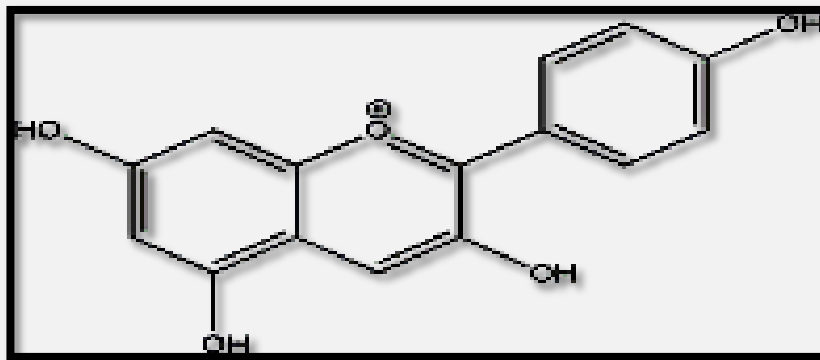


Figure.11 : Structure chimique des anthocyanes.

II.4.5. Les tannins

Le tannin est un composé phénolique qui précipite les protéines à partir de leurs solutions aqueuses.

Les tannins sont présents en une grande quantité chez les arbres, dans les écorces, les racines, les feuilles et les fruits. Ils sont placés dans les vacuoles de cellules.

En thérapeutique, les tannins ont des activités antiseptique et bactéricides, ils ont des propriétés antioxydantes et empêchent le développement de microbes (Biaye Mamadou., 2002).

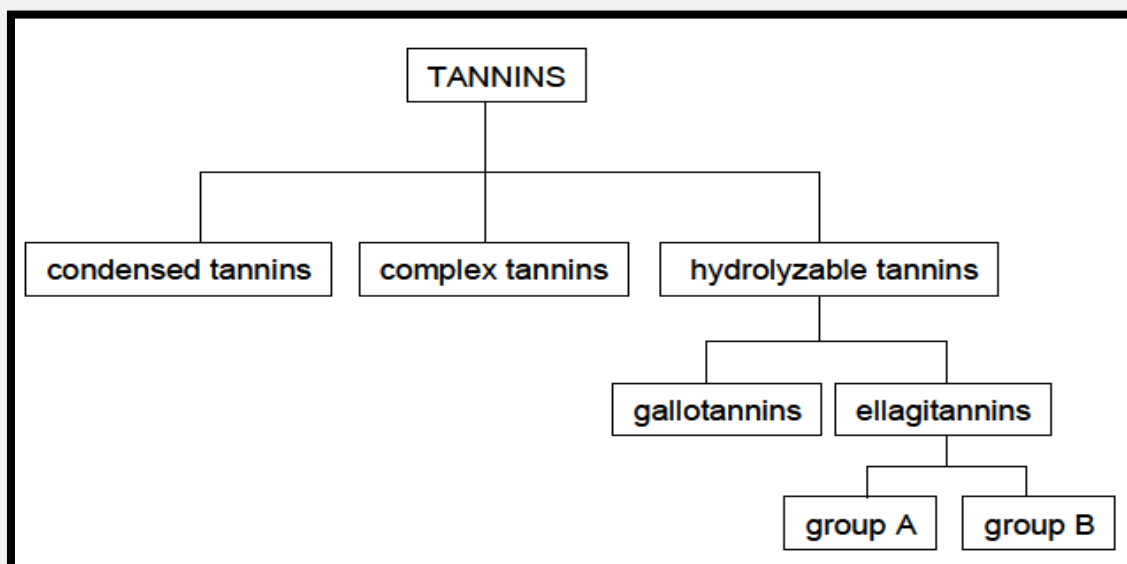


Figure.12 : Classification des tannins (Wilfred et Ralph., 2006).

Substances non azotées poly-phénoliques ayant la propriété de tanner la peau, c'est-à-dire de la rendre imputrescible en se fixant sur les protéines. Les tanins sont très répandus dans le monde végétal. En sont particulièrement riches les abietacées, cupressacées, fagacées, éricacées, labiées, myrtacées, polygonacées, rosacées, rubiacées, salicinées, verbénacées et fabacées.

Toutes les parties du végétal peuvent en contenir, cependant, les plus hautes teneurs en tanins se rencontrent dans les organes âgés qui semblent les accumuler. Les tanins sont solubles dans l'eau et l'alcool. Ils sont précipités par les sels métalliques (Cu, Fe, Hg, Pb, Zn).

Usage externe : tannage = diminue la perméabilité de la peau et des muqueuses, action vasoconstrictive des petits vaisseaux (hémorroïdes et brûlures superficielles),

Usage interne : anti-diarrhéiques et antiseptiques intestinaux. Enfin, l'acide gallique est cholagogue (Jean Yves Henry).

II.4.5.1. Utilisation des tanins

✓ En pharmacie

Grâce à leurs astringentes les tanins sont utilisés comme anti diarrhéiques vasoconstricteurs et hémostatiques, mais surtout comme protecteurs veineux dans traitement des varices et hémorroïdes (Paris et Hurabielle., 1981).

✓ Dans l'industrie

On utilise les tanins pour fixer la couleur et pour former des encres par des combinaisons avec les sels ferriques ils jouent le rôle d'une colle à papier (Rahantanirina Eliane Elodie., 2014).

II.5. Les terpènes

Communément appelées « essences » (HE), les terpènes sont des substances de consistance huileuse, plus ou moins fluides, voire résinoïdes, très odorantes, volatiles, souvent colorées et plus légères que l'eau (densité de 0,75 à 0,98). Si de nombreuses plantes renferment des essences, une centaine de plantes seulement en contiennent des quantités notables. Elles appartiennent pour la plupart aux familles suivantes : Conifères, Labiées, Lauracées, Myrtacées, Ombellifères, Rutacées (cf. tableau « Agrumes » ci-dessous). Selon le cas, les HE sont extraites des fleurs, des semences, des feuilles, des fruits, des racines, des écorces ou du bois.

On appelle térpenoïdes ou isoprénoides des composés issus de condensation de base de 5 carbones de type isoprène.

Dans les plantes, on les trouve dans les feuilles, tiges, fleurs et racines

Les terpénoïdes sont utilisés selon leurs qualités aromatiques. En thérapeutique, ils jouent le rôle d'antioxydant, d'antibactériens, d'antineoplasique (Malecky Mostafa., 2008).

II.6. Les coumarines

La coumarine est un composé naturel organique aromatique.

- Elle est classée en deux groupes : coumarine simple et coumarine complexe.
- Elle est soluble dans l'alcool, les solvants organiques ou les solvants chlorés.
- Elle est utilisée en parfumerie, dans les produits cosmétiques
- On l'utilise dans les peintures, les insecticides, le caoutchouc et les matières plastiques.

En thérapeutique, elle joue un rôle anti-inflammatoire, stimulant de la microphagie et du drainage lymphatique, elle a également une action dans le lymphœdème.



Figure.13 : Les éléments actifs des plantes.

(Ahmed Dellaa., 2013).

II.7. Les alcaloïdes

Un alcaloïde est un composé organique d'origine naturelle (le plus souvent végétale), azoté, plus ou moins basique, de distribution restreinte et doté, à faible dose de propriétés pharmacologiques marquées. Le regroupement d'un tel ensemble est par ailleurs confirmé par des réactions communes de précipitation avec les « réactifs généraux des alcaloïdes» (Bruneton., 2009).

II.7.1. Distribution des alcaloïdes :

Les alcaloïdes sont présents essentiellement chez les Angiospermes dont la plupart sont des Dicotylédones. Cependant, de nombreux alcaloïdes ont également été trouvés chez des Monocotylédones et même chez des Gymnospermes *Ephédra*.

Les Ptéridophytes sont rarement alcaloïdifères (Bruneton, 2009). Les plantes à alcaloïdes ne renferment que très rarement un seul alcaloïde, même si elles contiennent parfois un composé très majoritaire mais, il n'est pas rare que plusieurs dizaines d'alcaloïdes soient présents dans une même drogue.

Généralement, tous les alcaloïdes d'une même plante ont une origine biogénétique commune, et ils existent généralement sous la forme, soluble, de sels d'acides végétaux (citrate, malate, tartrate, benzoate...etc.) ou sous celle d'une combinaison avec les tanins (Bruneton, 2009).

Les alcaloïdes sont exceptionnels chez les bactéries et assez rares chez les champignons (Bruneton, 2009). Les structures alcaloïdiques existent aussi rarement chez les animaux. Dans certains cas, ce sont des produits formés à partir des alcaloïdes contenus dans les végétaux inclus dans la ration alimentaire de l'animal et dans d'autres cas, ils semblent être des produits du métabolisme de l'animal, c'est en particulier le cas chez des Amphibiens Urodèles ou Anoures (Krief, 2003; Bruneton, 2009).

II.7.2. Localisation des alcaloïdes

La synthèse des alcaloïdes s'effectue généralement dans des sites précis (racines en croissance, cellules spécialisés de laticifère... etc.). Ils sont ensuite transportés dans leurs sites de stockage.

Les alcaloïdes sont le plus souvent localisés dans les tissus périphériques; assises externes des écorces de tige et de racine, téguments des graine et rarement dans les tissus morts. Au niveau cellulaire, la synthèse des alcaloïdes a lieu au niveau du réticulum endoplasmique et le stockage dans les vacuoles (Krief, 2003).

La nature et la teneur en alcaloïdes peut être très inégale selon les organes d'une même plante; certains pouvant en être dépourvus (Bruneton, 2009).

II.7.3. Intérêts des alcaloïdes

✓ **Fonctions au niveau du producteur:**

Comme pour beaucoup d'autres métabolites secondaires, on ne sait pratiquement rien du rôle des alcaloïdes dans les végétaux. La toxicité de certaines, laisse supposer des rôles de protection contre les prédateurs (Krief, 2003). Certains auteurs estiment que ce sont des métabolites terminaux «déchets inutiles». D'autres les désignent comme des métabolites intermédiaires (Bruneton, 2009).

✓ **Actions pharmacologiques:**

Leurs propriétés pharmacologiques concernent des domaines variés;

- Dépresseurs (morphine, scopolamine) ou stimulants (caféine, strychnine) au niveau du système nerveux central.
- Sympathomimétiques (éphédrine), parasympathomimétique (pilocarpine) au niveau de système nerveux autonome.
- Anesthésiques locaux (cocaïne), antipyrétique (quinidine), anti-tumoraux (ellipticine), antipaludiques (quinine)...etc. (Bruneton, 2009).

II.8. Les stérols

Alcools à noyaux cyclopentoperhydrophénanthréniques. On les trouve chez les végétaux, sous forme d'esters : les stérides, ou combinés à des sucres sous forme d'hétérosides :

- stérols libres : comme ergostérol de l'Ergot de seigle et de la levure de bière.
- hétérosides : Digitales, Scilles (à l'activité cardiotonique ++).
- stéroïdes : Dioscoréa, Agave ...

Les monocotylédones semblent plus riches en stérols que les dicotylédones : on les trouve dans la fraction lipidique que l'on peut extraire des végétaux par les solvants organiques non polaires.

Actions importantes :

- l'ergostérol est la provitamine D2
 - le sitostérol des céréales est employé contre l'artériosclérose
 - le stigmastérol sert de matière première pour la synthèse des corticostéroïdes
- (Jean Yves Henry)

III.1. Activité antibactérienne

III.1.1. Généralités

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires classés parmi les procaryotes, car ils ne possèdent pas de membrane nucléaire. Ce caractère les distingue des autres organismes unicellulaires classés parmi les eucaryotes (champignons, algues, protozoaires). Elles sont divisées en bactéries proprement dites (Bacteria) et bactéries primitives (Archaea). Toutes les bactéries rencontrées en pathologie appartiennent aux Bacteria.

Les bactéries ont généralement un diamètre inférieur à $1\mu\text{m}$. On peut les voir au microscope optique, à l'état frais ou après coloration. Leur forme peut être sphérique (cocci), en bâtonnet (bacilles), incurvée (vibrions) ou spiralée (spirochètes). Les détails de leur structure ne sont visibles qu'en microscopie électronique. (Nauciel et Vildé., 2005).

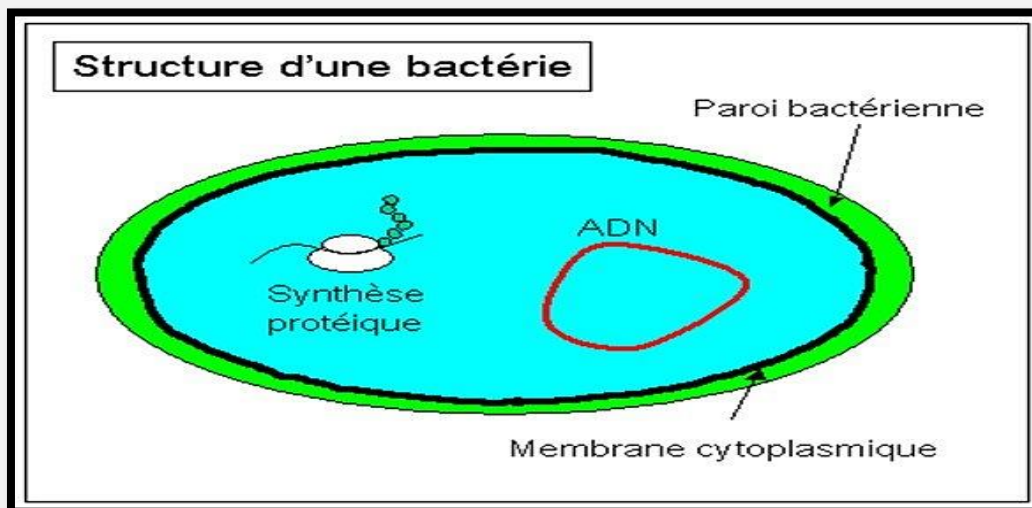


Figure .14 : Structure d'une bactérie.

III.1.2. Culture des bactéries

On utilise habituellement pour cultiver les bactéries des milieux complexes à base d'extraits ou d'hydrolysats enzymatiques de viandes. Ces milieux peuvent être liquides (bouillons) ou solides. La solidification des milieux est obtenue par l'addition de l'agar, un extrait d'algues qui a la propriété de fondre à l'ébullition et se solidifier à des températures inférieures à 40°C .

En milieu liquide, les bactéries se dispersent librement et leur multiplication se traduit par un trouble, le plus souvent homogène. Sur un milieu solide, lorsque la quantité de bactéries est faible, chaque bactérie va pouvoir se multiplier sur place jusqu'à former un amas de bactéries visible à l'œil nu, que l'on appelle colonie (Si la densité bactérienne est trop élevée dans l'échantillon ensemencé, les colonies sont confluentes et forment une nappe.). L'emploi de milieux solides permet ainsi le dénombrement des bactéries viables dans un échantillon (Nauciel et Vildé., 2005).

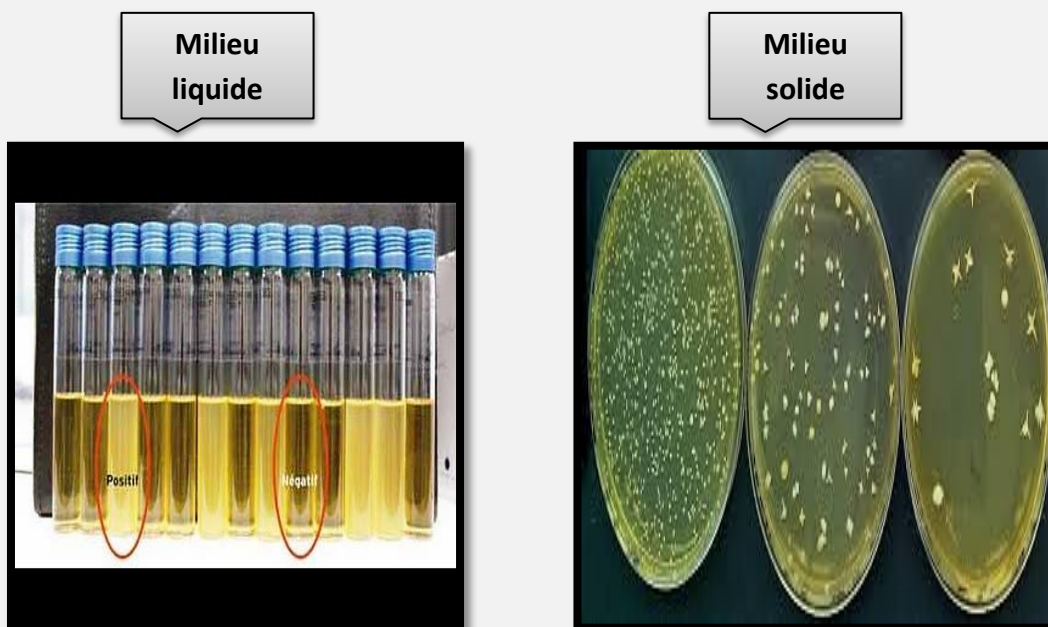


Figure.15 : Culture des bactéries dans deux milieux.

III.1.3. Description des bactéries étudiées

III.1.3.1. *Salmonella* (Gram -)

Les salmonelloses sont des maladies provoquées par des entérobactéries du genre *Salmonella*. La plupart des *Salmonella* sont hébergées dans l'intestin des animaux vertébrés et sont le plus souvent transmises à l'homme par le biais d'aliments contaminés. En pathologie humaine, les salmonelloses comprennent deux principaux types d'affections : gastro-entérites et fièvres typhoïde et paratyphoïde. (François-Xavier Weill et Simon Le Hello., 2013).

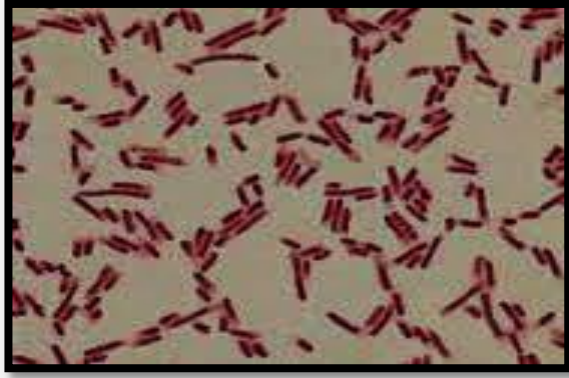


Figure.16 : Bactérie de *Salmonella*.

✓ Prévention

La meilleure protection contre le risque de salmonellose est une bonne cuisson des aliments, en particulier des viandes, à au moins 65°C pendant 5 à 6 minutes. Pour le steak haché congelé ou surgelé, la cuisson doit être effectuée sans décongélation préalable car elle augmente le risque de multiplication bactérienne. Le froid bloque le développement des bactéries mais ne les tue pas (François-Xavier Weill et Simon Le Hello., 2013).

III.1.3.2. *Staphylococcus sp* (Gram +)

Les staphylocoques sont des bactéries impliquées dans des pathologies variées et de degrés de gravité divers. Elles sont un des premiers agents responsables d'infections nosocomiales (infections contractées en milieu hospitalier) mais elles peuvent aussi être contractées en dehors de l'hôpital (infections dites communautaires). Leur habitat naturel est l'homme et l'animal. Elles font partie de la flore cutanée naturelle et colonisent particulièrement les muqueuses externes. Cependant, ces bactéries sont fréquemment retrouvées dans l'environnement (eaux non-traitées, sols, objets souillés).

(Tarek Msadek., 2016).

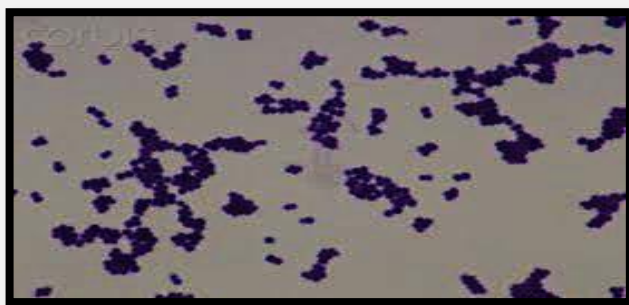


Figure.17: Bactérie de *staphylococcus aureus*.



Figure.18: L'influence du *staphylococcus* sur l'humain.

III.1.3.3. *Streptocoque pyogène* (Gram +)

Les infections à *Streptocoques A* (*Streptococcus pyogènes*) et *B* (*Streptococcus agalactiae*) sont fréquentes. Souvent bénignes (infections non invasives), elles peuvent être aussi très sévères (infections invasives). Le *streptocoque A* provoque des infections bénignes (angine, impétigo) et des infections invasives parfois mortelles (syndrome de choc toxique, fasciite nécrosante), alors que le streptocoque *B* est à l'origine de graves infections néonatales. (Patrick Trieu-Cuot., 2013).

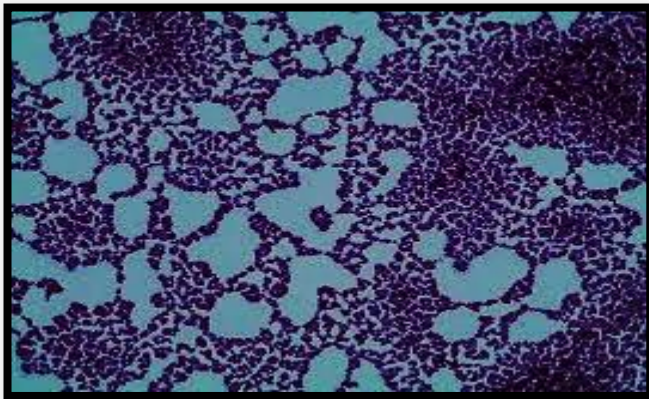


Figure.19 : Bactérie de *streptocoque pyogène*.



Figure.20 : l'influence du *Streptocoque* sur l'humain.

III.1.3.4. *providentia stuartii* (Gram -)

Le genre *Providentia* comprend des bacilles gram-négatifs produisant de l'uréase qui sont responsables d'une large gamme d'infections humaines. Bien que la plupart des infections de *Providentia* impliquent le tractus urinaire, elles sont également associées à une gastro-entérite et à une bactériémie. Les infections à *Providentia* sont peu fréquentes et sont habituellement nosocomiales. Ils représentent un problème émergent en raison de la prévalence croissante de la résistance aux antibiotiques secondaire à la bêta-lactamase (Edward Charbek, MD., 2015)



Figure.21 : Bactérie de *providentia stuartii*.

III.2. Activité antifongique

Les antifongiques (ou antifungiques) tirent leur nom du latin fungus qui signifie champignons. Ce sont donc des médicaments capables de traiter les mycoses, c'est-à-dire les infections provoquées par des champignons microscopiques.

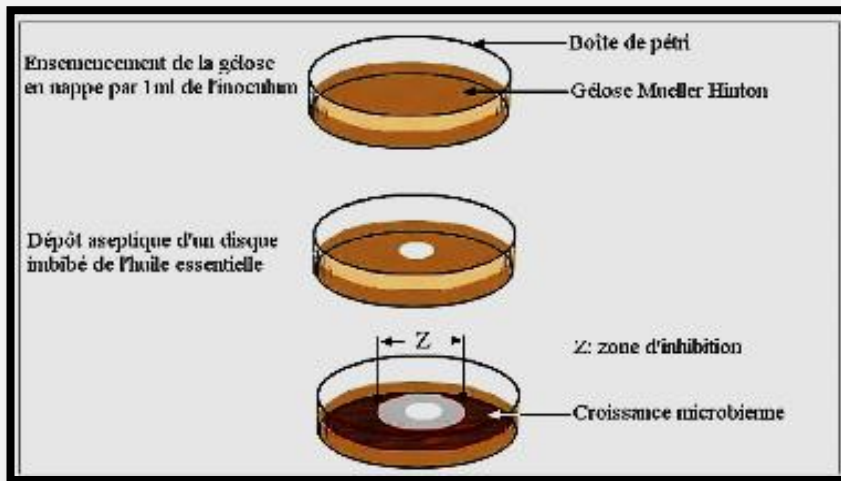


Figure.22 : Les étapes de l'activité antifongique.

✓ Comment agissent les antifongiques ?

Un antifongique agira :

- soit en s'attaquant directement à la paroi fongique, provoquant ainsi la mort de la cellule (action fongicide).
- soit en bloquant la division cellulaire, arrêtant ainsi la reproduction des champignons (action fongistatique) (TR Harrison, éd. Flammarion).

III.2.1. champignons étudiés

III.2.1.1. *Alternaria*

Alternaria est une espèce toxique et pathogène. Elle peut provoquer chez l'Homme des affections épidermiques, des allergies respiratoires, de l'asthme, des leucopénies (dus aux mycotoxines), des mycoses cutanées et des rhinites.

Chez les végétaux, il se présente comme un champignon phytopatogène provoquant divers symptômes, tâches noires, pourriture, rouille, etc. sur les différents organes de la plante (Laurence Dutron., 2012).



Figure.23 : Champignon d'*Alternaria*.

III.2.1.2. *Rhizopus*

Rhizopus est un genre de champignons de la classe des Zygomycètes, un grand groupe de champignons qui se distinguent par leur mode de reproduction sexuée. Les champignons du genre *Rhizopus* sont souvent responsables de zygomycose (ou mucormycose), une infection causée par une colonisation par des champignons Zygomycètes. Ces champignons ont aussi quelques fonctions pratiques. Ils peuvent apparaître sous la forme d'agents pathogènes des plantes dans certaines régions du monde (Mathieu., 2013).



Figure.24 : Champignon de *Rhizopus*.

Matériel et méthodes

I.1. Le matériel végétal

Notre étude a porté sur deux espèces de plantes de deux familles et de deux morphologies différentes :

- la première espèce : *Artemisia Compestris* de la famille *Astéraceae*.



Figure.25 : Plante *Artemisia Compestris*.

- la deuxième espèce : *Ephédra alata* de la famille : *Ephédraceae*.



Figure.26 : plante *Ephedra Alata*.

I.1.1. Récolte de la matière végétale

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

- La première espèce, *Artemisia campestris* a été cueillie dans la région d'Oum El Bouaghi.
- la deuxième espèce, *Ephedra alata* a été récoltée dans la région d'Aris dans la wilaya de Batna, durant la même période, au mois de février 2017.

I.1.2. Conservation (séchage)

Les deux espèces ont été nettoyées et conservées, à une température ambiante dans une pièce à l'abri de soleil. Puis elles ont été séchées et broyées.

Ephédra



Artemisia



Figure.27 : Séchage des matières végétales.

I.1.3. La poudre végétale (broyage)

Les différentes parties d'espèces sont broyées finement dans un mortier à l'aide d'un pilon à l'air ambiant en deux jours.

Artemisia



Ephédra



Figure.28 : Broyage des matières végétales.

I.1.4. 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. Le protocole d'extraction est le même pour les deux espèces.

On prend :

- 1g du poids sec en poudre de chaque organe des deux espèces dans 50ml de S.M.
- 0,5g du poids sec en poudre de chaque organe des deux espèces dans 20ml de solution chloroformique.
- 0,5g du poids sec en poudre de chaque organe des deux espèces dans 20ml de solution étherique.
- 1g du poids sec en poudre de chaque organe des deux espèces dans 10ml de H₂SO₄ à 10% et on agite 3min.
- On a utilisées quatre solvants (Méthanol, Chloroforme, Ether de pétrole, H₂SO₄ à 10%)
- On a laissées macérer dans des flacons de petite taille pendant 2jours (48H) avec une agitation douce de temps à autres.

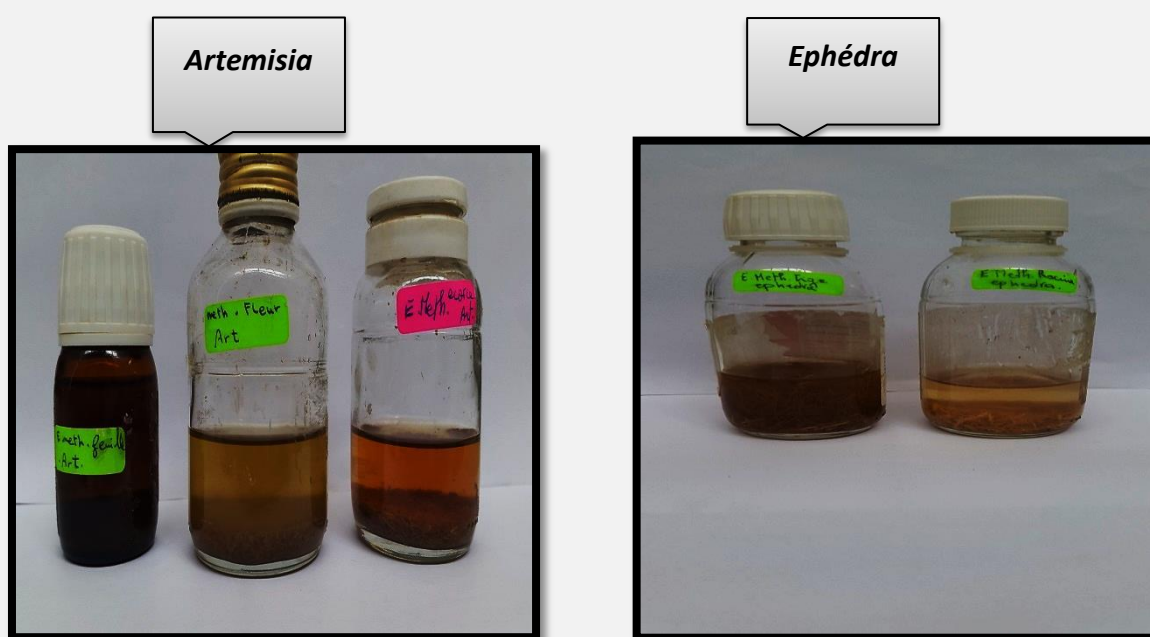


Figure.29: Macération de la matière végétale de chaque espèce pour les tests phytochimiques.

I.1.5. Extraction

La méthode d'extraction que nous avons adoptée est la macération successive par le solvant MeOH (70%). La quantité de solvant doit être appropriée à la quantité de M.V à extraire. Dans notre cas :

- 500 g de la plante *Artemisia compestris* et 300 g de la plante *Ephédra alata* sont broyés et extraits par 3000 ml de MeOH (70%). L'extraction est effectuée sous agitation continue et à une température ambiante, pendant une semaine. Après filtration sur un coton à l'aide d'un entonnoir les filtrats sont additionnés et concentrés à sec par un évaporateur rotatif.



Figure.30 : Macérations des deux plantes pour les tests des activités biologiques.

Cette extraction a permis d'obtenir un extrait organique brut, qui sera récupéré dans des boîtes de pétri stériles puis conservés jusqu'à l'utilisation.

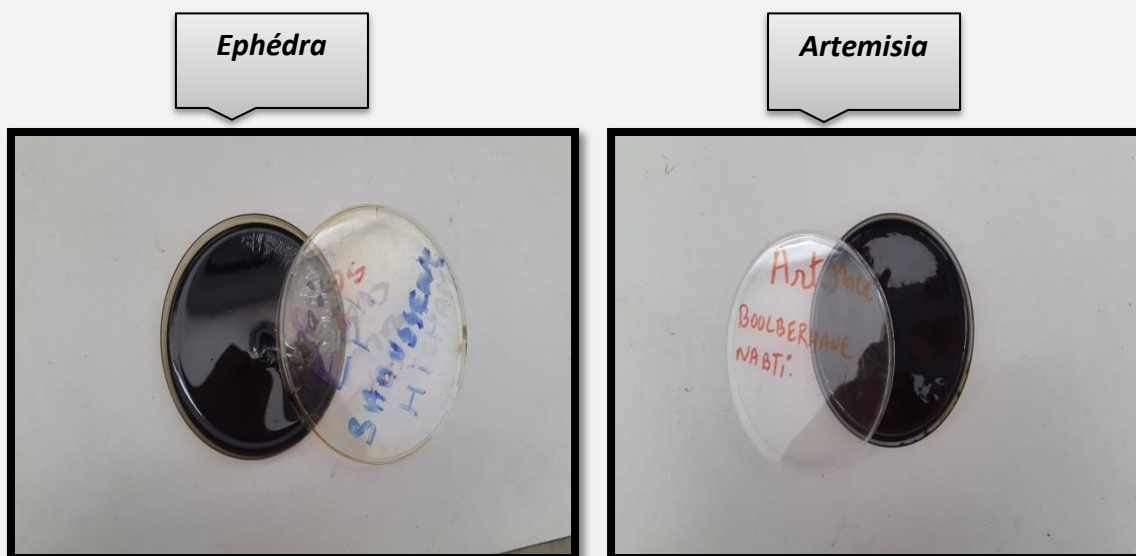


Figure.31 : Extraits brutes concentrés des deux plantes.

I.2. Tests phytochimiques

Les tests phytochimiques sont des techniques qui permettent de déterminer les différents groupes chimiques contenus dans un organe végétal. Ce sont des réactions physicochimiques qui peuvent identifier la présence des substances chimiques.

Il existe plusieurs groupes phytochimiques, dont les principaux sont :

- Les alcaloïdes
- Les polyphénols (flavonoïdes, anthocyanes, tannins, quinones, anthraquinones...etc)
- Les stéroïdes
- Les terpènes

I.2.1. Détection des polyphénols,

Elle se réalise à partir de 2 ml de l'extrait méthanolique des différentes parties de l'*Artemisia campestris* (feuille, fleur, tige) et de l'*Ephédra alata* (tige, racine) qui seront réparties dans des tubes étiquetés par organes, puis on ajoute une goutte de solution aqueuse de chlorure ferrique (FeCl_3) à 5%, la lecture se fera en quelques minutes, qui montreras des polyphénols par l'apparition d'une couleur bleu-noirâtre ou verte.

I.2.1.1. Détection des quinones

Celle-ci utilise des extraits d'éther auquel, on rajoute du NaOH aqueux et on agite durant 5 minutes, la présence des quinones est confirmée par un virage de la phase aqueuse au jaune paille (Ribérreau., 1968).

I.2.1.2. Détection des Anthraquinones

L'extrait de chloroforme de chaque organe des deux espèces auquel on rajoute KOH aqueux, Après agitation de 5 minutes, la phase aqueuse vire vers une coloration rouge ou rose qui indique la présence des anthraquinones. (Rizk, 1982).

I.2.1.3. Détection des flavonoïdes

Un mélange de 2 ml d'extraie méthanolique et de quelque goutte d'HCl avec 4 tournure de Mg placé dans un tube à essai durant 3minutes, l'apparition de la coloration rose, rouge ou orange indique la présence des flavonoïdes (Malec et Pamelio ,2003).

I.2.1.4. Détection des Anthocyanes

✓ Test de Bate-Smith

Traiter les extraits méthanoliques avec HCl concentré puis placer au bain marie pendant 30 min à 70⁰C, la présence d'anthocyanes est confirmée par l'apparition d'une couleur rouge ou brune.

I.2.1.5. Détection des tannins

Les tannins sont mis en évidence à partir de 1ml d'extrait végétal étudié, placé dans un tube à essai en présence de quelques gouttes de FeCl₃ 1% (préparé au méthanol).Après agitation de l'extrait de quelques minutes, la couleur vire :

- au bleu noir en présence de tannins gallique,
- au brun verdâtre en présence tannins catéchiqes (Karumi et Al., 2004).

I.2.2. Détection des alcaloïdes

Pour mettre en évidence les alcaloïdes, le réactif de Mayer a été préparé dans un flacon opaque :

-1g de poudre végétale de chaque organe des deux espèces.

On ajoute H₂SO₄ à 10 %, on agite 3 min puis le filtrat et divisé dans trois tubes à essais.

- Tube 1 : témoin contenant uniquement l'extrait végétal,
- Tube 2 : on ajoute 04 gouttes de Dragendroff,
- Tube 3 : on ajoute trois gouttes de Mayer,
- La présence des alcaloïdes a été confirmée par les réactions suivantes :
 - un précipite blanc pour le réactif du Mayer,
 - un précipite orange pour le réactif de Dragendroff.



Figure.32: Réactif utilisés pour la détection des alcaloïdes.

I.2.3. Détection des Stérols et triterpènes

On met quelques millilitres d'extrait de chaque organe des deux espèces, *Artemisia compestris* et *Ephédra alata*, dans des boîtes de pétris et on a laissé sécher pendant 24 heures à la température ambiante, puis dissoudre le produit dans 12 ml de chloroforme, puis répartir le filtrat dans quatre tubes à essais :

- Tube 1 : témoin.
- Tube 2 : **Test de Salkowski** :

On ajoute quatre gouttes H_2SO_4 , le changement de coloration est immédiate, un anneau rouge indique la présence des stérols insaturés.

- Tube 3 : **Test de Libermann-Burchard** :

Addition de trois gouttes d'anhydride acétique, après agitation on rajoute 1 goutte H_2SO_4 concentré. Le changement est observé en une heure : la coloration bleu-vert indique la présence des stéroïdes tandis que le rouge- violet dénote la présence des triterpènes.

- Tube 4 : **Test de Badjet-Kedde** : Addition de quelque grains d'acide picrique l'apparition d'une coloration orange montre des stéroïdes lactoniques.



Figure.33 : La première étape pour détecter les stérols, Stéroïdes, tritérpènes.

I.2.4. Détection de coumarines

- *Test de détection :*

1 g de matériel végétale en poudre est mélangé dans 10ml de chloroforme, après une agitation de quelques minutes et une filtration dans du coton contenu dans un entonnoir, ce filtrat est soumis à une CCM.

- ✓ La phase mobile est le mélange de : toluène et d'acétate d'éthyle à 18 ml et 7ml chacun.
- ✓ La révélation des plaques se réalise sous une lampe UV à la longueur d'onde utilisée 254nm et 365nm (Erik et *al.*, 2008).

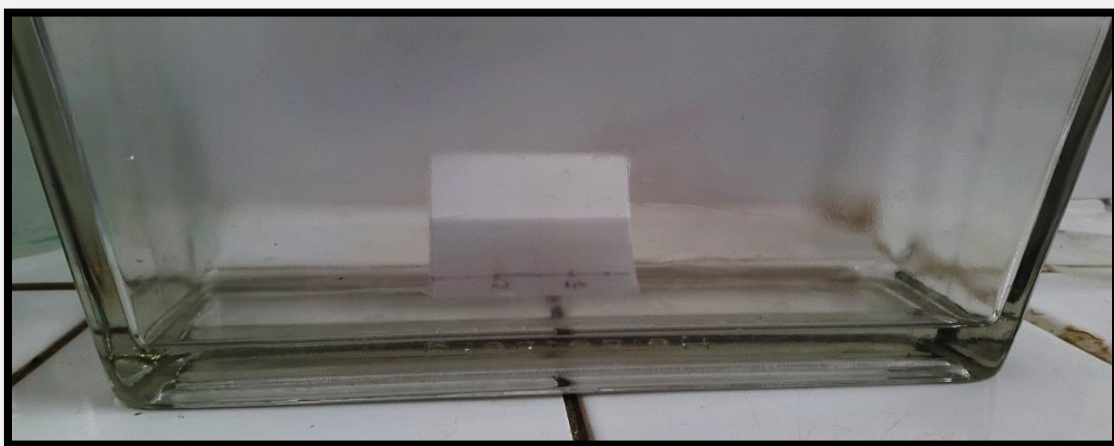


Figure.34: Le développement du chromatogramme.

I.2.5. Chromatographie sur couche mince

I.2.5.1. 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 (phase mobile) monte à travers l'adsorbant (phase fixe) essentiellement par capillarité. Elle repose sur le phénomène d'adsorption.

Les composés migrent à une vitesse qui dépend de leur nature et de la nature des deux phases.

Elle comprend :

- ✓ **La phase fixe** : Une couche mince d'une matière absorbante gel de silice fixée sur une plaque en aluminium.
- ✓ **La phase mobile ou éluant** : un solvant ou un mélange de solvants qui va entraîner les composés à séparer le long de la phase fixe.

Tableau.02: Les différents systèmes solvants utilisés pour la CCM.

	Systèmes solvants	Proportions
Systèmes essayés	1-Acétate d'éthyle /Méthanol/Eau.	(11/2/1 ; v/v)
	2-Chloroforme/Méthanol.	(10/2 ; v/v)
	3-Ether de pétrole/Acétate d'éthyle.	(16/4 ; v/v)
	4-Butanol/Acide acétique/Eau	(4/1/5 ; v/v)
Systèmes choisis	1-Acétate d'éthyle/Méthanol/Eau.	(11/2/1 ; v/v)
	4-Butanol/Acide acétique/Eau.	(4/1/5 ; v/v)

I.2.5.2. Dépôt de l'échantillon

L'échantillon est dilué dans un solvant volatil, qui est déposée à l'aide d'une pipette pasteur sur un point qui se situe à environ 1cm de la bordure inférieure de la plaque. Le dépôt doit être effectué de façon homogène. (Cours de Me BOUCHOUKH).

I.2.5.3. Développement de la plaque

C'est la migration de l'éluant à travers la plaque.

- On doit préparer la cuve, elle doit être préalablement saturée de la vapeur de l'éluant.

- On à placer la plaque dans la cuve verticalement.
- La cuve doit rester fermée et ne pas être déplacée durant le développement de la plaque.
 - Lorsque le front du solvant (le trait qui représente la migration de l'éluant dans la plaque) arrive à environ 2cm de l'extrémité supérieure de la plaque, on à retirer cette dernière de la cuve et on à marquer avec un crayon le front du solvant avant l'évaporation de l'éluant.

La plaque est séchée à l'air libre. (Cours de Me BOUCHOUKH)



Figure.35: développement de la plaque.

I.2.5.4. Révélation

✓ **Révélation par UV :**

La révélation des plaques se réalise sous une lampe UV à la longueur d'onde utilisée 254 et 365nm (Erik et Al., 2008).

Si la plaque est fluorescente, sous une lampe UV, toute la plaque apparait verte sauf la ou sont les taches que l'on entoure au crayon.

Les dérivés aromatiques absorbent dans l'UV. Placer la plaque sous une lampe UV et entourer les taches colorées (Levine S.G.,1990).

I.3. Activités biologiques

I.3.1. Activité antibactérienne

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

Les souches utilisées pour déceler l'activité antibactérienne des extraits d'*Artemisia compestris* L. et *Ephédra alata* Staph. sont dix souches.

Tableau.03 : Souches testés dans l'activité antibactérienne.

Les souches	Milieux de conservations	Les durées	Grams
<i>Salmonella sp</i>	Eau physiologique	24 heures	-
<i>Bacillus cereus</i>	Eau physiologique	2 heures	+
<i>Entérocoque sp</i>	BCC	24 heures	+
<i>Pseudomonas sp</i>	Eau physiologique	2 heures	-
<i>Staphylocoque sp</i>	Eau physiologique	3 heures	+
<i>Serratia sp</i>	BCC	2 heures	-
<i>Providentia sp</i>	BCC	2 heures	-
<i>Streptocoque sp</i>	Eau physiologique	2 heures	+
<i>Proteus mirabilis</i>	BCC	3 heures	-
<i>Acinetobacter sp</i>	BCC	4heures	-

I.3.1.1. Echantillonnage

Nous avons choisis deux espèces des plantes médicinales communes:

- *Artemisia compestris* L. (Famille : *Asteraceae*).

Nommée localement *Tghouft* est récoltée le mois de février 2017 de la zone d'Oum El Bouaghi.

- *Ephédra alata* Staph. (Famille : *Ephédraceae*).

Nommée localement *Alanda* est récoltée dans la région d'Arif dans la wilaya de Batna, durant la même période, au mois de février 2017.

✓ **Autre matériels**

Dans cette expérimentation nous avons utilisés les matériels est présenté dans le tableau ci-dessous.

Tableau.04 : Représente les matériels utilisés.

Verreries	Appareils	produits
Boîtes de pétris	Bain Marie	Eau distillée
Erlenmeyer	Autoclave	Ethanol
Entonnoir	Étuve	Méthanol
Bécher	Bec benzène	Eau physiologique
Pissette	Balance de précision	BCC
Papier filtre	Lance de platine	Gélose (poudre)
Tubes à essai	La haute, pince	Eau de javel
Falcon	Agitateur	Torchant
Papier wattman (4)	Rotavap	

I.3.1.2. Ensemencement du milieu de culture en boites de pétri et dépôt des disques

On coulés dans des boites de pétri 9 ml de gélose Muller Hinton. L'épaisseur du milieu doit être de 4 mm car une couche plus fine augmente la taille de la zone d'inhibition ce qui peut donner un faux résultat.

1 ml d'inoculum bactérien est d'posé et étalé sur la surface du milieu de Muller Hinton à l'aide d'un étaloire. Un mouvement circulaire en forme de huit permet de bien répartir la suspension bactérienne sur toute la surface du milieu. Le liquide en excès est aspiré avec une pipette Pasteur stérile (Neggaz.S, 2010).

A l'aide d'une pince stérile, 4 disques de 6 mm de diamètre, imprégnés de 10 µl des quatre concentrations de l'extrait méthanolique d'*Artemisia compestris L.* et *Ephédra alata Staph.* à tester sont aseptiquement déposé sur la surface du milieuensemencé.

I.3.1.3. préparation de milieu de culture

Dans notre travail nous avons utilisé comme milieu de culture, La gélose Mueller-Hinton pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux différents extraits d'*Artemisia compestris L.* et *Ephédra alata Staph.*

- Agitation de 19 g de gélose en poudre dans 50 ml d'eau distillé.
- Verser la gélose aqueuse dans des flacons pour la stérilisation.



Figure.36 : Préparation de milieu de culture.

I.3.1.4. Préparation des boîtes

- La gélose **Mueller- Hinton** stérile bouillie dans un bain marie pendant 1 heure du temps.
- Couler la gélose dans les boîtes de pétris dans une zone stérile jusqu'à une épaisseur de 4 à 5 mm.
- Laisser 1 heure pour la solidification.

I.3.1.5. Préparation de différentes concentrations

Dans ce travail, on fait quatre concentrations pour chaque espèce :

- On a récupérés l'extrait brut des deux espèces par le solvant EtOH.

Les différentes concentrations sont :

- [C₁] = 0,25 mg
- [C₂] = 0,5 mg
- [C₃] = 0,75 mg
- [C₄] = 1 mg



Figure.37 : Différents concentration des deux espèces.

I.3.1.6. Tests antimicrobiens

Afin d'évaluer l'activité antimicrobienne des extraits de la plante, nous avons utilisé la méthode de diffusion en milieu gélosé (antibiogramme), celle-ci permet de déterminer la sensibilité et les résistances des souches à partir d'une gamme de concentrations d'extraits.

L'absence de croissance bactérienne se traduit par un halo translucide autour du disque dont le diamètre est mesuré et exprimé en millimètre.

I.3.1.7. Application

Des disques de papier filtres stériles Whatmann de 6 millimètres de diamètre sont imprégnés de différentes concentration des extraits préalablement dissouts dans l'éthanol.

À l'aide d'une pince stérile les disques sont déposés à la surface d'un milieu ensemencé (étalé) par une suspension microbienne. Après diffusion, les boîtes sont incubées pendant 24 heures à 37 °C. Après l'incubation l'effet des extraits se traduit par l'apparition autour de disque d'une zone circulaire transparente correspondant à l'absence de la croissance. Plus le diamètre de cette zone est grand plus la souche est sensible (Choi et *al.*, 2006).

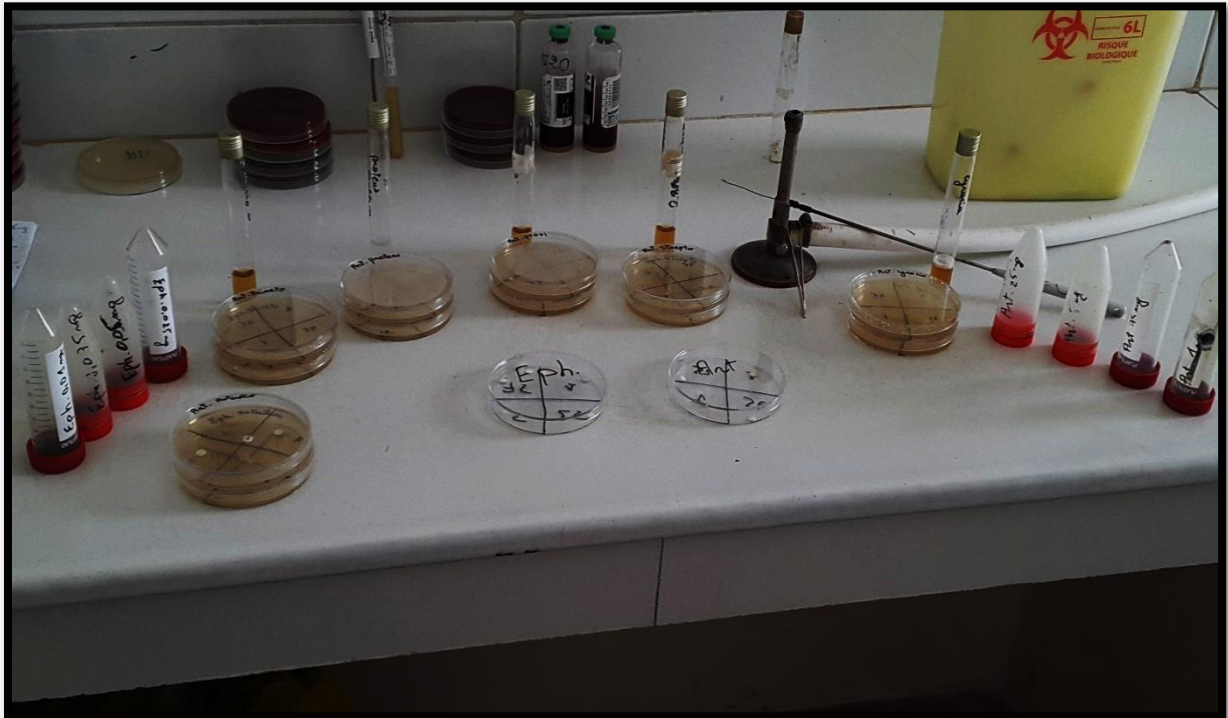


Figure.38 : Payasse de travail au laboratoire de bactériologie (CHU).

I.3.2. Activité antifongique

Pour la réalisation de l'activité antifongique on a adopté la méthode de diffusion de disques (même méthode de l'activité antimicrobienne).

Ce test est réalisé au niveau du laboratoire de biologie physiologie végétale (laboratoire N°02).

Tableau.05 : Préparation des champignons.

Champignons	Milieu de culture	incubation
<i>Alternaria sp</i>	Gélose Muller-Hinton	5 jours
<i>Rhizopus sp</i>	Gélose Muller-Hinton	5 jours

I.3.2.1. Application

À l'aide d'une pince stérile les disques sont déposés à la surface d'un milieuensemencé (étalé) par une suspension fongique. Après diffusion, les boites sont incubées pendant 5 jours à 37 °C. Après l'incubation l'effet des extraits se traduit par l'apparition autour de disque d'une zone circulaire transparente correspondant à l'absence de la croissance

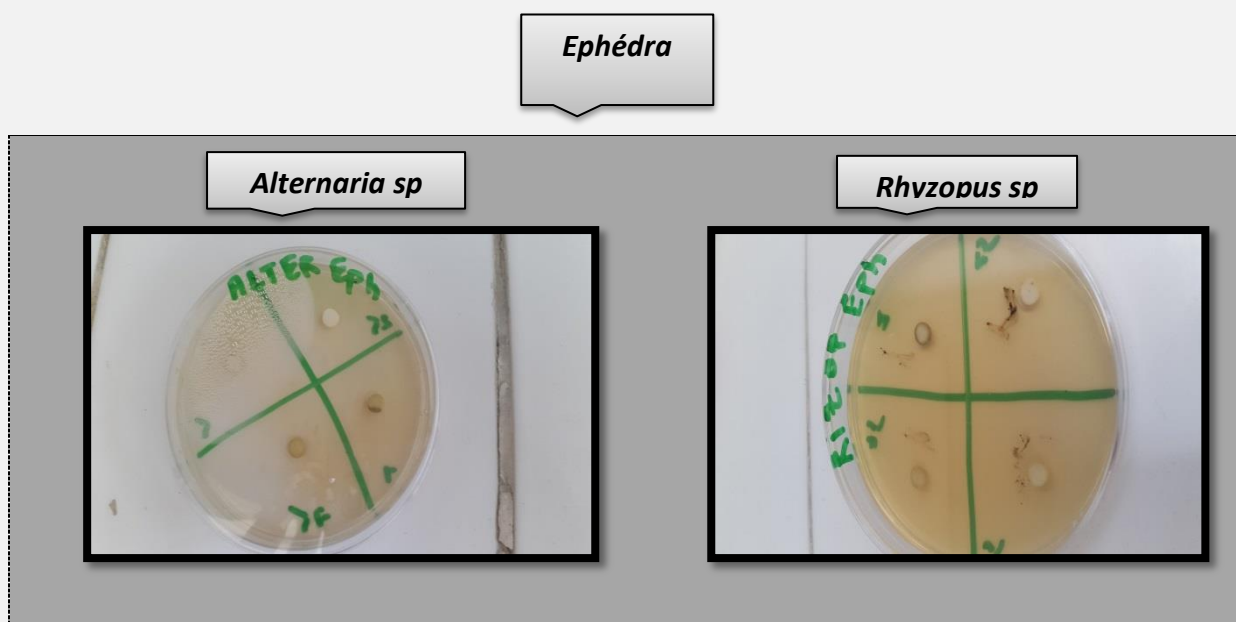


Figure.39: Préparation de l'activité antifongique pour *Ephedra alata* Staph.

Artemisia

Rhizopus sp

Alternaria sp



Figure.40: Préparation de l'activité antifongique pour *Artemisia compestris L.*

Résultats et discussion

II.1. Screening phytochimique des métabolites secondaires

La mise en évidence de divers groupes de substances existants dans les deux espèces étudiées a été basée sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactions spécifiques. Les tests de précipitations ont permis de mettre en évidence des différents métabolites secondaire successivement les tannins et les alcaloïdes tandis que les tests de coloration en solution pour mettre en évidence les flavonoïdes, les anthocyanes, les terpènes, les quinones et les anthraquinones.

Les résultats des criblages phytochimiques sont résumés dans le Tableau 06. Il révèle la présence ou l'absence d'un groupe de métabolite secondaire.

- Réaction positive : (+++) Très abondant.
- Réaction moyennement positive : (++) Moyenne.
- Réaction faiblement positive : (+) Faible.
- Réaction négative : (-) Absent.

Les résultats sont consignés dans le tableau ci-dessous.

Métabolites secondaires dans les plantes leur confère la protection contre les bactéries, les champignons et les attaques pesticide et sont donc responsables de l'effort d'activité antimicrobienne contre certains micro-organismes (MARJORIE, 1999).

Tableau.06: Mise en évidence de la présence ou de l'absence de certaines familles de métabolites secondaires

Les métabolites secondaires	<i>Artemisia compestris</i>			<i>Ephédra alata</i>	
	Feuilles	Fleure	Ecorce	Tige	Racine
Polyphénols	+++	+++	++	++	+++
Flavonoïdes	+++	+++	++	++	++
Anthocyanes	+++	++	+	-	-
Anthraquinones	+++	+++	-	-	+++
Quinones	++	+	-	-	++
Tannins	+	+	+	+	+
Alcaloïdes	/	/	/	++	+++
Stérols	+	++	++	+	+++
Tritéropéne	+	+	+	+	++

Ces deux plantes sont donc riches en métabolites secondaires, la plupart de ces résultats sont conformes à ceux de Kessal et Bouafia (2003) sur la même espèce de la région de Ouargla. L'abondance en principes actifs confère à la plante des propriétés pharmacologiques remarquables (Konkon et *al.*, 2006)

II.1.1. Les polyphénols

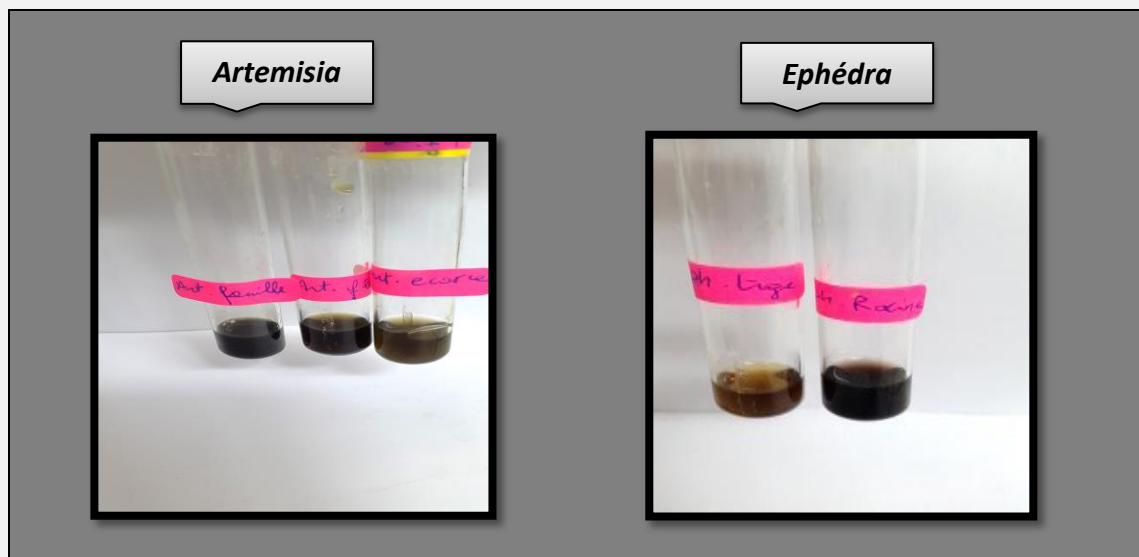


Figure.41 : Detection des polyphénols.

- Le criblage des polyphénols a montré que les deux espèces *Artemisia compestris* et *Ephédra alata* sont très riches en polyphénols.
- Les résultats obtenus révèlent que les extraits des deux plantes possèdent presque les mêmes compositions chimiques. La caractérisation chimique des deux plantes a démontré la présence des polyphénols sous forme de tanins, flavonoïdes, anthocyanes...etc.
- Les mêmes extraits ont réagi positivement vis-à-vis du test chimique recherchant (Tableau-06).

Selon Djeridane et al., (2006) dans une étude faite sur onze plantes médicinales dont *Artemisia compestris*, ont déterminé la teneur en polyphénols de la partie aérienne d'un extrait éthanolique 70% ils ont trouvé que la teneur des polyphénols est de 20.38 mg EAG/g Ps, cette teneur est relativement élevée.

Cette différence dans les teneurs peut être expliquée par les conditions environnementales, climatiques et période de collecte ainsi que par les facteurs génétiques et les conditions expérimentales.

II.1.1.1. Criblage des quinones et anthraquinones

Le screening phytochimique a montré la présence des quinones dans les feuilles d'*Artemisia compestris* sont moyennement positive, dans les fleurs faiblement positive et absent dans l'écorce. Alors que l'absence des quinones dans la partie aérienne d'*Ephédra alata* et moyennement positive dans les racines. (Tableau-07).

Le réactif KOH, utilisé pour la détection des anthraquinones a révélé que les feuilles et fleurs de l'espèce *Artemisia compestris* et les racines d'*Ephédra alata alenda* sont riches en ces métabolites secondaires. (Tableau.07).

Tableau.07 : Résultat de criblage des quinones et anthraquinones

Métabolites secondaires	<i>Artemisia compestris</i>			<i>Ephédra alata</i>	
	Feuilles	Fleurs	Ecorce	Tiges	Racine
Quinones	++	+	-	-	++
Anthraquinones	+++	+++	-	-	+++

- : Test négatif

+ : Test faiblement positif

++ : Test moyennement positif

+++ : Test fortement positif

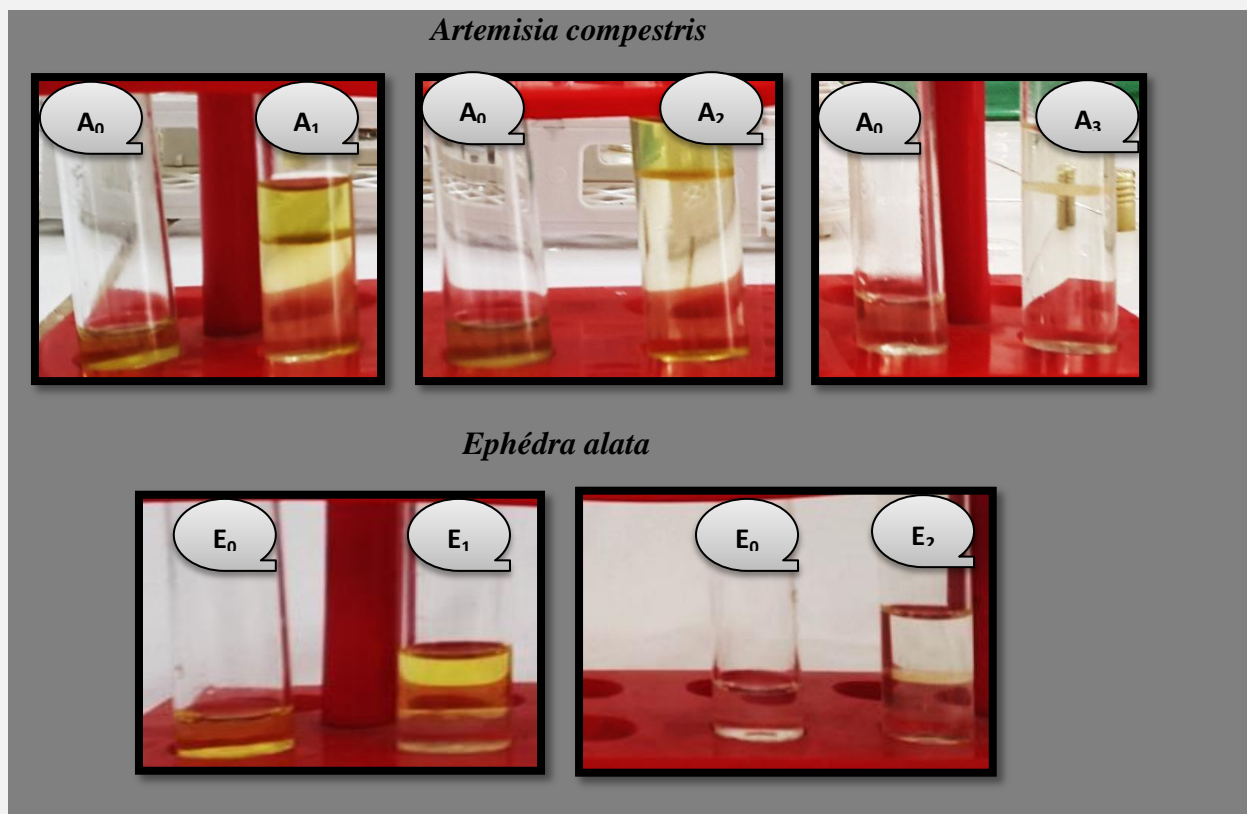


Figure.42 : Détection des quinones.

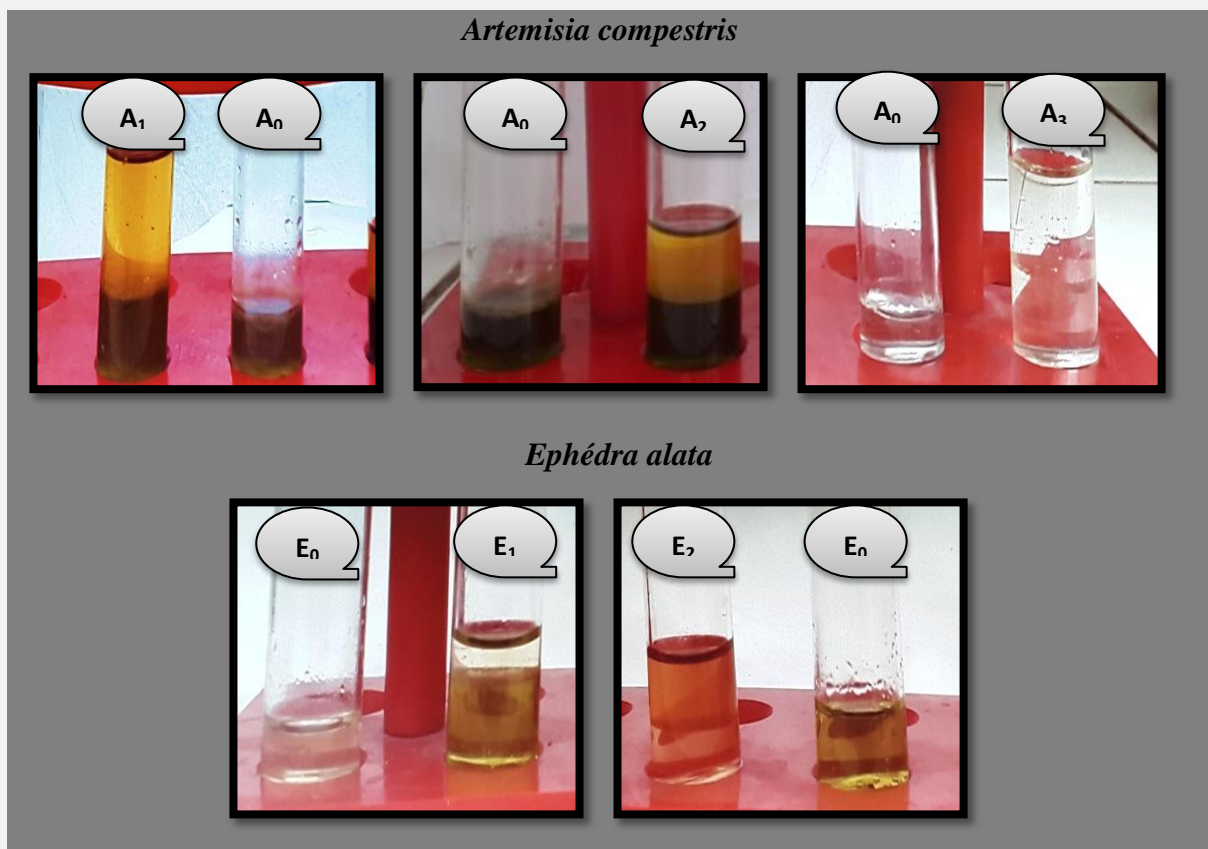


Figure.43 : Detections des Anthraquinones.

II.1.1.2. Criblage des flavonoïdes et anthocyanes

Les tests phytochimiques ont élucidé que les feuilles, fleurs d'*Artemisia campestris* est très abondants avec une réaction moyennement positive pour l'écorce. Alors que les tiges et les racines d'*Ephédra alata* sont moyennement positives. (Tableau.08)

Selon (Saoudi et al., 2010 ;Akrouit et al., 2011), la teneur en flavonoïdes de l'espèce étudiée semble légèrement inférieure à celles trouvées par d'autres auteurs pour la même espèce toutefois la teneur en flavonols, à notre connaissance, n'a pas encore fait l'objet de déterminations sur cette espèce.

Le criblage phytochimique des anthocyanes a révélé une forte concentration de ces molécules dans les feuilles, les fleurs et l'écorce de l'espèce *Artemisia campestris*.

Les tiges et racines de la plante *Ephédra alata alenda* sont dépourvues de ce type de flavonoïdes. (Tableau.08)

Tableau.08 : Résultats de criblage des flavonoïdes et anthocyanes

Métabolites secondaires	<i>Artemisia compestris</i>			<i>Ephédra alata alenda</i>	
	Feuilles	fleurs	Ecorce	Tiges	Racines
Flavonoïdes	+++	+++	++	++	++
Anthocyanes	+++	++	+		

- : Test négatif

+ : Test faiblement positif

++ : Test moyennement positif

+++ : Test fortement positif

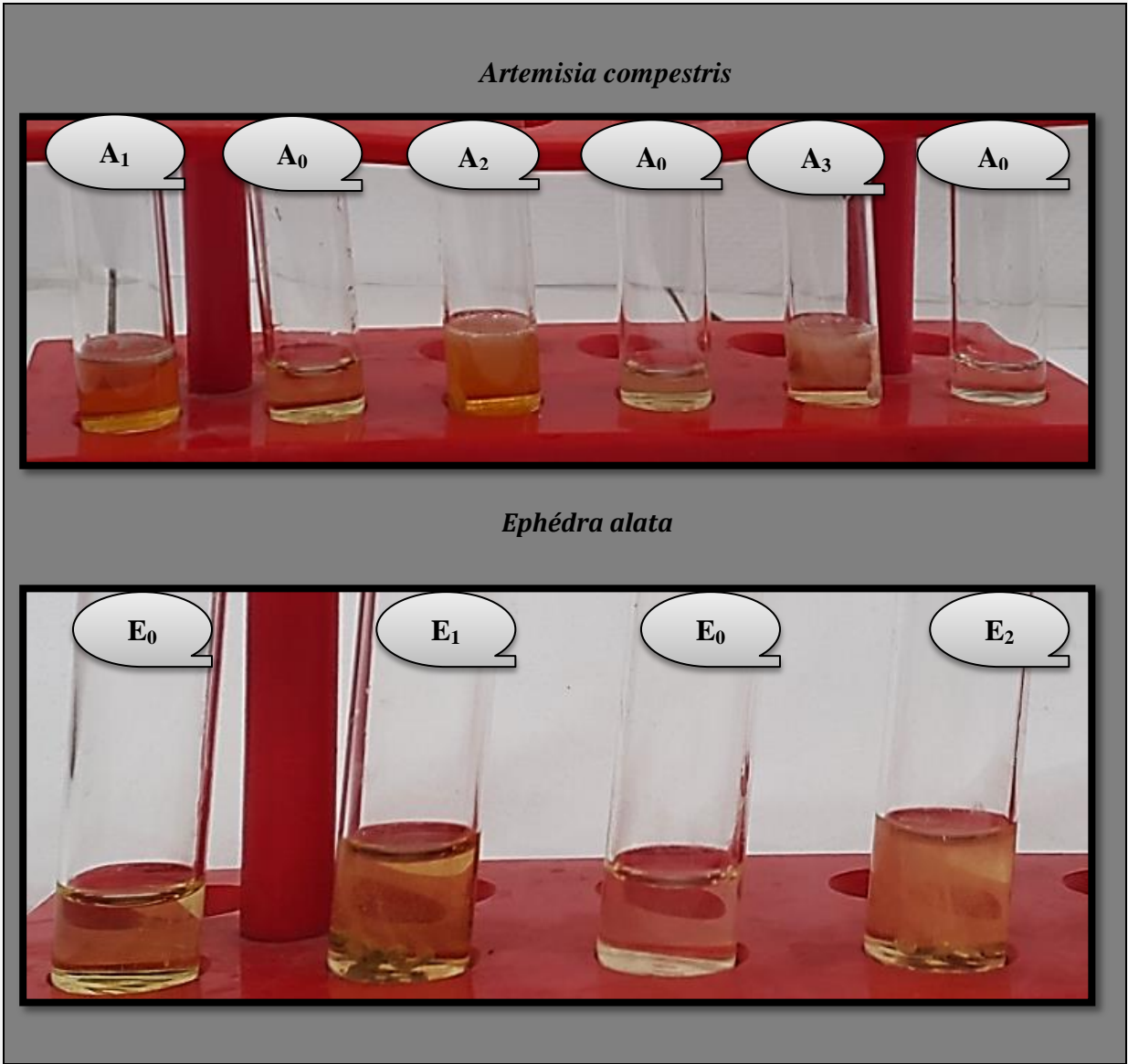


Figure.44 : Photographies des flavonoïdes.

Artemisia compestris

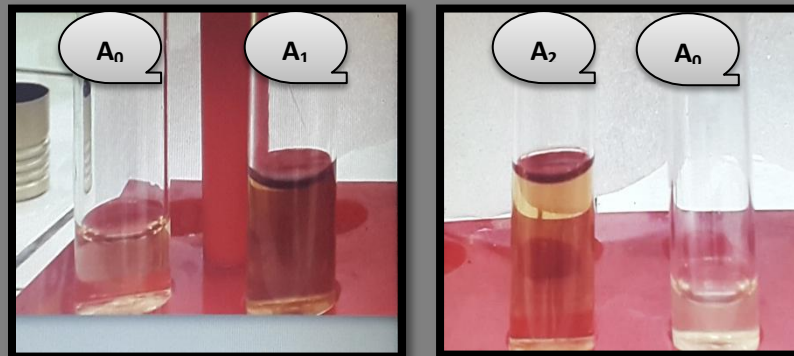


Figure.45 : Photographies des Anthocyanes.

II.1.1.3. Criblage des tannins

Selon les réactifs utilisés pour la détection des tannins il apparaît que tous les organes des deux plantes sont riches en tannins gallique et catechique. Dans notre cas il apparaît qu'il y' a deux couleurs différentes de tannins dans l'*Ephédra* : Marron foncé pour les tiges et rouge noire pour les racines (Tableau-09).

Tableau.09 : Résultats de criblage des tannins.

		<i>Artemisia compestris</i>			<i>Ephédra alata</i>	
	Réactifs	Feuille	Fleur	Ecorce	Tige	Racine
Tannins	Gélatine	+++	+++	+++	+++	+++
	FeCl₃	+++	+++	+++	+++	+++

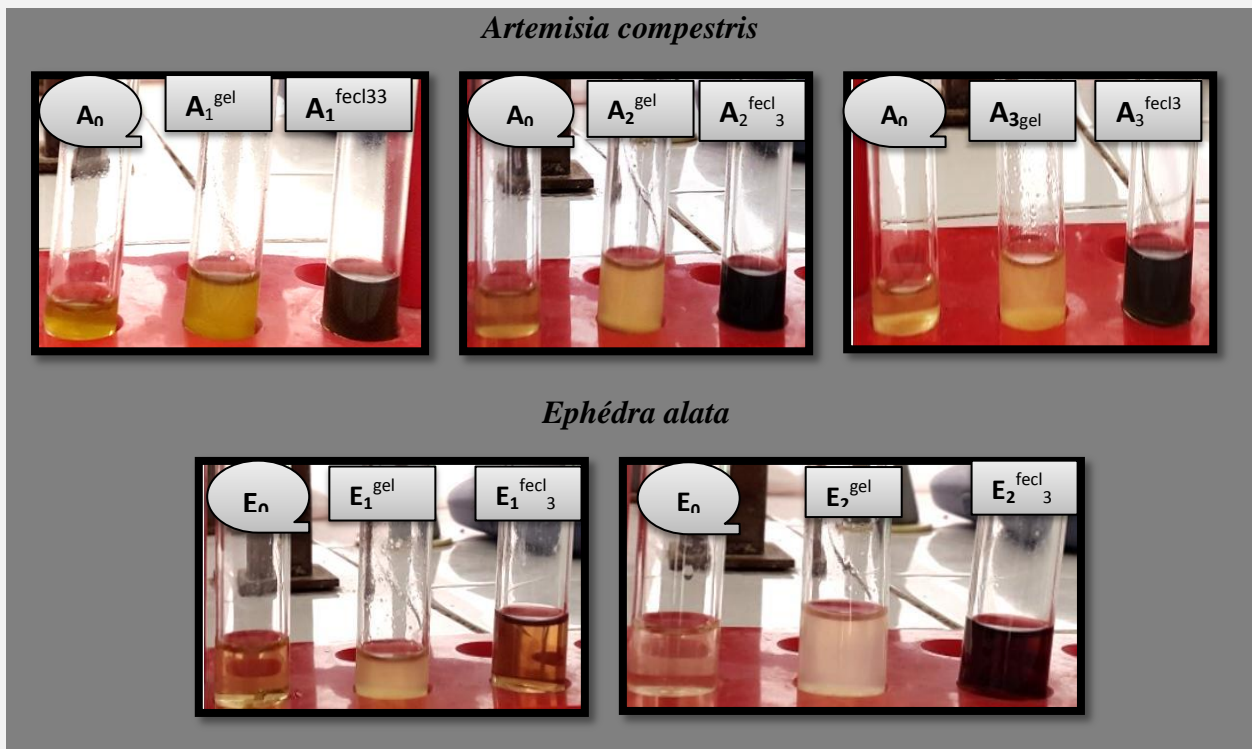


Figure.46 : Détection des tannins.

Les travaux de (BANSO et ADEYEMO., 2007) ont démontré que les tanins isolés des plantes médicinales possèdent une activité toxique contre les champignons.

Selon Kebili Zohra (2016), les deux parties des deux plantes se différencient dans leur composition en certains métabolites secondaires à savoir, les tannins galliques et catéchiques, les flavonoïdes et les dérivés anthracéniques. Les croyances chinoises prétendent que la partie aérienne et souterraine de l'Ephédra ont des effets opposés (Hikino et *al.*, 1982), cela est peut-être dû à la différence en leur composition chimique signalée par ces tests.

II.1.2. criblage des Alcaloïdes

L'espèce, *Ephédra alata alenda* de la famille Ephedraceae paraît riche en alcaloïdes, surtout dans les tiges et les racines. L'*Artemisia compestris*, de la famille Asteraceae ne contiennent pas de ces drogues, qui sont testés dans les feuilles, fleurs, et écorce, qu'on a observés avec un précipité blanc pour le réactif du Mayer et un précipité rouge pour le réactif de Dragendorff (Tableau.10).

Selon Kebili Zohra (2016), Les tests préliminaires réalisés au préalable ont permis de mettre en évidence la présence des alcaloïdes et des composés phénoliques dans les deux plantes. Les deux classes précédentes de métabolites secondaires sont connues pour leur

importance biologique. Les alcaloïdes sont dotés de propriétés pharmacologiques et toxicologiques marquées alors que les composés phénoliques présentent une large gamme d'activités biologique (Bruneton, 2009; Ikan, 1991).

Tableau.10 : Résultats de criblage des alcaloïdes.

Métabolites secondaires	<i>Artemisia compestris</i>			<i>Ephédra alata alenda</i>	
	Feuilles	fleurs	Ecorce	Tiges	Racines
Alcaloïdes	-	-	-	+++	+++

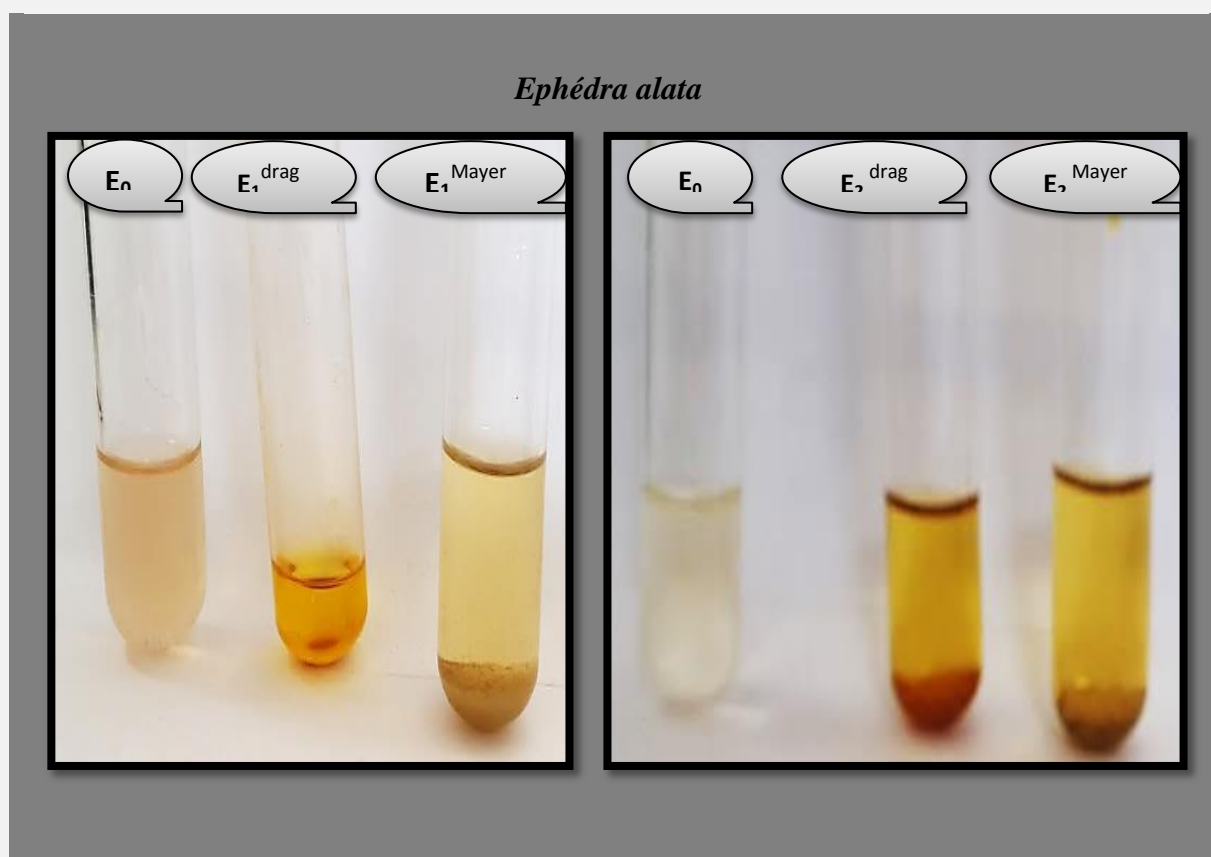


Figure.47 : Photographie des Alcaloïdes.

II.1.3. criblage des stérols et triterpènes

Le criblage phytochimique des stérols insaturés, a montré que les feuilles et écorce sont les organes qui contiennent plus de stérols, suivi des feuilles chez l'espèce étudié

Artemisia campestris. Tandis que les racines d'*Ephédra alata alenda* sont très riches en stérols insaturés. Les triterpènes, existent presque dans tous les organes testés des deux espèces avec des quantités moyennement positive (Tableau.11).

Tableau.11 : Résultats de criblage des stérols et tritérpènes.

Métabolites secondaires	<i>Artemisia campestris</i>			<i>Ephédra alata alenda</i>	
	Feuilles	Fleurs	Ecorce	Tiges	Racines
Stérols	+	++	++	+	+++
Tritérpènes	+	+	+	+	++

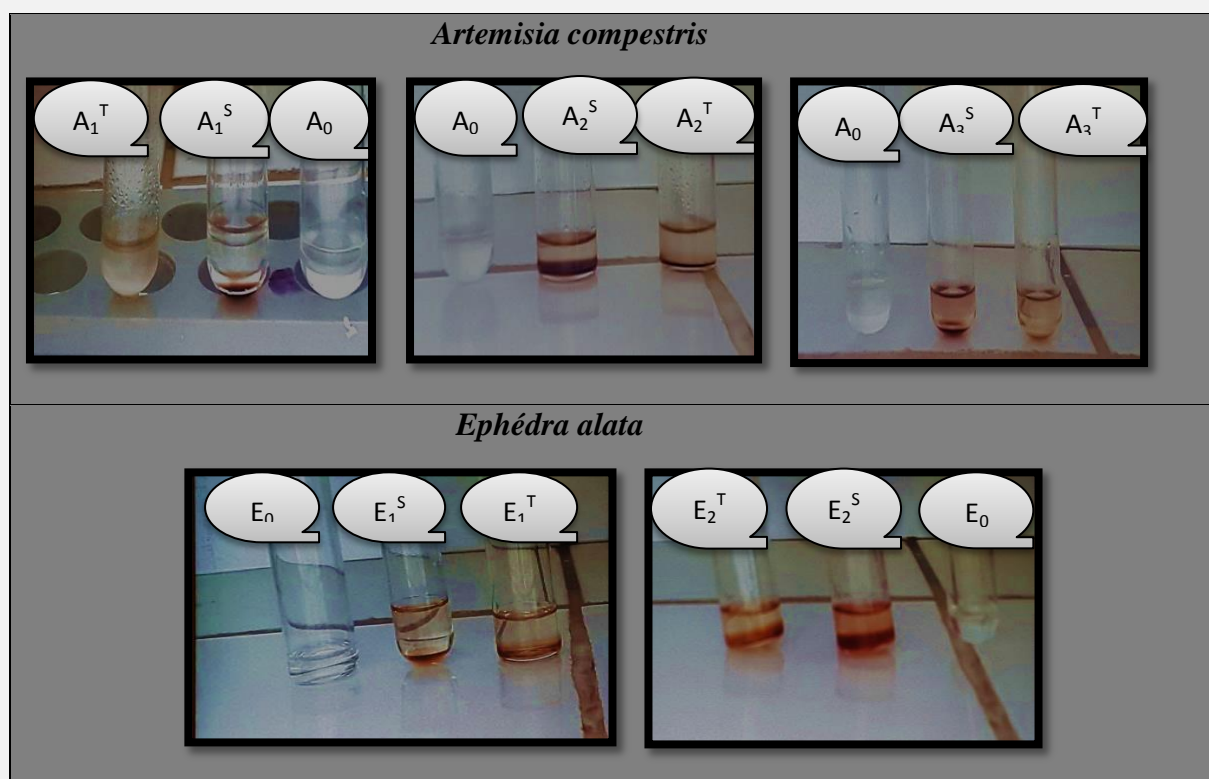


Figure.48 : Photographie des stérols et triterpènes.

II.1.4. Chromatographie sur couche mince des coumarines

Dans ce criblage, on a choisi la méthode de la chromatographie sur couche mince pour la détection des coumarines avec une révélation sous une lampe UV à deux longueurs d'ondes utilisées (254 et 365 nm).

Le tableau-12 montre que les deux plantes *Artemisia compestris* et *Ephédra alata* sont très riches en différents composés de coumarines.

Tableau.12 : Chromatogrammes des Coumarines des extraits EM.Art et EM.Eph à 254 nm.

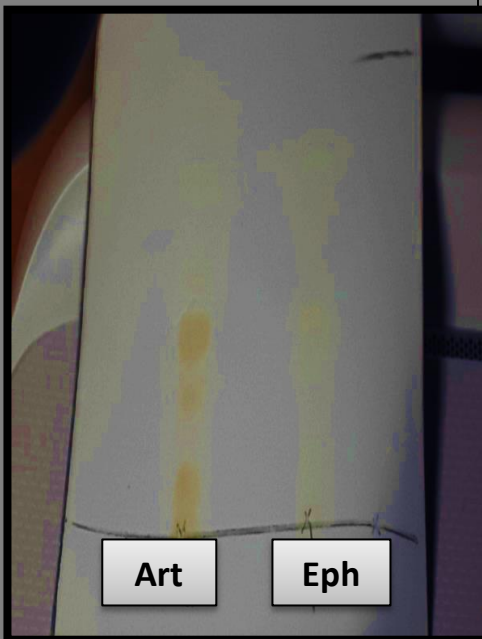
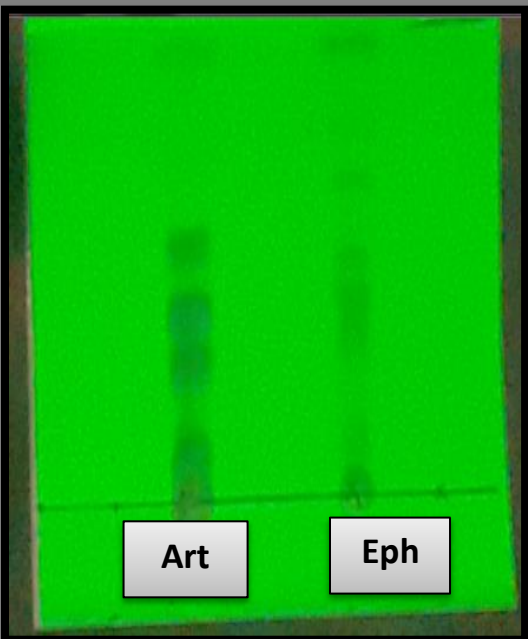
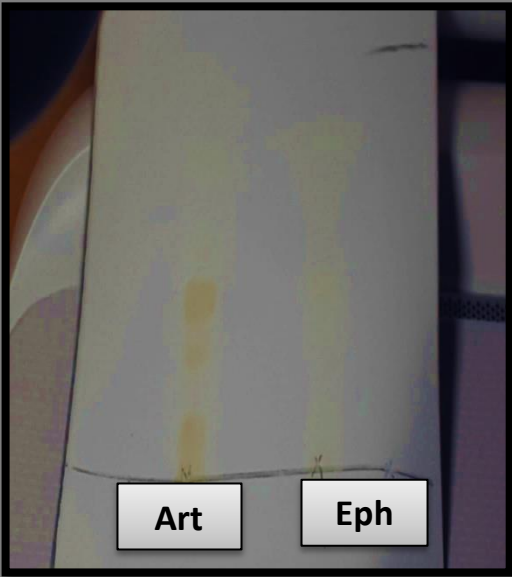
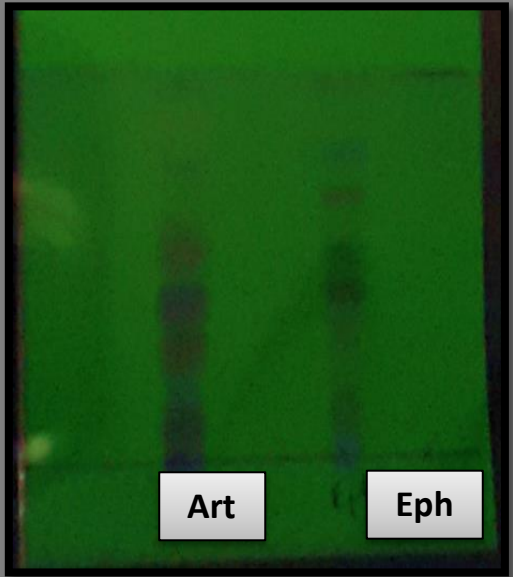
Lampe UV (254 nm)		
Espèce	Révélation visuelle	Révélation sous la lampe UV
<i>Artemisia compestris</i>		
<i>Ephédra alata</i>		

Tableau.13 : Chromatogrammes des Coumarines des deux extraits à 365 nm.

Lampe UV (365 nm).		
Espèces	Révélation visuelle	Révélation sous la lampe UV
<i>Artemisia compestris</i>		
<i>Ephédra alata</i>		

II.2. Activités biologiques

II.2.1. Evaluation de l'activité antibactérienne

On observe que les différents types de souches réagissent différemment aux extraits hydromécanoliques d'*Artemisia compestris L.* et *Ephédra alata alenda Staph.* Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre et d'un extrait à un autre. La variation de l'activité antimicrobienne des extraits explique les variations de leurs compositions chimiques.

Tous les extraits ont réagi positivement au moins sur une des souches microbiennes testées ce qui confirme que les deux plantes d'*Artemisia compestris L.* et *Ephédra alata alenda Staph.* sont douées de propriétés antimicrobiennes sauf pour la souche *Acinetobacter sp* il y'a une absence de zones d'inhibitions. Les résultats de l'activité antibactérienne et antifongique testées a permis d'obtenir les résultats suivantes. Pour faciliter la discussion des résultats, l'analyse statistique de données présentées dans ces tableaux s'est faite par le test ANOVA suivi par le test Newman-Keuls .

Tableau.14 : Effet inhibiteur de l'extrait EM.Art sur la croissance des germes testés.

Micro-organismes	Diamètres d'inhibition en (mm)			
	Concentration en (mg /ml)			
	0,25	0,5	0,75	1
<i>Salmonella sp</i>	6	10	14	16
<i>Bacillus cereus</i>	6	8	10	18
<i>Entérocoque sp</i>	10	14	15	17
<i>Pseudomonas sp</i>	9	12	14	15
<i>Staphylocoque sp</i>	11	13	14	13
<i>Serratia sp</i>	4	7	10	12
<i>Providentia sp</i>	7	12	14	17
<i>Streptocoque sp</i>	8	10	13	15
<i>Proteus mirabilis</i>	8	11	12	19
<i>Acinetobacter sp</i>	/	/	/	/

Artemisia compestris L.



Figure.49 : Zone d'inhibitions des souches en présence de différentes concentrations d'extrait *Artemisia compestris L.*

Tableau.15 : Diamètre d'inhibition de la croissance des germes testés d'EM.Eph

Micro-organismes	Diamètres d'inhibition en (mm)			
	Concentration en (mg /ml)			
	0,25	0,5	0,75	1
<i>Salmonella sp</i>	10	13	17	23
<i>Bacillus cereus</i>	5	7	9	10
<i>Entérocoques sp</i>	8	13	15	18
<i>Pseudomonas sp</i>	8	14	15	18
<i>Staphylocoque sp</i>	7	12	15	20
<i>Serratia sp</i>	7	12	15	20
<i>Providentia sp</i>	8	11	15	19
<i>Streptocoque sp</i>	10	12	20	26
<i>Proteus mirabilis</i>	9	15	18	20
<i>Acinetobacter sp</i>	/	/	/	/

***Ephédra alata* Staph.**



Figure.50 : Zone d'inhibitions des souches en présences de différentes concentrations d'extrait *Ephédra alata* Staph.

L'antibiogramme consiste à chercher la sensibilité des souches vis-à-vis des antibiotiques, le (tableau.14 et 15) rapportes les valeurs en mm des zones d'inhibitions manifestées par les antibiotiques sur les différentes souches étudiées.

10 antibiotiques standards sont testés sur 10 souches bactériennes gram (+) et gram (-), on observe que les différents types de souches réagissent différemment aux antibiotiques et aux extraits étudiés.

Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre et d'un extrait à un autre. La variation de l'activité antimicrobienne des extraits explique les variations de leurs compositions chimiques.

Tous les extraits ont réagi positivement au moins sur une des souches microbiennes testées ce qui confirme que les deux plantes d'*Artemisia compestris L.* et *Ephédra alata Staph.* sont douées de propriétés antimicrobiennes sauf pour la souche *Acinetobacter sp* y'a pas d'une zone d'inhibition.

Tableau.16 : Antibiotiques testés sur les dix souches.

Les souches	Antibiotiques
<i>Salmonella sp</i>	Tétracycline
<i>Bacillus cereus</i>	Céftazidime
<i>Entérocoque sp</i>	Vancomycine
<i>Pseudomonas sp</i>	Gentamicine
<i>Staphylocoque sp</i>	Oxacilline
<i>Serratia sp</i>	Cefoxitine
<i>Providentia sp</i>	Colistine
<i>Streptocoque sp</i>	Amoxicilline
<i>Proteus mirabilis</i>	Acide nalidixique
<i>Acinetobacter sp</i>	Imipénème

Nos résultats illustrés par la figure xx montre que :

- *Salmonella*, *Serratia*, *Providentia* et *Pseudomonas* bactéries à GRAM négatifs, est plus sensibles à l' extrait hydrométhanolique d'*Ephédra alata* de façon très hautement significative par rapport à l' extrait hydrométhanolique d'*Artemisia compestris*.
- Pour la bactérie *Proteus* présente le même niveau de sensibilité dans les deux espèces.
- Pour la bactérie *Acinetobacter* est résistante aux deux extraits EM.Art et EM.Eph.

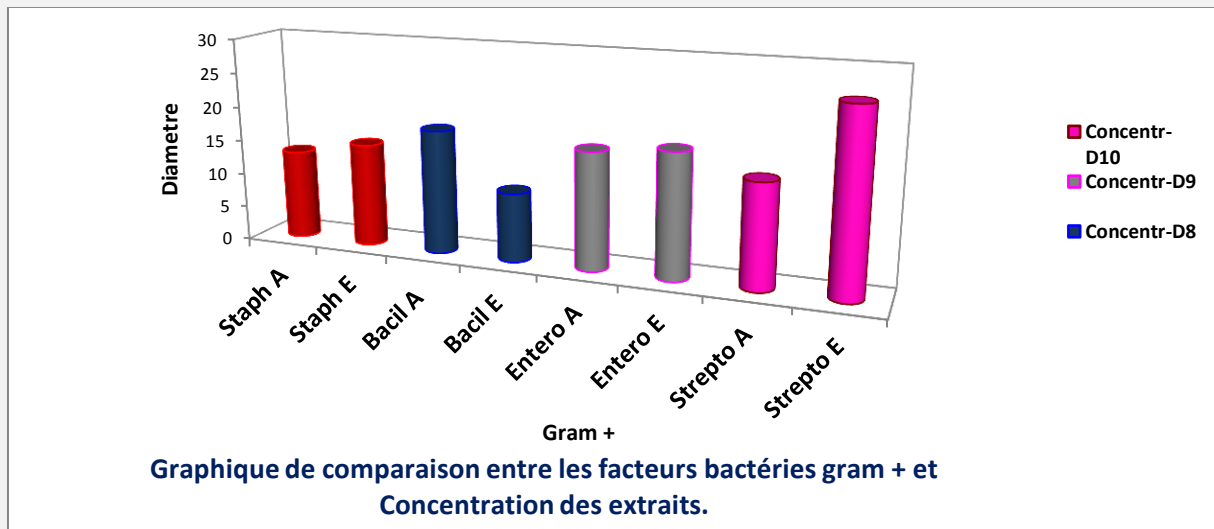


Figure.51 : Sensibilité des 4 souches Gram (+) vis-à-vis des extraits EM.Art et EM.Eph.

Selon (Naili et *al.*, 2010), ont étudié l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique des plantes médicinales. Ils ont utilisé plusieurs souches dont *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, les résultats obtenus dans cette étude ont montré que cet extrait possède un effet inhibiteur sur toutes les bactéries étudiées.

II.2.2. Evaluation de l'activité antifongique

L'activité antifongique est révélée par l'absence ou la présence de la croissance mycélienne. Avec les différentes concentrations des extraits hydrométhanoliques des deux plantes *Artemisia compestris L.* et *Ephédra alata alenda Staph.* (EM.Art et EM.Eph) et les différentes souches, on observe que la croissance mycélienne est remarquable après 72 H mais en diamètre différentes. En montrant qu'il y a une augmentation de la croissance mycélienne avec le temps d'incubation.

Tableau.17 : Zones d'inhibition des souches fongiques en présence de l'EM.Art.

Micro-organismes	Diamètres d'inhibition en (mm)			
	Concentration en (mg /ml)			
	0,25	0,5	0,75	1
<i>Rhizopus sp</i>	4	6	10	15
<i>Alternaria sp</i>	0	0	0	10

Tableau.18 : Zones d'inhibition des souches fongiques en présence de l'EM.Eph.

Micro-organismes	Diamètres d'inhibition en (mm)			
	Concentration en (mg /ml)			
	0,25	0,5	0,75	1
<i>Rhizopus sp</i>	0	0	0	0
<i>Alternaria sp</i>	0	0	0	0

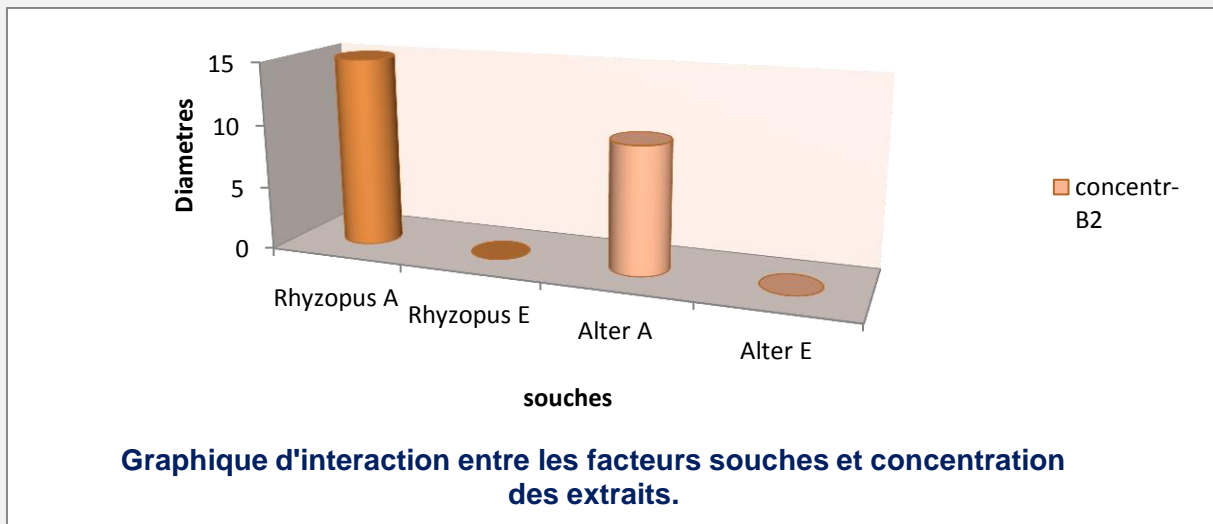


Figure.52 : Sensibilité des deux souches fongiques envers les différents extraits de l'*Ephédra alata alenda Staph.* et *Artemisia compestris L.*

L'activité antifongique d'extrait aqueux peut être expliquée par l'effet synergique entre les différents composés d'extrait. En effet, les composés majoritaires sont souvent responsables de l'activité antifongique de cette extrait (GIORDANI et *al.*, 2008).

Conclusion

De nos jours, un grand nombre de plantes aromatiques et médicinales possède des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et l'agriculture. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances bioactives, et d'autre part les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs qui se retournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme.

Dans le présent travail, différents aspects d'*Artemisia compestris* L. Et *Ephédra alata* Staph. Ont été étudiés: quelques propriétés phytochimique et activités antibactérienne et antifongique des extraits bruts.

Le screening phytochimique a mis en évidence diverses classes de métabolites secondaires dans les deux plantes: alcaloïdes, polyphénols, tannins, terpènes. Les flavonoïdes et les anthraquinones, quinones sont caractérisés selon les tests phytochimiques dans les deux parties aériennes et sous terraines. Les polyphénols et les alcaloïdes se sont révélés être présents dans les deux parties de la plante.

L'activité antibactérienne a été déterminée sur dix souches bactériennes, selon la méthode de diffusion de disque. Les résultats indiquent que les deux extraits possèdent une activité antibactérienne sur toutes les souches testées *Salmonella sp*, *Entérocoque sp*, *Pseudomonas sp*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Streptocoque sp*, *Providentia sp*, *Proteus mirabilis*, *Serratia sp*, sauf *Acinetobacter sp* qui manifeste une résistance pour les différentes concentrations des deux extraits.

À la suite de ces résultats, il serait donc intéressant d'étendre l'éventail des tests antimicrobiens ainsi l'ensemble de ces résultats obtenus in vitro ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances d'origine naturelle biologiquement active, une étude in vivo est souhaitable, pour obtenir une vue plus approfondie sur les activités antibactérienne et antifongique des extraits de ces plantes.

Résumé

Ce travail s'inscrit dans le cadre de l'étude du patrimoine botanique national surtout les plantes médicinales dont une grande partie reste encore vierge et nécessite des études approfondis, alors notre objectif sera alentour l'étude phytochimique et les activités biologiques (Antibactérienne et antifongiques) des deux plante *Artemisia compestris* L. qui se trouve dans la région d'Oum El- bouaghui et *Ephédra alata* Staph. Qui est récolté de la région d'Aris Batna.

Le screening chimique a mis en évidence la présence des flavonoïdes, d'alcaloïdes, tanins, térpenoïdes, stéroïdes...etc., dans les deux plantes étudiés.

L'activité antimicrobienne a été déterminée sur plusieurs souches bactériennes: *Salmonella sp*, *Entérocoque sp*, *Pseudomonas sp*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Streptocoque sp*, *Providentia sp*, *Proteus mirabilis*, *Serratia sp*, *Acinetobacter sp*.

Les résultats obtenus montrent que les souches testés possèdent une sensibilité variable pour les deux extraits et leurs concentrations, par contre ces résultats restent très faibles par rapport aux antibiotiques utilisés. (Tétracycline, gentamycine ne, Oxacilline, Vancomycine, Ceftazidime, Amoxicilline, Colistine, Acide nolidixique, Cefoxitine, Imipenème.)

L'activité antifongique a été déterminée sur deux champignons : *Rhyzopus sp* et *Alternaria sp*

Les résultats montrent que l'extrait de l'espèce *Artemisia compestris* à une sensibilité active contre la souche fongique *Alternaria sp* est moyennement actif contre *Rhyzopus sp*.

Mots clés :

Composés phénoliques, *Artemisia compestris* L. *Ephédra alata* Staph. Pouvoir antimicrobien, pouvoir antifongique

Abstract

This work is part of the study of the national botanical heritage, especially medicinal plants, much of which remains untouched and requires in-depth studies, so it focuses on our objective around the phytochemical study and biological activities (Antibacterial and Antifungals) of the two plants *Artemisia compestris* which is found in the region of Oum El-bouagui and *Ephedra alata* which harvested from the region of Aris Batna.

Chemical screening revealed the presence of flavonoids, alkaloids, tannins, terpenoids, steroids, etc., in the two plants studied.

The antimicrobial activity was determined on several bacterial strains: *Salmonella*, *Enterococcus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Streptococcus*, *Providentia satuartii*, *Proteus mirabilis*, *Serratia*, *Acinetobacter baumannii*.

The results obtained show that the strains tested have a variable sensitivity for the two extracts and their concentrations, whereas these results remain very low compared to the antibiotics used. (Tetracycline, gentamycin ne, Oxacillin, Vancomycin, Ceftazidime, Amoxicillin, Colistin, Nolidixic acid, Cefoxitin, Imipenem.)

The antifungal activity was determined on two fungi: *Rhizopus* and *Alternaria*

The results show that the extract of the species *Artemisia compestris* with active sensitivity against the fungal strain *Alternaria* is moderately active against *Rhizopus*.

Keywords :

Phenolics, *Artemisia compestris*, *Ephédra alata*, antimicrobial power, antifungal power.

الملخص

هذا العمل هو جزء من دراسة التراث النباتي الوطني وخاصة النباتات الطبية ، والكثير منها لا يزال يتطلب دراسات متعمقة، ولهذا سيتمحور هدفنا حول الدراسة الكيميائية النباتية و الأنشطة البيولوجية (مضاد الجراثيم ومضاد البكتيريا) لنبات *Artemisia compestris* المتواجدة في منطقة أم بواقي و *Ephédra alata* التي حصلت من منطقة باتنة أريس.

وكشف الفحص الكيميائي وجود مركبات الفلافونية، و القلويدات والتانينات ، و التربينات، والستيرويدات ... الخ، في كلى العينتين المدروستين.

تم تحديد النشاط البكتيري في العديد من السلالات البكتيرية: *Salmonella* و *Entérocoque* و *Pseudomonas* و *Staphylococcus aureus* و *Bacillus cereus* و *Providentia satuartii* و *Proteus mirabilis* و *Serratia* و *Acinetobacter baumannii*.

النتائج المتحصل عليها تبين أن سلالات المختبرة لها حساسيات متعددة لكل من مستخلص نبات *Artemisia compestris* ; *Ephédra alata*، و تراكزهما. لا تزال هذه النتائج منخفضة جدا بالمقارنة مع المضادات الحيوية المستخدمة. (النتراسيكلين لا الجنتاميسين، أوكساسيلين، فانكوميسين، السيفتازيديم، أموكسيسيلين، كوليستين، nolidixique حمض سيفوكسيتين، الإيميبينيم).

تم تحديد نشاط مضاد الفطريات على النوعين : *Rhyzopus* و *Alternaria*

أظهرت النتائج أن مستخلص نبات *Artemisia compestris* له حساسية فعالة بشكل معتدل ضد السلالات الفطرية *Rhyzopus*. *Alternaria* النشطة

الكلمات المفتاحية

مركبات الفلافونية، *Artemisia compestris* و *Ephédra alata* مركبات الفلافونية النشاط المضاد البكتيريا النشاط المضاد للفطريات .



Références bibliographiques

- Akrouit A., Chemli R.C., Chrief., and Hammami M. (2001). Analysis of the essential oil of *Artemisia campestris* L. *J. Flavour Fragr.* 16: 337–339.
- Ben Sassi A., Harzallah-Skhiri F., and Aouni M. (2007). Investigation of some medicinal plants from Tunisia for antimicrobial activities. *J. Pharmaco. Bio.* 45 (5): 421–428.
- Dob T., Dahmane D., Berramdane T., and Chelghoum C. (2005). Chemical Composition of the Essential Oil of *Artemisia campestris* L. from Algeria. *J. Pharm. Bio.* 43(6): 512–514.
- De Pascual J.T., Gonzalez M.S., Muriel M.R and Bellid I.S. (1984). Phenolic derivatives from *Artemisia campestris* Subsp *Glutinosa*. *Phytochemistry.* 23 (8): 1819-1821.
- Joa O.M., Vasconcelos, Artur M.S.S and Jose A.S.C. (1998). Chromones and flavones from *Artemisia campestris* Subsp *Maritima*. *Phytochemistry.* 49 (5): 1421-1424
- Akrouit A., Gonzalez L.A., El Jani H.J., and Madrid P.C. (2011). Antioxidant and antitumor activities of *Artemisia campestris* and *Thymelaeahirsuta* from southern of Tunisia. *Food. Chem. Tox.* 49: 342–347.
- Juteau F., Masotti V., Bessière J-M., Viano J. (2002). Compositional characteristics of the essential oil of *Artemisia campestris* var. *glutinosa*. *Bioch. Syst. Ecol.* (30): 1065-1070.
- Kundan S., and Anupam S. (2010). The Genus *Artemisia*: A Comprehensive Review. *J. Pharm. Biol.* pp:1-9.
- Kyeong W.Y., Anwar M., and Jong H.K. (2007). Effects of the Aqueous Extract from *Artemisia campestris* ssp. *caudata* on Mycorrhizal Fungi

Colonization and Growth of Sand Dune Grasses. *J. Plant. Biology.* 50 (3): 358-361.

➤ Memmi A., Sansa G., Rjeibi I., El aye M., Srairi-Abid N., Bellasfer Z., and Fekhih A. (2007). Use of medicinal plants against scorpionic and ophidian venoms. *Arch. Inst. Pasteur. Tunis.* 84 (1-4): 49-55.

➤ Mirjalili. M.H., Tabatabaei S.M.F., Hadian J., Nejad S.E., and Sonboli. A. (2007). Phenological Variation of the essential oil of *Artemisia scoparia* from Iran. *J. Essent. Oil Res.* 19 : 326–329

➤ Mucciarelli M and Maffei M. (2002). *Artemisia: Introduction to the Genus* Vol. 18 Ed Colin W.W. in Taylor & Francis. Ed. London and New York. pp: 10-16.

➤ Rauter A.P., Branco I., Tostao Z., Pais M.S., Gonzalez A.G et Bermejo J.B. (1989). Flavonoids from *Artemisia campestris* Subsp *Maritima*. *Phytochemistry.* 28 (8): 2173-2175.

➤ Saoudi M., Allagui M.S., Abdelmouleh A., Jamoussi K., and El Feki A. (2010). Protective effects of aqueous extract of *Artemisia campestris* against puffer fish *Lagocephalus lagocephalus* extract-induced oxidative damage in rats. *Exp. Tox. Pathol.* 62:601–605.

➤ Sefi M., Fetoui H., Makni M., and Najiba Zeghal N. (2010). Mitigating effects of antioxidant properties of *Artemisia campestris* leaf extract on hyperlipidemia, advanced glycation end products and oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats. *J. Food. Chem. Toxicol.* 48: 1986–1993.

➤ Abourashed E.A., El-Alfy A.T., Khan I.A. et Walker L., 2003- *Ephedra* in perspective—a current review. *Phytother. Res.*, Vol. 17, PP. 703-712
AL-Qarawi A.A., Abd_Allah E.F. et Abeer H., 2011- *Ephedra alata* as biologically-based strategy inhibit aflatoxigenic seedborne mold. *African Journal of Microbiology Research*, Vol. 5, N°16, pp. 2297-2303

- Al-Qarawi A.A., Abd Allah E.F. et Hashem A., 2012- Effect of Ephedra alata on nucleic acids and nitrogen metabolism of seedborne *Aspergillus flavus* . Pak. J. Bot., Vol. 44, N°1, pp. 425-428
- Caveny S., Charlet D.A., Freitqg H., Maier-Stolete M. et Starratt A. N., 2001- New observations on the secondary chemistry of world Ephedra (Ephedraceae). American Journal of Botany.Vol.88, N°7.PP. 1199–1208.
- Chen W.L, Tsai T.H., Yang C.C.H., Kuo T.B.J., 2010- Effects of ephedra on autonomic nervous modulation in healthy young adults. Journal of ethnopharmacology, Vol. 130, pp. 563–568
- Evans W.C., 2009- Trease and Evans' Pharmacognosy. Saunders (16eme Ed).46-Ghourri M., Zidane L., Douira A., 2013- Usage des plantes médicinales dans le traitement du Diabète Au Sahara marocain (Tan-Tan). Journal of Animal & Plant Sciences, Vol.17, pp. 2388-2411.
- Hegazi G.A.E. et El-Lamey T.M., 2011- In vitro Production of Some Phenolic Compounds from Ephedra alata Decne. J. Appl. Environ. Biol. Sci., Vol,1, N°8, pp.158-163
- Huang J. et Price R.A., 2003- Estimation of the Age of Extant Ephedra Using Chloroplast rbcL Sequence Data. Mol. Biol. Evol., Vol. 20, N°3, pp435–440.
- Limberger R.P., Jacques ALB, Schmitt GC. et Arbo MD., 2013 - Pharmacological Effects of Ephedrine. Natural Products, pp. 1218- 1237.
- Ma G., Bavadekar S.A., Davis Y.M., Lalchandani S.G. Nagmani R., Schaneberg B.T., Khan I.A., et Feller D.R., 2007- Pharmacological Effects of Ephedrine Alkaloids on Human α 1- and α 2 Adrenergic Receptor Subtypes. The Journal Of Pharmacology And Experimental Therapeutics, Vol. 322, N°1, pp. 214- 221.
- Nawwar M.A.M, El-Sissi H.I., Barakat H.H., 1984- Flavonoid constituents of Ephedra alata. Phytochemistry, Vol. 23, N°. 12, pp. 2937-2939

- Ould El Hadj M.D., Hadj-Mahammed M. et Zabeirou H., 2003- place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région de Ouargla (sahara septentrional est). *Courrier du savoir*. n°3, pp. 47-51
- Ozenda P., 1991- Flore et végétation du Sahara. Centre National De La Recherche Scientifique, Paris (3éme Ed.). 662 p
- Peters C.M., O'Neill J.O. et Young J.B., 2005- Is there an association between ephedra and heart failure? a case series. *Journal of Cardiac Failure*, Vol. 11, N°1, pp.9-11.
- Tabuti J.R.S., Lye K.A. et Dhillion S.S., 2003 - Traditional herbal drugs of Bulamogi, Uganda: plants, use and administration. *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 88, N°1, pp. 19-44.
- Timmermann B.N., Steelin C., Loewus F.A., 1984- Recent Advances in Phytochemistry Phytochemical Adaptations to Stress .Plenum Press: New York, pp. 273–220.
- Merzoug B., 2009- Contribution à l'étude phytochimique de deux plantes de la famille des Apiaceae : *Carum montanum* Coss. & Dur. et *Bupleurum montanum* Coss. Thèse de doctorat. "Phytochimie". Université Mentouri-Constantine. P1.
- Ling M., Piddlesden S. J. et Morgan B. P., 1995- A component of the medicinal herb ephedra blocks activation in the classical and alternative pathways of complement. *Clinical & Experimental Immunology*, Vol. 102, N° 3, p. 582–588.
- Konkon N.G., Simaga D. et Adjoungova A.L., 2006- Etude Phytochimique de *Mitragyna inermis* (Wild) O. Ktze (Rubiaceae), plante à feuille antidiabétique. *Pharm. Méd. Trad. Afr.* 2006, Vol. 14, pp. 73-80
- Abderrazak M. et Joël R. (2007). *La botanique de A à Z*. Ed. Dunod. Paris. 177p. Lutge U., Kluge M., Bauer G. (2002). *Botanique 3ème Ed : Technique et documentation*. Lavoisier .Paris. 211p.

- Bruneton, J. (1999). *Pharmacognosie, Phytochimie Plantes médicinales* 3ème Ed Techniques et documentations. Paris. pp: 227-310-312-313-314.494.
- Lugasi A., Hovari J., Sagi K., and Biro L. (2003). The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *J. Acta. biologica. Szegediensis.* 47 (1-4):119-125. (Cited in Mohammedi Z, 2005)
- King A., and Young G. (1999). Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. *J. of the American dietetic association.* 99:213-218. (cited in Djemai Zoueglache S, 2008)
- Tapiero H., Tew K.D., Nguyen B.G., and Mathé G. (2002). Polyphenol do they play a role in the prevention, of the human pathologies? *Biomed. pharmacother.* 56: 200-207. (Cited in Djemai Zoueglache S, 2008).
- Boizot N., and Charpentier J.P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. *Le cahier des techniques de l'Inra.* pp 79-82. (cited in Djemai Zoueglache S, 2008).
- Seyoum A., Asres K., and El-Fiky F.K. (2006). Structure– radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Phytochemistry.* 67: 2058–2070
- Ghestem A., Seguin E., Paris M., and Orecchioni A.M. (2001). *Le préparateur en pharmacie dossier 2ème Ed TEC&DOC.* Paris. pp275. (cited in Djemai Zoueglache S, 2008).
- Yang J., Guo J., and Yuan J. (2008). In vitro antioxidant properties of rutin. *LWT.* 41:1060-1066. (cited in Djemai Zoueglache S, 2008).
- Hikino H., Takahashi M., et Konno C., 1982- Structure of ephedrannin a, a hypotensive principle of Ephedra roots. *Tetrahedron Letters*, Vol. 23, N° 6, pp. 673-676.
- Ikan R., 1991- *Natural Products: a laboratory guide.* Academic Press (2e Ed.), pp 357.
- Soni M.G, Carabin I.G., Griffiths J.C., et Burdock G.A., 2004- Safety of ephedra: lessons learned. *Toxicology Letters*, Vol. 150, pp. 97–110

- Kessal A. et Bouafia O., 2003- Phytoscreening and antibactériel of the plants *Ephedra alata*, *Launaea residifolia* and *Oudneya africana*. Diplôme d'ingénieur d'Etat. Université Kasdi.
- Paris M et Hurabielle. (1981). Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie. Tome 1. Ed Masson. Paris.pp: 102-103-104-107.
- Naili M.B., Alghazeer O.A., Saleh N.A., Al-Najjar A.Y. (2010). Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia campestris* (Astraceae) and *Ziziphus lotus* (Rhamnaceae). Arab. J. Chem. 3: 79–84.
- Choi Y.M., Noh D.O., Cho S.Y., Suh H.J., Kim K.M., and Kim J.M. (2006). Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea. LWT. 39:756-761.
- Krief S., 2003-Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. HAL. Thèse de doctorat "Ecologie et chimie des substances naturelles". Muséum national d'histoire naturelle. pp. 31-32.
- Prasad et Kapoor, 2004: Multidrug resistance in yeast *Candida*. P 215-248. Giordani, Hadeif, Kaloustian, 2008: Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. *Fitoterapia*, 79. P 199-203.
- Abdelghani, Weaver, ZIDAN, Hussein, Keevil & Brown, 2008: Microwave-assisted synthesis and antimicrobial activities of flavonoid derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 18, 518-522.
- Neggaz.S., Thèse magister.(2010) Université d'Oran Analyse chromatographique et spectroscopique des composés Antimicrobiens d'une espèce de terfèze : *timaniapinoyi* (Marie)46-106.
- Urquiaga.I et Leighton.F (2000). Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. *Biological Research*.,33(2) :55-64.

- Floss.H.G(1997).Natural products derived from unusual variants of the Shikimate pathway.Natural Product Reprts.,14 : 433-434.
- Naili M.B., Alghazeer O.A., Saleh N.A., Al-Najjar A.Y. (2010). Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia campestris* (Astraceae) and *Ziziphus lotus*(Rhamnacea). Arab. J. Chem. 3: 79–84.
- Djeridane A.,Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P., Vidal N. (2006).Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. J. Food Chem. 97: 654–660.
- Giordani, HadeF, Kaloustian, 2008: Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. Fitoterapia, 79. P 199-203.
- Bruneton J., 2009- Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Lavoisier Tec & Doc (4eme Ed.), 1268 p.
- Krief S., 2003-Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. HAL. Thèse de doctorat "Écologie et chimie des substances naturelles". Muséum national d'histoire naturelle. pp. 31-32.