

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة مولاي الطاهر، سعيدة
Université MOULAY Tahar, Saida



كلية العلوم
Faculté des Sciences
قسم البيولوجيا
Département de Biologie

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master
En Sciences biologiques
Spécialité : Biochimie

Screening phytochimique d'*Henophyton deserti* coss.&Durieu de la région d'EL Bayadh (Algérie)

Présenté par :

- Mlle : LABIAD Hanane
- Mlle : FECHFOUCH Bouchra

Soutenu le Devant le jury composé de :

Examinateur	Mr. AMMAM Abdelkader	MCA Université Saida
Président	Dr. HENDI Amina	MCA Université Saida
Rapporteur	Dr. CHALANE Fatiha	MCA Université Saida

Année universitaire 2021/2022

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة مولاي الطاهر، سعيدة
Université MOULAY Tahar, Saïda



كلية العلوم
Faculté des Sciences
قسم البيولوجيا
Département de Biologie

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master
En Sciences biologiques
Spécialité : Biochimie

Screening phytochimique d'*Henophyton deserti* coss.&Durieu de la région d'EL Bayadh (Algérie)

Présenté par :

- Mlle : LABIAD Hanane
- Mlle : FECHFOUCH Bouchra

Soutenu le Devant le jury composé de :

Examineur	Mr. AMMAM Abdelkader	MCA Université Saïda
Président	Dr. HENDI Amina	MCA Université Saïda
Rapporteur	Dr. CHALANE Fatiha	MCA Université Saïda

Année universitaire 2021/2022

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ





Dédicace

*Joyeuse et fière de dédier mon travail à mes chers
Parents.*

*A la mémoire de mon père qui aurait été heureux de
Me voir ce jour là où il est.*

*Ma chère et tendre mère pour toute son affection, et
Son soutien durant toutes mes années d'études qui
Ont été pour moi une lumière et un appui d'une
Valeur inestimable.*

A mes sœurs : Mokhtaría , Nour el houða et sondous

Ames frères : Abd el kader, Abíd et Fares

*Ames proches amies : Bouchra, Sara, lamía Zina,
Amra, Messouda.*

*A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à
L'élaboration de ce travail*

Hanane



Dédicace

À mes très chers parents, Mon père laïd et ma mère Mokhtaría chabni source de tendresse, d'amour et d'espoir, qui ont œuvré pour ma réussite ; ses soutiens ; tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils ; pour toute ses assistances et ses présences dans ma vie que dieu les protèges.

*A mes très chères
sœurs : zineb, fatima, amina, wided, khadija*

A mes très chers frères : mohamed, Abd el jalil, Yacine

*A mes tantes, oncles, et grand mère et grand père et tous
les membres de ma famille*

A ma binôme : Hanane

*Sans oublier mes copines :
Messouda., khaoula, lamya, MAROUA , Sara*

Bouchra



Remerciements

Avant toutes choses, nous remercions Dieu, le tout puissant, Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à mon encadreur

M^{lle} CHALANE F Pour sa confiance, son


Soutien, son attention, ses bons conseils, ses qualités humaines. Pour tout cela, je tiens à lui exprimer toute ma Gratitude. Pour ces encouragements et surtout pour la grande patience qu'il a manifestée, je me trouve incapable de Formuler mes remerciements à lui. Aujourd'hui je témoigne que je vous suis redevable et je vous remercie par L'occasion, pour avoir bien voulu examiner mon travail

Nos vifs remerciements vont également adressés aux me membres du jury Mr AMMAM Abdelkader, Mme HENDI Amina pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre Recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Nos remerciements s'adressent également à tous les membres du laboratoire pédagogique au département de biologie à la faculté des sciences de l'université Dr. Moulay Tahar de Saïda

Nos remerciements s'étendent également à tous nos enseignants Impliqués dans notre fermale durant les 5 années des études. Un grand merci aux membres des Biochimie (faculté SNV), ainsi que toutes nos amies de la promotion, pour Leur aide, leur amitié, leur gentillesse et leur soutien moral. Nous remercions également toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Un grand merci à toutes et à tous



Liste des abréviations

- **%** : Pourcentage
- **°C** : Degré Celsius
- **°C** : Degré Celsius
- **AC** : Acide
- **ATB** : Antibiotiques
- **BN** : Bouillon nutritif
- **CAT** : capacité antioxydante totale
- **CCM** : Chromatographie sur couche mince
- **DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl
- **EM** : Extrait méthanolique
- **EM** : Extrait méthanolique
- **FeCl₃** Chlorure de fer.
- **G** : gramme
- **GN** : Gélose nutritif
- **H** : heure
- **H₂O** : Eau distillée.
- **H₂SO₄** : Acide sulfurique.
- **HCl** : Acide chlorhydrique.
- **IC₅₀** : concentrations qui correspondent à 50 % d'inhibition
- **M. H:** Mueller Hinton
- **ME:** Méthanol-Eau
- **Mg** : milligramme
- **Min:** Minute
- **ml** : Millilitre
- **MO** : Micro organisme
- **NaOH** : Hydroxyde de sodium

Liste des abréviations

- **Pdv**: poudre végétal
- **PM** : plante médicinale
- **R.L**: Radicaux libres
- **Rdt** : Rendement
- **RF** : rapport frontale
- **UV- Spectro**: Spectrophotomètre UV
- **µm** : Micromètre

Liste des tableaux

01	Classification scientifique <i>Henophyton deserti</i> <i>coss.&Durieu</i>	06
02	Solvants et composés phytochimiques	15
03	lieu de récolte de la plante et les caractéristiques bioclimatiques de la zone de récolte	26
04	les différents microorganismes utilisés	28
05	les concentrations utilisées pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne	42
06	Caractéristiques et rendement des extraits de la plante de <i>Henphyton deserti</i> <i>coss.& Durieu</i>	46
07	Résultat des tests phytochimiques d' <i>Henphyton deserti</i> <i>coss.& Durieu</i>	47
08	les résultats des IC50 pour le test DPPH	54

Tableaux des figures

01	Morphologie. <i>Henophyton deserti</i> <i>coss.&Durieu</i>	05
02	Structure de quelques alcaloïdes	08
03	Structure de base des flavonoïdes	09
04	Structure des tanins	11
05	structure chimique de coumarine	11
06	Structure de la molécule d'isoprène	12
07	Structure de la molécule d' Stéroïdes	12
08	Structure de l'acide benzoïque, un acide phénol simple	13
09	structure de l'amidon	14
10	structure de saponine	15
11	Etapas de la macération	16
12	Montage d'un système de chauffage à reflux	17
13	Schéma de principe de l'extraction par CO ₂ -SC associé au diagramme (P-T)	18
14	Chambre de développement à cuve verticale et plaque de CCM	20
15	Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydants	23
16	Morphologie. <i>Henophyton deserti</i> <i>Coss.& Durieu</i>	25
17	Situation de la wilaya d'El Bayadh	27
18	Carte des limites de la wilaya El Bayadh	27
19	Montage pour extraction d'extrait	30
20	Protocole de l'extraction	31
21	schéma des tests phytochimiques pour la détection des alcaloïdes	33
22	Schéma des tests phytochimiques pour la détection des tannins	33
23	Schéma des tests phytochimiques pour la détection Les flavonoïdes	34
24	Schéma des tests phytochimiques pour la détection des Les anthocyanes	34
25	Schéma des tests phytochimiques pour la détection des stérols et triterpènes	35

Tableaux des figures

26	Schéma des tests phytochimiques pour la détection des saponines	36
27	Schéma des tests phytochimiques pour la détection des composés réducteurs	37
28	Schéma des tests phytochimiques pour la détection l'amidon	37
29	Schéma des tests phytochimiques pour la détection phénol	38
30	Schéma des tests phytochimiques pour la détection Glycosides cardiaque	38
31	Les étapes de méthodes chromatographie sur couche mince CCM de la plante <i>Henopyton deserti</i> <i>coss.&Durieu</i>	40
32	Protocole du test de piégeage du radicale DPPH de la plante <i>Henopyton deserti</i> <i>coss.&Durieu</i>	41
33	Les étapes de test de piégeage du radicale DPPH de la plante <i>Henopyton deserti</i> <i>coss.&Durieu</i>	42
34	Les étapes de la méthode de diffusion en milieu solide de la plante <i>Henopyton deserti</i> <i>coss.&Durieu</i>	45
35	Rendement(%) des extraite de la plante <i>Henphyton deserti</i> <i>coss& Durieu</i>	46
36	Chromatographie sur couche mince de extrait méthanolique(Méthanol : Chloroforme : (50/50) (v/v)) des écorces de la plante <i>Henophyton deserti</i> <i>coss.&Durieu</i> .	51
37	les Rf de chromatographie couche mince de extrait méthanolique(Méthanol : Chloroforme : (50/50) (v/v)) de la plante <i>Henophyton deserti</i> <i>coss.&Durieu</i>	52
38	Chromatographie sur couche mince de extrait méthanolique (Méthanol: Acétate d'éthyle: acide formique: (75/25/25/5)(v/v)) des écorces de la plante <i>Henophyton deserti</i> <i>coss.&Durieu</i> .	52
39	les Rf de chromatographie couche mince de extrait méthanolique(Méthanol: Acétate d'éthyle: acide formique: (75/25/25/5)(v/v))de la plante <i>Henophyton deserti</i> <i>coss.&durieu</i>	53
40	Activité antioxydant des extraits méthanolique d' <i>Henophyton deserti</i> <i>coss.&Durieu</i>	54
41	Activité antibactérienne d'extrait méthanolique de la plante <i>Henophyton deserti</i> <i>coss.&Durieu</i>	56
42	diamètres des zones d'inhibition obtenus par l'extrait méthanoliques (les bactéries) de <i>Henophyton deserti</i> <i>coss.& Durieu</i> .	56

Tableaux des figures

43	Activité antifongiques (<i>condida albicans</i>) de l'extrait méthanolique de la plante <i>Henophyton deserti</i> <i>coss.&Durieu</i>	57
44	diamètres des zones d'inhibition obtenus par l'extrait méthanoliques <i>andidas albicans</i>) de <i>Henophyton deserti</i> <i>coss.& Durieu</i>	57

Résumé

Ce travail s'intéresse à la valorisation d'une plante médicinale poussant à l'état spontané dans la région de EL Bayadh il s'agit de *Henophyton deserti* *coss. & Durieu* connue sous le nom arabe *Henat l'ibel* pour traiter diverses maladies (les malades de l'intestin, abaisser le taux de cholestérol et la coagulation du sang, antidiabétique, contre les malades de peau).

Les extraits organique ont été obtenus par hydrodistillation (L'extrait méthanolique, éthanolique, aqueux) puis nous avons réalisé des tests phytochimique, chromatographies sur couche mince (CCM) et l'activité antioxydante des extraits méthanolique et enfin une activité microbiologique pour certain extrait.

Nos résultats montre que la plante est riche en flavonoïdes, tanins, phénols, l'amidon, saponoside, stéroles et absence des alcaloïdes, anthocyane, composés reducteur, de DPPH (IC50) = 3.69mg/ml

Les résultats de l'activité antimicrobienne montrent qu'il ya une sensibilité des extraits vis-à-vis les souches bactériennes utilisées (*staphylococcus*, *listeria*)

Mots-clés: Plante *Henophyton deserti* *coss & Durieu*, activité antioxydante, activité antibactérienn, flavonoïdes, test phytochimique. CCM, DPPH el bayadh (L'Algérie).

Abstract

This work is interested in the valorization of a medicinal plant growing in the spontaneous state in the region of EL Bayadh it is *Henophyton deserti* *coss. & Durieu* known under the Arabic name *Henat l'ibel* to treat various diseases (the sick of the intestine, lower cholesterol levels and blood coagulation, antidiabetic, against skin patients) The organic extracts were obtained by hydrodistillation (the methanolic, ethanolic, aqueous extract) then we carried out phytochemical tests, thin layer chromatography (CCM) and the antioxidant activity of the methanolic extracts and finally a microbiological activity for certain extracts. Our results show that the plant is rich in flavonoids, tannins, phenols, starch, saponoside, sterols and absence of alkaloids, anthocyanin, reducing compounds, of DPPH(IC₅₀)= 3.69mg/ml The results of the antimicrobial activity shows that there is a sensitivity of the extracts to the bacterial strains used (*staphylococcus*, *listeria*)

Keywords: *Henophyton deserti* *coss & Durieu* plants, antioxidant activity, antibacterial activity, flavonoids, phytochemical test. CCM, DPPH el bayadh (Algeria).

ملخص

يهتم هذا العمل بتثمين نبات الطبي ينمو في حالة التلقائية في منطقة البيض *Henophyton Deserti* *cos.* & *Durieu* المعروف تحت العربي حنة الإبل لعلاج الأمراض المختلفة الأمعاء ومستويات الكولسترول وتخلط ومضادات السكر وضد الأمراض الجلد تم الحصول على المستخلصات العضوية عن الطريق التوسيع المستخلص الميثان والايثانولي والمائي ثم أجرينا اختبارات الكيمائية نباتية و الكروماتوجرافيا على الطبقة رقيق و النشاط المضاد للاكسدة للمستخلصات الميثانولية واخيرا لنشاط ميكروبيولوجي لبعض المستخلصات . اظهرت نتائجنا ان النبات غني بالفلافونيدات والعفص والفينولات والنشاء والسابونوزيد والستيرولات وغياب القلويات والانتوسيانين والمركبات المحتزلة $IC_{50} = 3.69 \text{ mg/ml}$ -DPPH- CCM تظهر نتائج النشاط المضاد للميكروبات أن هناك حساسية للمستخلصات تجاه السلالات البكتيرية المستخلصة

الكلمات المفتاحية نبات النشاط المضاد للاكسدة النشاط المضاد للبكتريا الفلافونويد اختبار الكيمياء النباتية الجزائر

Henophyton Deserti *cos* *Durieu*

Dédicaces

Remercîments

Liste abréviation

Tableaux des figures

Liste de tableaux

Résumé

Abstract

ملخص

Introduction..... 01

PREMIER PARTIE: SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1: Plantes médicinales et métabolites secondaires

01	Définition des plantes médicinales.....	03
02	la Phytothérapie.....	03
03	Utilisation traditionnelle des plantes médicinales.....	03
A	Décoction.....	04
B	Infusion.....	04
C	Macération.....	04
D	Cataplasmes.....	04
04	Danger des plantes médicinales.....	05
5	Présentation de la plante.....	05
5.1	Description botanique <i>Henophyton deserti</i> Coss.& Durieu.....	05
5.2	Classification botanique <i>Henophyton deserti</i> Coss.& Durieu.....	06
5.3	Propriétés et utilisation thérapeutiques.....	06
06	métabolites primaires.....	07
07	métabolites secondaires.....	08
A	Les alcaloïdes.....	08

B	Les flavonoïdes.....	10
D	Les tanins.....	11
E	Les coumarines	12
F	Les terpènes.....	12
G	Les stéroïdes.....	13
H	Les acides phénols.....	13
I	Amidon	14
J	Les saponines.....	15

Chapitre II : les méthodes d'extraction et chromatographie sur couche mince de plante médicinale

01	Les Principales méthodes d'extraction.....	15
02	Méthode d'extraction des composés phénoliques.....	16
2.2	Méthodes conventionnelles.....	16
A	Macération.....	16
B	Infusion.....	17
2.3	Extractions par chauffage à reflux.....	17
2.4	Extraction par hydrolyse acide.....	18
2.5	Extraction au CO ₂ supercritique.....	18
2.6	Extraction assistée par micro-ondes (MAE, Microwave Assisted Extracton).....	19
2.7	Extraction assistée par ultra-sons (UAE, ultrasonic Assisted Extarcton).....	19
03	Caractérisation et identification des composés phénoliques.....	20
3.1	Chromatographie sur couche mince(CCM).....	20

Chapitre III : Les activités Biologiques de la plante médicinales

1	Activité antibactérien.....	21
1.1	Détermination des doses minimales inhibitrices et bactéricides (CMI et CMB).....	21

02	Activité antifongique.....	22
03	Activité antioxydant.....	22
3.1	Mécanisme d'action.....	23
3.1.1	Test de piégeage du radical DPPH.....	24

DEUXIEME PARTIE: MATERIEL ET METHODE

1	Matériels et méthodes	25
1.1	Matériels biologique.....	25
1.1.1	Matériels végétaux.....	25
A	Caractères généraux de la zone d'étude (<i>EL -BAYADH</i>).....	26
1.1.2	Matériel vivant.....	29
A	Microorganismes (souches testées).....	29
1.1.3	Matériel technique d'étude au laboratoire.....	30
A	Les réactifs et produits chimiques.....	30
B	Appareillage et matériels utilisé.....	30
1.2	Méthode de préparation des extraits extraction par chauffage reflux de la plante <i>Henophyton deserti</i> <i>Coss.& Durieu</i>	30
1.2.1	Le rendements d'extrait de la plante <i>Henophyton deserti</i> <i>Coss.& Durieu</i>	33
1.2.2	Tests phytochimique.....	33
A	Alcaloïde	33
B	Tannins	34
C	Flavonoïde	35
D	Anthocyanes	35

E Stérols et triterpène.....	36
F Saponosides.....	37
G Les compose réducteurs.....	37
H L'amidon.....	38
I Phénols.....	39
J Glycosides cardiaques	39
1.3 La chromatographie sur couche mince(CCM) de extrait du <i>Henophyton deserti</i> Coss.& Durieu.....	40
1.4 Evaluation de l'activité antioxydant de extrait du <i>Henophyton deserti</i> Coss.& Durieu	41
1.4.1 Etude de pouvoir réducteur du radical DPPH de extrait du <i>Henophyton deserti</i> Coss.& Durieu.....	41
1.4.2 Calcul des IC50.....	43
1.5 Evaluation de l'activité antimicrobienne de extrait du <i>Henophyton deserti</i> Coss.& Durieu	43
1.5.1 Activité antimicrobienne.....	44
A Méthode de diffusion des puits.....	44
B Principe Méthode de diffusion des puits	44
1.6 Activité antifongiques de extrait du <i>Henophyton deserti</i> Coss.&Durieu	45

TROISIEME PARTIE: RESULTATS ET DISCUSSION

01 Rendements Obtenus des extraits du <i>Henophyton deserti</i> Coss.& Durieu.....	47
02 Test phytochimique.....	48
03 Chromatographie analytique sur couche mince de extrait du <i>Henophyton deserti</i> Coss.&Durieu	52
04 Évaluation de l'activité antioxydant (Piégeage du radical DPPH) de extrait du <i>Henophyton deserti</i> Coss.& Durieu.....	55

05	Evaluation de l'activité antibactérienne de extrait du <i>Henophyton deserti</i> Coss.&Durieu	56
06	Evaluation de l'activité antifongique de l'extrait de plante <i>Henophyton deserti</i> coss.&Durieu	58

Conclusion générale

Références bibliographiques

Introduction

Depuis les temps les plus reculés, l'homme a eu recours aux plantes non seulement pour se nourrir, se vêtir, se parfumer, mais également pour se soigner (**BELOUED, 1998 ; VALNET, 2001**).

L'organisation mondiale de la santé (OMS) estime qu'environ 81% de l'humanité a recours aux préparations traditionnelles à base de plantes en tant que soins de santé primaire (**WORLD HEALTH ORGANISATION, 2000**). Les médicaments à base de plantes sont encore largement utilisés et ont une importance considérable dans le commerce international (**CORDELL et COLVARD, 2005**).

Ces plantes médicinales malgré leurs effets thérapeutiques doivent être utilisées avec la plus grande prudence car elles peuvent avoir un risque de toxicité (**FOUCHE et al, 2000**). Les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches basées sur les cultures in vivo et in vitro de tissus végétaux. Ceci est notamment le cas des poly phénols végétaux qui sont largement utilisés en thérapeutique comme vasculoprotecteurs, anti inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et anti radicalaires (**BAHORUN, 1997**).

Aujourd'hui, les traitements à base de plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques (considérés comme la solution quasi universelle aux infections graves) décroît. Les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistent de plus en plus (**PAUL, 2001**).

La recherche des principes actifs extraits des plantes est d'une importance capitale car elle a permis la mise au point de nombreux médicaments (**CHEBROUK, 2009**).

Notre étude a été motivée par le désir de participer à de nouvelles recherches sur l'efficacité et l'innocuité des plantes médicinales. Un tel choix a été effectué grâce aux informations fournies par la médecine traditionnelle et en puisant dans la littérature sur la richesse avérée de les plantes *Henophyton deserti* *coss.&Durieu* (*Oudneya Africanaen*) substances naturelles d'un grand intérêt biologique.

C'est la phytochimie (chimie des végétaux) qui se charge d'étudier ces substances actives, leur structure, leur distribution dans la plante, leurs modifications et les processus de transformation qui se produisent au cours de la vie de la plante, de la préparation du remède végétal,

Dans ce présent travail, nous avons entamé à l'étude chimique et analytique de quelques composés poly phénoliques issus de quelques plantes médicinales *Henophyton deserti* *coss.*

& Durieu, à partir de la région de Sahara Septentrional algérien. Pour ce contexte, notre travail est structuré en deux parties:

- La première partie est une synthèse bibliographique.
- La deuxième partie est une partie expérimentale est divisée en son tour en deux chapitres qui sont matériel et méthodes et résultats et discussion.
- En fin une conclusion.

CHAPITRE I

Plante médicinale

Henophyton deserti

coss. & Durieu

1. Définition des plantes médicinales

La plante médicinale est toute plante renfermant un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, de soulager ou de guérir des maladies et qui contiennent des substances bénéfiques qui peuvent être utilisées à des propriétés thérapeutiques sont indispensables dans la synthèse de drogues (SOLOWORA, 2010). Ces plantes médicinales peuvent également avoir des usages alimentaires, condimentaires ou hygiéniques, Leur action provient de leurs composés chimiques (métabolisme primaires ou secondaires) ou de la présence de différents composés (SANAGO, 2006).

2. La Phytothérapie

Le mot "phytothérapie" se compose étymologiquement de deux racines grecques: phuton qui signifie "plante" et thérapie qui signifie "traitement". La phytothérapie est le traitement ou la prévention des maladies par l'usage en phytothérapie, il est recommandé d'utiliser la plante entière, appelée aussi "Totum" plutôt que des extraits obtenus en laboratoire (GAYET, 2013).

3. Utilisation traditionnelle des plantes médicinales

Depuis 150 ans, les plantes médicinales ont fourni à la pharmacie des médicaments très efficaces. Aujourd'hui, de nombreux travaux menés dans le domaine de l'ethnopharmacologie, nous montrent que les plantes utilisées en médecine traditionnelle et qui ont été testées sont souvent d'une part, des plantes efficaces dans les modèles pharmacologiques et d'autre part seraient quasiment dépourvues de toxicité (GURIB-FAKIMM, 2006).

Un certain nombre de plantes médicinales est encore utilisé de nos jours sous forme de décoction, infusions, macération et cataplasmes. Mais la plupart d'entre elles ont été délaissées au profit de produits pharmaceutiques de synthèse. Cependant, les connaissances actuelles permettent d'analyser ces plantes et souvent l'activité préconisée par nos ancêtres (BOURREL, 1993).

A.Décoction

Après avoir laissé tremper 24h à température ambiante, on porte à ébullition et on laisse frémir l'eau pendant environ 30 min. Laisser reposer 12 heures la préparation et filtrer ensuite (DELWICHE, 2008).

B.Infusion

Mise en contact de la plante avec de l'eau bouillante pendant plusieurs minutes , Elle se pratique pour les feuilles, les fleurs, les petites graines(JULIE, 2011).

C.Macération

Consiste à faire tremper les plantes dans de l'eau froide pendant plusieurs heures. Pour ce qui est des quantités, il faut prévoir une cuillère à café de plantes pour une tasse d'eau, une cuillerée à soupe pour un bol, et trois cuillerées à soupe pour un litre. Les plantes peuvent également macérer dans l'alcool, dans la glycérine, ou dans un autre solvant (ANNE ET NOGARET , 2003).

D.Cataplasmes

Préparation de plante en pâte pouvant être appliquée sur la peau dans un but thérapeutique. On peut également utiliser des bandes ou des compresses imbibées de préparation à base de plantes sur la peau (JULIE, 2011).

L'ethnopharmacologie et l'ethnobotanique ont pour finalité la compréhension des pratiques et des représentations relatives à la santé, à la maladie, et la description, l'évaluation thérapeutique des plantes utilisées dans les pharmacopées traditionnelles.

L'usage empirique des différentes préparations traditionnelles plantes est donc extrêmement important pour une sélection efficace de plantes puisque la plupart des métabolites secondaires de plantes employées en médecine moderne ont été découverts par l'intermédiaire d'investigations ethnobotaniques (GURIB-FAKIMM-, 2006)

4. Danger des plantes médicinales

Les plantes médicinales ont parfois des effets indésirables indéniables. Les effets secondaires et indésirables de chaque plante sont clairement identifiés et mis en avant. Cependant, chaque organisme est différent et si vous soupçonnez des effets indésirables dont une plante en est la cause, alors arrêtez le traitement. A vous de trouver les plantes qui vous correspondent le mieux. Certaines plantes pourraient être toxiques à forte dose (ISERIN, 2001).

5. Présentation de la plante *Henophyton deserti* coss. & Durieu

Henophyton deserti coss. & Durieu est une espèce appartenant à la famille des Brassicacées. Elle pousse spontanément dans la région aride Algérienne et se trouve dans les déserts libyen, tunisien, marocain. Elle vit dans le sol gypseux et la roche du désert. Le rôle principal de cette plante est la stabilisation de dunes mobiles et l'avancé du désert (Talbi *et al.*, 2014).



Figure (01) : Morphologie. *Henophyton deserti* coss. & Durieu

5.2 Description botanique *Henophyton deserti* coss. & Durieu

Henophyton deserti coss. & Durieu est une plante vivace (CHEHMA et DJEBAR, 2008) buissonnante glabre très rameuse. Feuilles nombreuses allongées en spatule un peu charnues, alternes, sessiles, rétrécies à la base. Fleurs à quatre pétales de couleur mauve ou violette. Fruit cylindrique étroit. Plante pérenne, ligneuse, en période chaude, qui régénèrera dès que les conditions seraient favorables (QUEZEL et SANTA, 1962).

- La plante *Henophyton deserti* coss. & Durieu dans la région EL BAYADH, les fleurs jaunes, sont trifoliolées, Elle se trouve dans les dunes et lits des oueds, la floraison de la plante de Avril au Mai.

5.1 classification botanique *Henophyton deserti* coss.&Durieu

La classification des plantes de la famille des brassicaceae est la suivante (**tableau 01**)

Tableau(01): Classification scientifique *Henophyton deserti* coss.&Durieu. (QUEZELET SANTA, 1962)

Règne	Végétal
Embranchement	Spermaphytes
Classe	Dicotylédone
Ordre	Pariétales
Famille	Brassicaceae ou Crucifèrae
Genre	<i>Oudneya africana</i> R
Espèce	<i>Henophyton deserti</i> (Coss. & Durieu.)
Nom vernaculaire	Henat l'ibel

5.3 Propriétés et utilisations thérapeutiques

Henophyton deserti Coss. & Durieu. Localement nommée "Alga" ou "Henat l'ibel" (CHEHMA et DJEBAR, 2008). Cette plante médicinale est traditionnellement utilisées depuis long temps en médecine populaire par les populations locales de Ouargla, Ghardaïa et El-Oued (Algérie) pour traiter la cicatrisation des plaies et contre les piqûres du scorpion (effet dermatologique) (ZAKARIA et BELHATTAB, 2016), les feuilles, les tiges de cette plante utilisées comme un compresse pour le traitement de maladie de la peau. (OULD EL HADJ *et al.*, 2003).

Les populations du Sahara utilisent cette plante pour traiter les problèmes digestifs, l'arthrite, le rhume, la grippe et la fièvre (feuilles et graines) (DERBEL *et al.*, 2010). Cette plante est utilisée aussi dans le traitement du diabète et les problèmes de pieds souvent développé par les personnes atteintes le diabète par une décoction ou comme poudre (TELLI *et al.*, 2015).

Les tests phytochimiques des parties aériennes *Henophyton deserti* Coss. & Durieu. ont montré la présence de saponosides, de flavonoïdes, de stérols, de stéroïdes et de tanins en quantités différentes (**SALHI et al., 2013**)

6. Métabolites primaires

Les métabolites primaires sont caractérisés par leur caractère nécessaire et vital à la survie de la cellule ou de l'organisme. Ils ont un rôle essentiel pour le métabolisme et le développement végétal se retrouvent dans toutes les espèces (**BUCHANAN, 2008**).

- Les glucides représentent une source d'énergie surtout au niveau des parois (cellulose).
- Les lipides constituent aussi une source d'énergie présente dans les membranes cellulaires.
- Les aminoacides représentent une source primaire de construction des protéines (**BADIAGA, 2011**).

Les glucides sont des constituants universels des organismes vivants. Parfois appelés hydrates de carbone, ce sont, en première approximation, des composés organiques carbonylés (aldéhydiques ou cétoniques) polyhydroxylés. On englobe dans le groupe des glucides leurs dérivés d'oxydation ou de réduction (acides uroniques, polyols), leurs esters et leurs éthers, leurs dérivés aminés (os amines) (**BOUAL, 2009**).

Selon (**JEAN et LAVOISIER, 2009**), Chez les végétaux, on rencontre les glucides.

- Comme éléments de soutien, participant à la structure de l'organisme (cellulose et autres polysaccharides pariétaux).
- Comme réserves énergétiques, sous forme de polymères (l'amidon) qui stockent l'énergie solaire captée par le processus photosynthétique.
- Comme constituants de métabolites variés: acides nucléiques et coenzymes, mais aussi hétérosides multiples dont le rôle n'est que rarement connu.
- Comme précurseurs obligés de tous les autres métabolites: formés en premier au cours de la photosynthèse à partir du dioxyde de carbone et de l'eau, ils sont à la base de tous les composés organiques du monde vivants.

7.Métabolites secondaires

Une des particularités des végétaux est de former de nombreux composés dont le rôle au niveau de la plante n'est pas encore parfaitement élucidé. Le fait que beaucoup de ces composés ne se rencontrent pas chez toutes les espèces montre qu'ils n'entrent pas dans le métabolisme général (métabolisme primaire) : ce sont des métabolites secondaires qui n'exercent aucune fonction directe aux niveaux des activités fondamentales de l'organisme végétal (croissance, développement, reproduction...) mais peuvent jouer différents rôles pour la survie du végétal lui-même (rôle de résistance) (MERGHEME, 2009).

A.Alcaloïdes

Alcaloïdes sont métabolites secondaires de structure complexe et qui répondent aux critères suivants:

- Molécules organiques
- Molécules azotées = caractère basique
- Insolubles dans l'eau
- Donnent des sels solubles dans l'eau en milieu acide.

Il existe de très nombreux alcaloïdes avec des propriétés pharmacologiques variées souvent très toxiques (marge thérapeutique étroite) (KHENAKA, 2011).

En plus de la choline qui est connue comme constituant des cucurbitacées, (DARWISH *et al.*, 1973), a révélé la présence de trois autres alcaloïdes : (C₁₀ H₁₅ N O₃ et C₂₀ H₃₂ NO) considérés comme des dérivés de la pyridine, tandis que le troisième (C₁₆H₂₄NO₇) a été suggéré être le dérivé de la pyridine ou de la Quinoline.

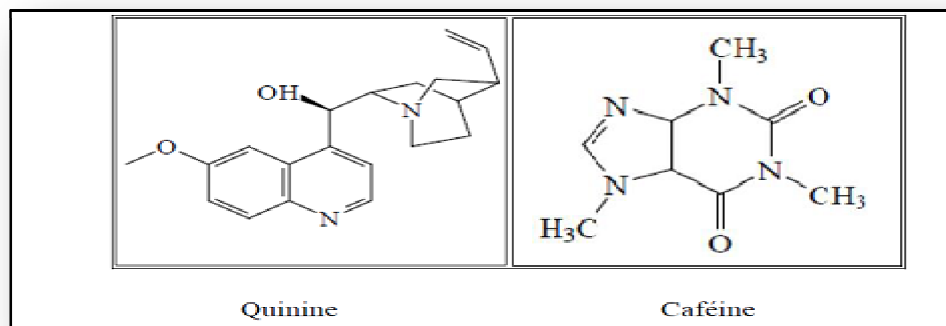


Figure (02): Structure de quelques alcaloïdes

B. Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde rassemble une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des poly phénols. Leur fonction principale semble être la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles (au-delà de la chlorophylle, des caroténoïdes et des bêtaïnes) (BRUNETON, 1999). Tous les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et possèdent le même élément structural de base. Elles se divisent généralement en cinq classes : flavonols, flavones, anthocyanidines, flavonones et chalcones (PETERSON, 1998).

Les flavonoïdes possèdent un squelette de base à quinze atomes de carbone constitué de deux cycles en C6 (A et B) reliés par une chaîne en C3 (GUIGNARD *et al.*, 1985)

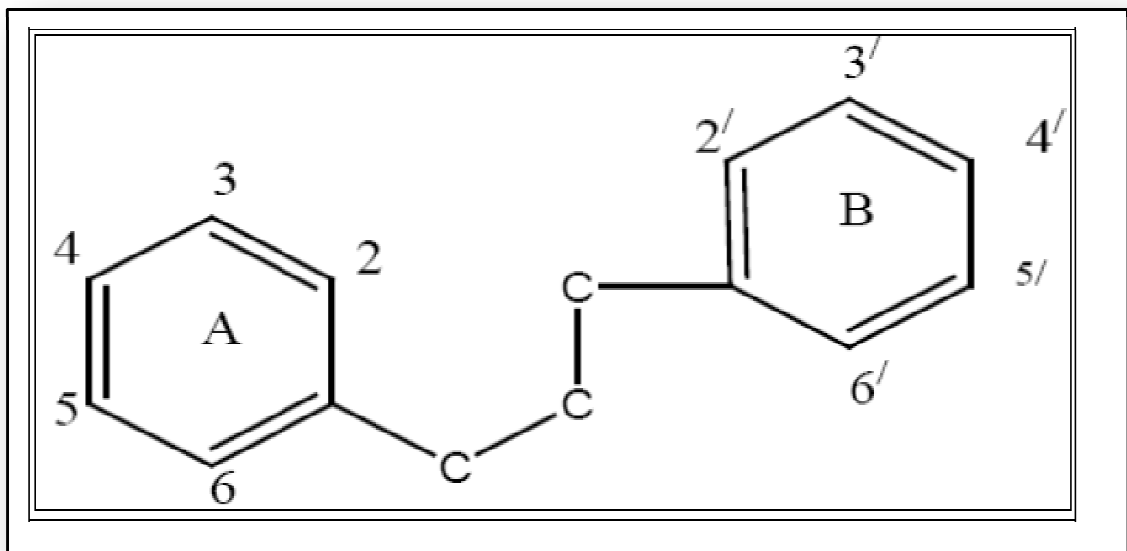


Figure (03) : Structure de base des flavonoïdes.

La chaîne en C3 formant un hétérocycle après condensation avec un OH phénolique du noyau A. La structure chimique des flavonoïdes reportée dans la figure 02 contient un squelette C15 constitué par un noyau chromane et un noyau aromatique placé en position 2, 3 ou 4 (GUIGNARD *et al.*, 1985).

Les flavonoïdes sont des composés phénoliques très répandus dans le règne végétal. L'activité antimicrobienne de ces métabolites secondaires a été testée sur le microbiote ruminal et la totalité des études suggère un effet limité sur la fermentation dans le rumen (AMLAN et PATRA, 2010).

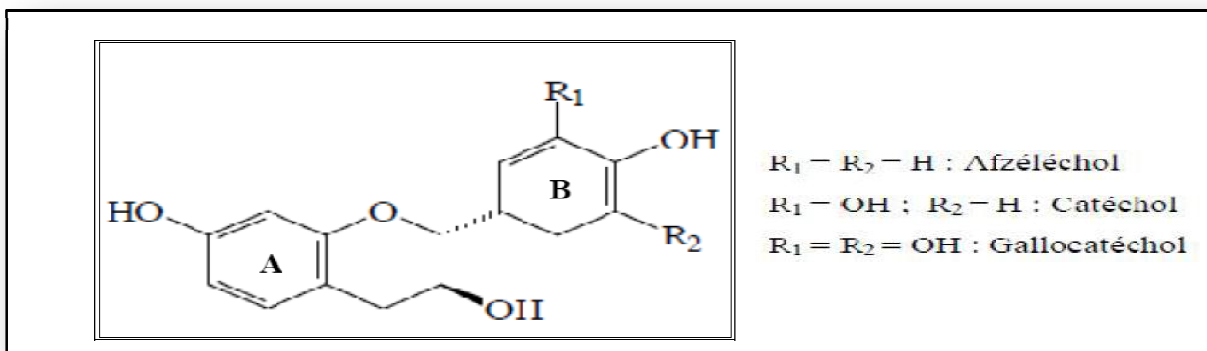
Cependant, quelques travaux rapportent des effets bénéfiques, certains extraits de plantes riches en flavonoïdes peuvent diminuer la production de méthane et stimuler le métabolisme microbien dans le rumen. Dans une étude portée sur l'effet de 13 extraits de plantes riches en flavonoïdes sur la fermentation ruminale en une culture continue, les extraits de *Lavandula officinalis* et de *Solidago virga-aurea* stimulent la fermentation, alors que les extraits d'*Equisetum arvense* et de *Salvia officinalis* diminuent la méthanogénèse. Dans une autre étude in vitro l'extrait de *L. officinalis* augmente la production des AGV (**BROUDISCOU et LASSALAS, 2000**).

C. Les tanins

Les tanins sont des composés phénoliques complexes, hydrosolubles ayant un poids moléculaire compris entre 500 et 3 000 Da (**KAMRA et al., 2006**), ils peuvent former des complexes avec les protéines grâce à la présence de plusieurs groupements hydroxyles phénoliques. Ils sont présents dans plusieurs plantes fourragères avec des proportions différentes (**AMLAN et PATRA, 2010**), selon leur nature chimique ces composés sont divisés en deux classes : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (**COWAN, 1999**).

Les tanins sont des inhibiteurs pour plusieurs microorganismes du rumen et spécialement, les protozoaires ciliés, la flore fibrolytique et les archaebactéries méthanogènes (**KAMRA et al., 2006**).

Les tanins à faible poids moléculaire ont une activité inhibitrice plus importante car ils sont capables de former des liaisons plus fortes avec les enzymes et les protéines en général, comparativement aux tanins à un poids moléculaires élevé. L'inclusion des différents types de fourrages riches en tanins montre une réduction de la production de méthane in vitro et in vivo, cependant, la digestibilité est susceptible d'être fortement diminuée si la concentration de ces composés dépasse les 5% dans la ration (**AMLAN et PATRA, 2010**)

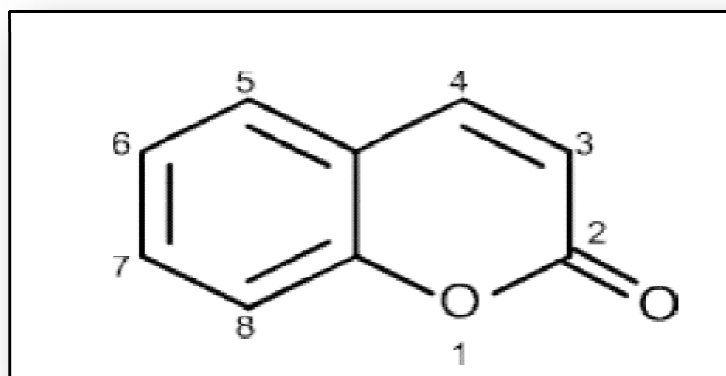


Figure(04):Structure des tanins.

D. Les coumarines

Les coumarines tirent leur nom de « coumarou », nom vernaculaire de la fève Tonka, coumarou na odorata (légumineuses) d'où la coumarine fut isolée, en 1820, elles sont largement distribuées dans le règne végétal.

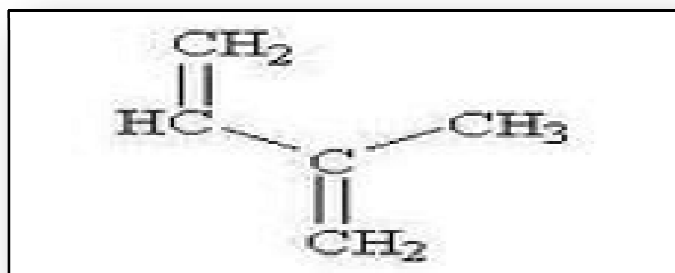
En dehors de quelques rares cas, dont la coumarine elle-même 49, toutes les coumarines sont substituées en C-7 par un hydroxyle. La 7-hydroxycoumarine, connue sous le nom d'ombelliférone 50, est le précurseur des coumarines 6,7-di- et 6, 7,8trihydroxylées(CASLEY, 1993).



Figure(05): structure chimique de coumarine

E. Terpènes

Les terpènes forment un groupe de produits largement représenté et d'un intérêt chimique considérable, bien que de structures très diverses, Les dérivés terpéniques peuvent être considérés en tant que polymères du 5-carbone 2-méthyle-1, 3butadiène ou isoprène (HOPKINGS ,2003)

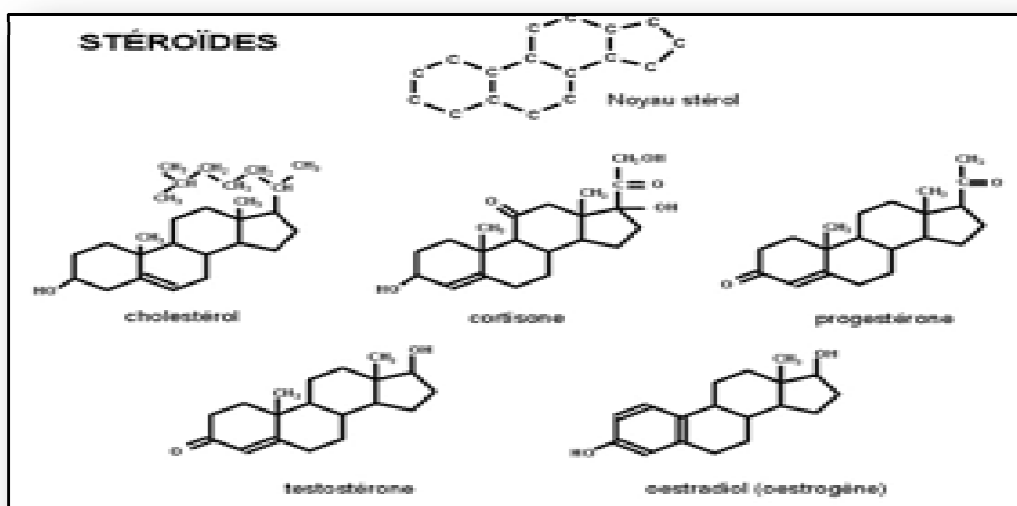


Figure(06) : Structure de la molécule d'isoprène

Selon le nombre d'unités isopréniques qui les constituent on distingue: les Mono terpènes en C10 les Sesquiterpènes en C15 les di terpènes en C20 les triterpènes en C30 les tetraterpènes en C40 et les poly terpènes (~4000) (GUIGNARD ,2000). Les mono terpènes et les Sesquiterpènes volatils sont les principaux composants des huiles essentielles (JUDD *et al.*, 2002).

F.Stéroïdes

Plantes de la famille des discordées. Leurs racines sont très riches en molécules stéroïdiques : diogénise. Les chimistes ont utilisé cette molécule pour fabriquer par héli synthèse, tous les corticoïdes et contraceptifs oraux. La synthèse totale est presque impossible et très couteuse (KHENAKA ,2011).

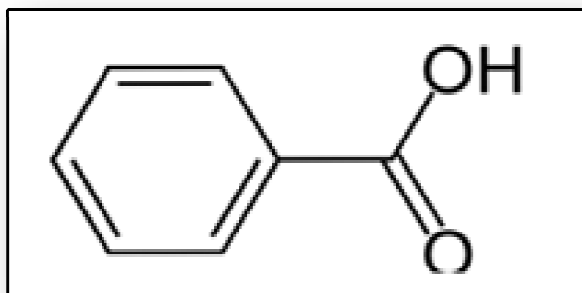


Figure(07) : Structure de la molécule d' Stéroïdes

G. Les acides phénols

Terme désignant en chimie organique toute molécule possédant au moins une fonction acide carboxylique et un hydroxyle phénolique. On distingue deux principales classes des acides phénoliques (NAGENDRAN, 2006) :

- Les dérivés de l'acide benzoïque (Les hydrox benzoïques).
- Les dérivés de l'acide cinnamique (Les hydrox cinnamiques) (FLEURIET *et al.*, 2005).



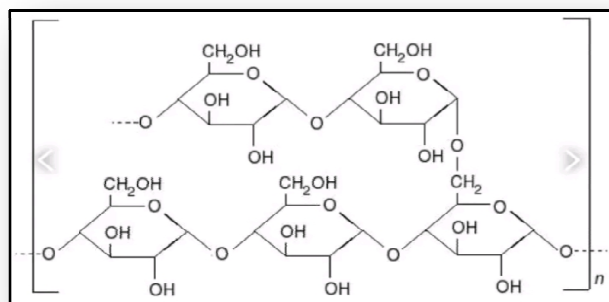
Figure(08) : Structure de l'acide benzoïque, un acide phénol simple

H. Amidon

Il peut représenter jusqu'à 30 ou 60 % du poids sec d'un tissu végétal. C'est la principale réserve glucidique des végétaux et d'aliment glucidique le plus important pour l'homme. Il est abondant dans les graines et les tubercules mais aussi largement répandu dans beaucoup de cellules végétales (AUDIGIE et ZONSZAIN, 2002)

L'hydrolyse acide totale, relativement longue, ne fournit que du glucose; l'hydrolyse enzymatique par une amylase conduit principalement au maltose. L'amidon est donc un poly glucose riche en liaisons (1→4) (AUDIGIE et ZONSZAIN, 2002).

Les granules d'amidon contiennent deux types de polymères. L'amylose et l'amylopectine, l'amylose est un polymère non ramifié de glucose dont les résidus, entre 200 et 500 par chaîne, sont associés par liaisons glycosidiques $\alpha(1\rightarrow4)$. L'amylopectine possède le même type de liaison mais présente, en plus, des ramifications, liées en position $1\rightarrow6$ tous les 25 ou 30 résidus (JEROME *et al.*, 2004).



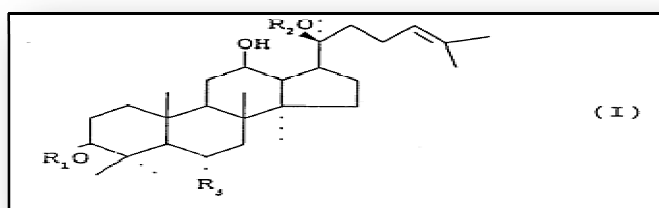
Figure(09): structure de l'amidon

I. Les saponines

Le mot saponine est dérivé du mot latin *sapo*. Les saponines ont reçu leur nom du fait qu'elles produisent une mousse semblable à celle du savon (**HART et al.,2008**). Les saponines sont des glycosides à poids moléculaire élevé, regroupant un ensemble complexe et chimiquement très diversifié de molécules tri terpéniques ou stéroïdes. Elles se composent d'une fraction aglycone hydrophobe (un noyau stéroïdique ou tri terpénique) liée à une chaîne mono ou polysaccharidique hydrophile (**WALLACE ,2004**).

Plusieurs études montrent la capacité des saponines à moduler la fermentation ruminale. Des résultats satisfaisants sont obtenus avec plusieurs extraits de plantes riches

En saponines, telles que *Yucca schidigera*, *Sesbania sesban*, *Carduus pycnocephalus*... (**GOEL et al., 2008**). Les saponines sont capables de diminuer le méthane produit lors de la fermentation grâce à l'inhibition des protozoaires ciliés qui sont en symbiose avec les archaebactéries méthanogènes (**AMLAN et PATRA ,2010**). Elles provoquent la lyse de ces microorganismes par la formation de complexes irréversibles avec le cholestérol présent dans leurs membranes cytoplasmiques. Cependant, le nombre de protozoaires est fortement affecté par la nature du régime alimentaire ce qui limite l'effet des saponines.



Figure(10) : structure de saponines.

Chapitre II
Les méthodes d'extraction
ET Chromatographie sur
couche mince CCM

1. Les Principales méthodes d'extraction (Extraction des composés phénoliques)

L'extraction est une opération qui consiste à séparer certains composés d'un organisme végétal selon diverses techniques l'extraction d'une molécule se fera toujours par solvant de même polarité, le choix d'un solvant ou d'un mélange des solvants est primordial lorsqu'il s'agit, Pour l'extraction des drogues végétales est basé sur plusieurs paramètres physicochimiques telle que la polarité, la solubilité des constituants cibles, l'innocuité, la facilité d'élimination et la pureté du solvant (**Tableau 0 2**) (**HANDA et al., 2008**)

Les solvants polaires tels que l'eau, l'acétate d'éthyle, le méthanol, l'éthanol ou l'acétone permettront d'isolement de molécules Polaires (terpénoides phénols, lactones, alcaloïdes, protéines, acides aminés, gommes, mucilage et les solvants apolaires (l'hexane, le toluène, le chlorure de méthylène, le chloroforme va extraire les carbures, lipides, stérols, les huiles essentielles, cires, résine, et chlorophylle)(**ANTON et WICHTL, 2003**).

Tableau (02) : Solvants et composés phytochimiques (COWAN, 1999).

<i>Solvants</i>	Composés phytochimiques
<i>Eau</i>	Anthocyanes Tanins Saponines
<i>Ethanol</i>	Poly phénols
<i>Méthanol</i>	Anthocyanes Saponines Lactones Flavonoïdes Phénols
<i>Chloroforme</i>	Terpénoïdes Flavonoïdes
<i>Ether</i>	Alcaloïdes Terpénoïdes Coumarine
<i>Acétone</i>	Phénols Flavonoïdes

Le choix de la procédure d'extraction est basé sur les caractéristiques physicochimiques des composés à extraire, Deux procédures d'extraction sont généralement utilisées (**HANDA et al., 2008**)

- Extraction par mise en contact avec un solvant : les échantillons végétaux broyés sont mis en contact avec le solvant dans un mélangeur, puis l'extrait est filtré.
- Le filtrat peut être séché sous pression réduite, puis dissout dans le solvant.
- Extraction successive avec des solvants de polarité croissante : d'un solvant apolaire à un solvant polaire pour assurer une extraction optimale des composés de polarités différentes.

2.Méthodes d'extraction des composés phénoliques

Plusieurs techniques sont utilisées pour extraire les composés phénoliques. Ces techniques sont soit conventionnelles, telles que l'extraction par macération, chauffage à reflux, par infusion et au Soxhlet, ou nouvelles comme l'extraction assistée par micro-ondes, par ultrasons, ou par fluide supercritique.

2.2Méthodes conventionnelles

A.Macération

L'extraction par macération est utilisée depuis longtemps pour extraire les tanins condensés et les poly phénols à partir des écorces d arbres, ou à partir des fruits. Les solvants utilisés sont l'eau, l'acétone 70% ou le méthanol 80%.

Elle présente l'intérêt d'être facile à mettre en œuvre, et non coûteuse, mais d'autre part, elle nécessite beaucoup de temps (24h-72h) et elle est très peu sélective (MAKINO *et al.*, 2009).

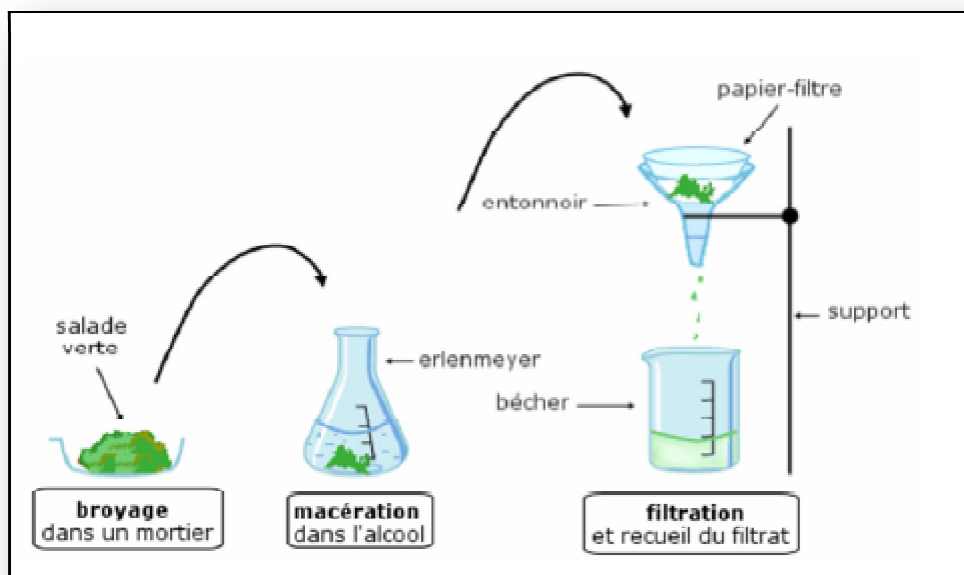


Figure (11) : Etapes de la macération

B. Infusion

L'extraction par infusion consiste à utiliser l'eau chaude pour extraire les poly phénols dans les plantes pour leurs propriétés anti-oxydantes ou anti-inflammatoires (DIOUF *et al.*, 2009). Cette méthode est simple, n'utilise pas de solvant, limite le développement bactérien mais elle permet d'extraire une quantité importante de sucres et nécessite un temps d'extraction long (3h) (MAKINO *et al.*, 2009).

2.3 Extractions par chauffage à reflux

C'est une méthode d'extraction solide-liquide à chaud. Le reflux permet la réalisation d'une extraction à une température constante (température de reflux) égale à la température d'ébullition du solvant. Ainsi le solvant s'évapore et le réfrigérant condense les vapeurs qui retombent dans le ballon, permettant au solvant d'être ainsi recyclé (figure 12). Le chauffage (augmentant solubilité et transfert de matière), l'ébullition (agitation) et le reflux permettent une extraction efficace avec un appareillage relativement simple (HANDA *et al.*, 2008). Le chauffage à reflux est utilisé pour extraire efficacement des composés phytochimiques (GAO et LIU, 2005 ; PLESA *et al.*, 2011).

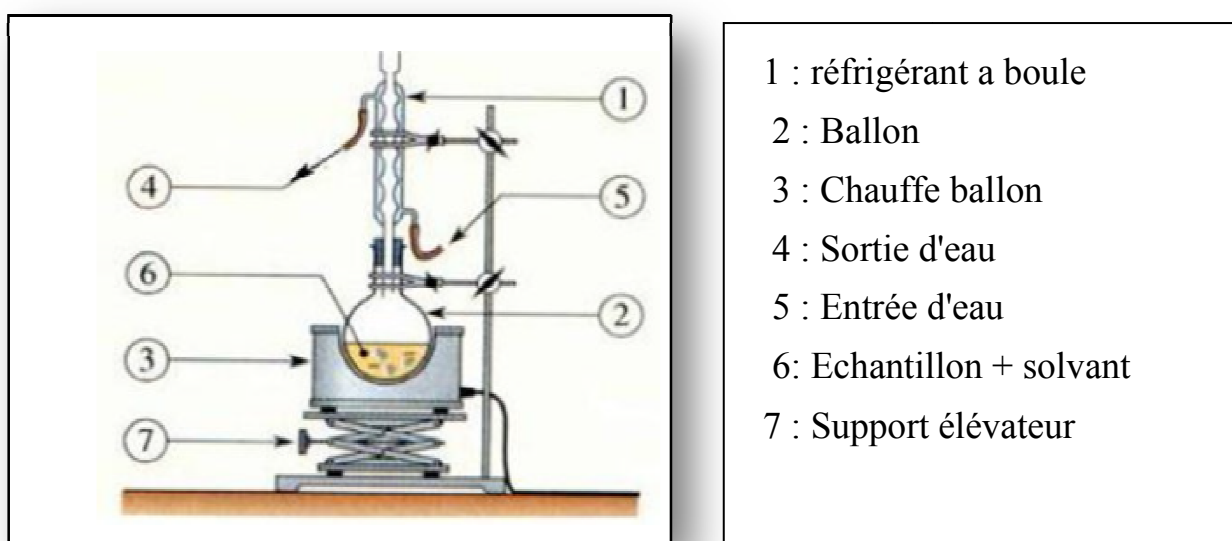


Figure (12) : Montage d'un système de chauffage à reflux

2.4 Extraction par hydrolyse acide

Elle consiste en l'extraction et la séparation des flavonoïdes par hydrolyse acide et à chaud de la poudre végétale (la liaison C-O-C des O-glycosyl-flavonoïdes est très fragile et se rompt à l'hydrolyse acide en libérant les aglycones, par contre la liaison C-C des C-glycosyl-flavonoïdes est très résistante à ce type d'hydrolyse) et permet d'obtenir deux types de composés :

- Une fraction d'aglycones et d'acides phénols par l'extraction préliminaire à l'éther diéthylique.
- Une fraction de C-glycosides et d'anthocyanes récupérée par l'extraction au nbutanol.

2.5 Extraction au CO₂ supercritique

Il s'agit du procédé le plus récent d'extraction à froid des matières premières végétales utilisant le gaz carbonique, nécessite des conditions critiques faciles à atteindre ($T = 31.1^{\circ}\text{C}$, $P = 73.8 \text{ bar}$), le CO₂ sous pression et à température supérieure à 31°C , le gaz carbonique se trouve dans un état « supercritique » ; la matière végétale est chargée dans l'extracteur puis le CO₂ est introduit sous pression et réfrigéré, le mélange est recueilli dans un vase d'expansion. La pression y étant réduite, le CO₂ reprend ainsi sa forme gazeuse et est complètement éliminé.

L'extrait végétal est isolé, les matières premières ainsi obtenues sont proches du produit naturel d'origine sans trace résiduelle de solvant (**Figure 13**) (**HERADEZ *et al.*, 2003**)

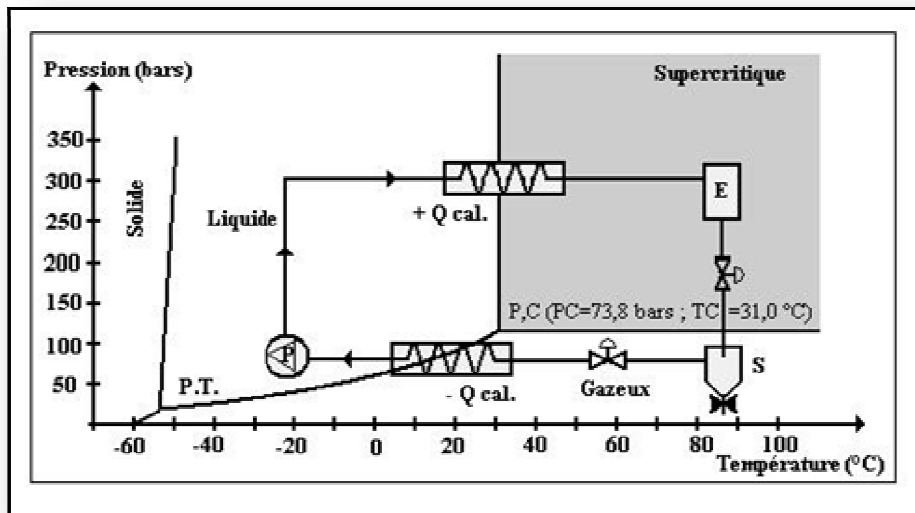


Figure (13) : Schéma de principe de l'extraction par CO₂-SC associé au diagramme (P-T) (**WANG et WALLER, 2006**).

2.6Extraction assistée par micro-ondes (MAE, Microwave Assisted Extraction)

C'est une technique récente développée dans le but d'extraire des produits naturels comparables aux huiles essentielles et aux extraits aromatiques. Dans cette méthode, la plante est chauffée par un rayonnement micro-ondes dans une enceinte dont la pression est réduite de façon séquentielle.

Les molécules volatiles sont entraînées dans le mélange azéotropique formé avec la vapeur d'eau propre à la plante traitée.

Ce chauffage, en vaporisant l'eau contenue dans les glandes oléifères, crée à l'intérieur de ces dernières une pression qui brise les parois végétales et libère ainsi le contenu en huile (HERODEZ *et al.*, 2003).

2.7Extractions assistée par ultra-sons (Ultrasonic Assisted Extraction (UAE)

Cette technique présente l'intérêt de faire des extractions à température ambiante, 20-25°C et pour des durées très courtes de 3-30 min, ce qui permet de préserver les composés thermolabiles (acide gras, poly phénols), des colorants, des antioxydants, des arômes ou aussi des caroténoïdes (ROUTRAY et ORSAT, 2012).

Son principe consiste à la destruction des parois cellulaires par des fréquences d'ultrasons (Les fréquences utilisées sont généralement supérieures à 20 kHz), ce qui permet une meilleure pénétration du solvant au cœur de la matière, et par conséquent un meilleur rendement d'extraction.

En milieu liquide, les ultrasons provoquent des cycles d'expansion et de compression des cellules formant ainsi des bulles, le développement excessif des bulles microscopiques à proximité des parois cellulaires, entraîne une élévation de température et de pression, ce qui provoque l'explosion des bulles et la destruction des parois cellulaires (WANG et WELLER, 2006).

3. Caractérisation et identification des composés phénoliques

3.1Chromatographie sur couche mince CCM

La Chromatographie sur couche mince CCM (**Figure14**) est utilisée comme technique de routine, pour l'analyse rapide des fractions obtenues après séparation initiale. L'efficacité de la CCM comme technique de séparation est souvent mise à profit dans la phase ultime de purification, au moins pour les petites quantités, lorsque d'autres techniques ont montré leurs limites(PRADEAU

et DAUPHIN, 2007). La chromatographie sur couche mince (CCM) est principalement basée sur les phénomènes d'adsorption : la phase mobile est un mélange de solvants ou de solvant, qui progresse le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou d'aluminium. Après l'échantillon a été déposé sur la phase stationnaire, les substances migrent à une vitesse qui dépend de leur nature et de celle du solvant. Après la migration, les molécules sont identifiées soit par lumière ultra-violet (UV), soit par un colorant spécifique ou une exposition aux vapeurs d'iode. La distance de migration des composés est ensuite mesurée et comparée à celle du front de la phase mobile, cela permet de définir la référence frontale (R_f) caractéristique de chaque composé. Précise que la technique du CCM, bien que beaucoup moins efficace que la chromatographie en phase gazeuse, puisse être utilisée en routine pour le contrôle de qualité des huiles essentielles (BRUNETON, 1999)

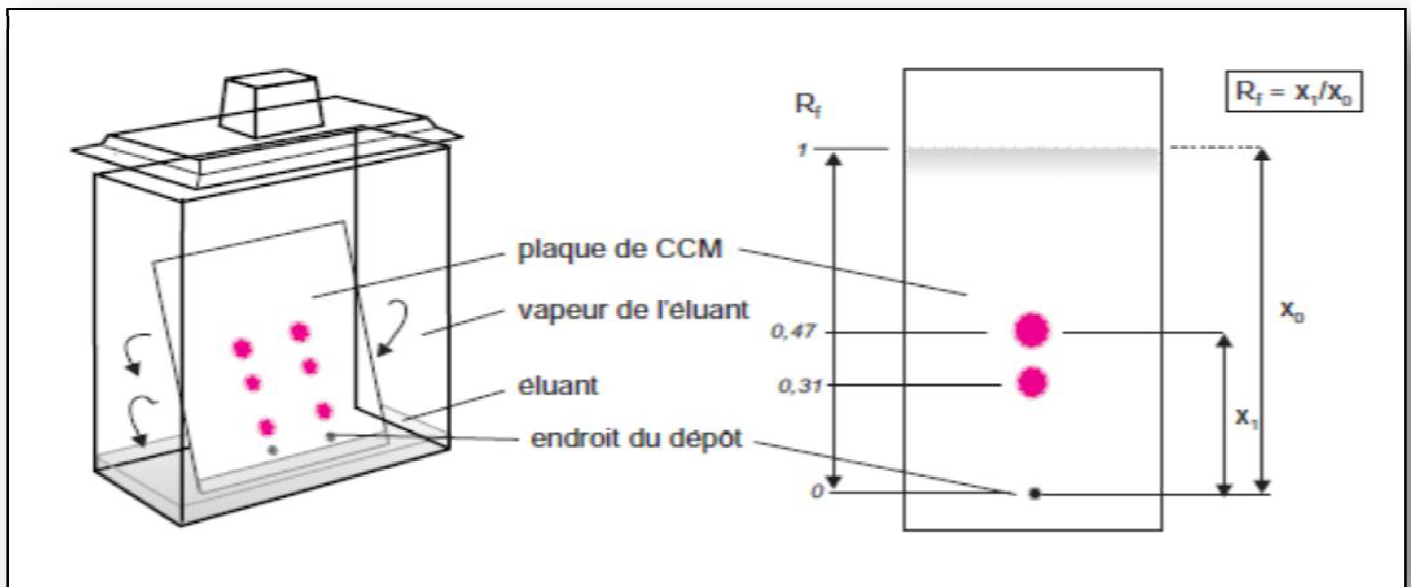


Figure (14) : Chambre de développement à cuve verticale et plaque de CCM (ROUESSAC *et al.*, 2004)

Chapitre III
Les activités Biologiques
de la plante médicinale

1. Activité anti bactérienne

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires qui sont les procaryotes, car ils ne possèdent pas de membrane nucléaire. 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. On peut les voir au microscope optique, à l'état frais ou après coloration (NAUCIEL et VILDE, 2005). L'élimination des microorganismes pathogènes fait appel à des substances dites : antibiotiques. Ils sont synthétisés par des microorganismes (le plus souvent des *champignons*). Mais la très grande utilisation souvent inadaptée de ces molécules antibactériennes a entraîné la sélection de souches multi-résistantes. Ce phénomène de résistance aux antibiotiques est général et concerne toutes les espèces bactériennes (AKOUA-KOFFI *et al.*, 2004). La résistance des bactéries aux antibiotiques est due à des mutations chromosomiques ou à l'acquisition de gènes de résistance portés par des éléments génétiques mobiles (*plasmides, phages, transposons, intégrons*). Ces résistances ont conduit à chercher de nouveaux agents antibactériens possédant une efficacité plus importante que les drogues (KEMPF et ZEITOUNI, 2012). Les molécules aromatiques possédant l'activité antibactérienne la plus importante sont les Phénols, les terpènes ou terpénoïdes. Il peut être s'agit de la rupture de la membrane par les composés lipophiles (COWAN, 1999). D'une manière générale, l'action des huiles essentielles se déroule en trois phases :

- Attaque de la paroi bactérienne par l'huile essentielle, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires.
- Acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure
- Destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie.

1.1 Détermination des doses minimales inhibitrices et bactéricides (CMI et CMB)

La construction des courbes de croissance *in vitro* en présence de concentration croissante en agents antimicrobiens permet de définir des concentrations limites : c'est-à-dire la concentration pour laquelle on n'observe pas de croissance visible. La concentration inhibitrice 50 % ou CMI correspond à une croissance égale à la moitié de la croissance du témoin et la concentration minimale bactéricide (la CMB) correspond à la concentration permettant de tuer tous les micro-organismes. Celle-ci est appréciée par étalement après

culture. Ces méthodes sont adaptables aussi bien aux antibiotiques qu'à d'autres substances bactéricides (BOUSSEBOUA,2002)

1.Activité antifongique

Cette activité est estimée en fonction de la durée de l'inhibition de croissance déterminée par simple observation macroscopique. L'activité antifongique diminue selon le type de fonction chimique : Phénols › Alcools › Aldéhydes › Cétones › Ethers › Hydrocarbures, Parmi les aldéhydes aliphatiques, le cinnamaldéhyde s'est été le plus actif. Pour les composés phénoliques, l'activité antifongique augmente avec l'encombrement stérique de la molécule (p-npropylphénol › thymol › isoeugénol › eugénol). (ULTEE *et al.*, 2000). L'addition de groupements alkyls au noyau benzène du phénol augmente le caractère antifongique. Par conséquent, un certain degré d'hydrophobicité des composés phénoliques ou aldéhydes aromatiques semble être pour exprimer une caractéristique antifongique optimale. L'activité des terpènes dans les huiles essentielles est en corrélation avec leur fonction chimique. Avec leur travail, ils ont montré l'importance de spécifier le genre et l'espèce, ainsi que de la variété de la plante dont l'extrait provient. (CHAO *et al.*, 2000). L'eugénol est un composé antifongique efficace qui cause des dommages permanents aux cellules des levures tels que *Condida albicans* et des champignons : *Aspergillus ochraceus*, *A. versicolor*, *A. niger*, *A. fumigates*, *Trichoderma viride* et *P.funiculosum* (BEATOVIC *et al.*, 2015 ;LATIIFAH-MUNIRAH *et al.*,2015).

3.Activité Antioxydant

Les antioxydants sont définis par (PASTRE et PRIYMENKO ,2007) comme «toute substance qui en faible concentration par rapport au substrat susceptible d'être oxydé prévient ou ralentit l'oxydation de ce substrat». Ils permettent le maintien de la qualité et d'augmenter la durée de conservation du produit.

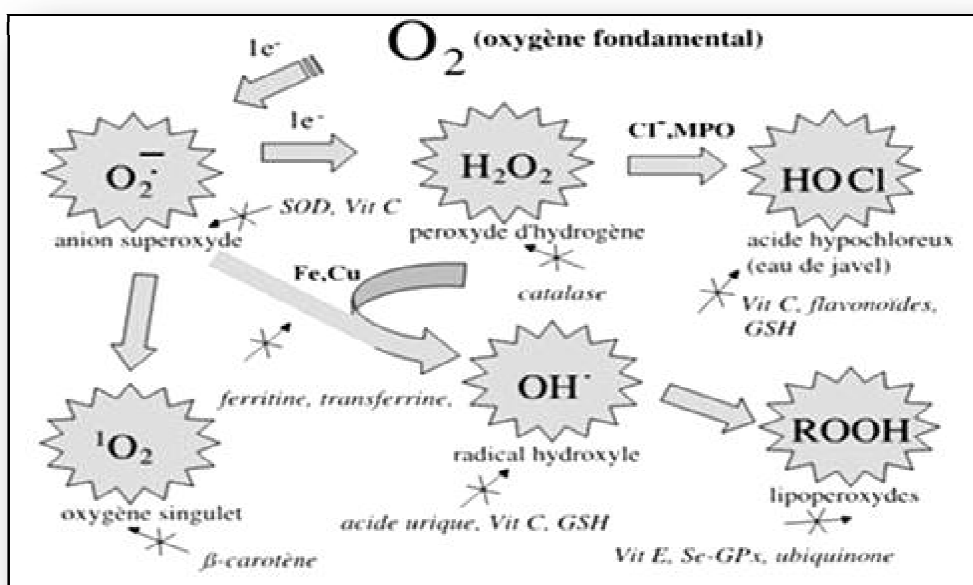
Les antioxydants sont largement présents dans nos aliments, soit sous forme naturelle, soit sous forme d'additifs utilisés dans l'industrie agroalimentaire (TANGUY *et al.*, 2009). En outre, l'antioxydant alimentaire idéal, doit être soluble dans les graisses, efficace à faible dose, et non toxique, n'entraîne ni coloration, ni d'odeur, ni saveur indésirable, résistant aux processus technologiques, et stable dans le produit fin (HELLAL, 2011). Ils sont capables de minimiser efficacement les rancissements, retarder la peroxydation lipidique, sans effet sur les propriétés sensorielle et nutritionnelle du produit alimentaire. les Épices sont très riches en métabolites antioxydants, une vaste revue scientifique a

classé la cannelle moulue au quatrième rang parmi les 50 aliments renfermant le plus d'antioxydants (HALVORSEN *et al.*, 2006).

3.1 Mécanisme d'action

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulier, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la chélation des métaux de transition (FAVIER, 2003).

Les antioxydants piègent les radicaux libres en inhibant les réactions à l'intérieur des cellules provoquées par les molécules de dioxygène et de peroxyde, aussi appelées espèces oxygénées radicalaires (EOR) et espèces azotées radicalaires (Figure 15) (BENBRROOK, 2005).



Figure(15) : régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydants (MILBURY et RICHER, 2008).

L'effet résulte d'une structure de donneurs d'atome d'hydrogène ou d'électrons souvent aromatiques cas de dérivés du phénol.

En fait, les antioxydants sont des agents de prévention, ils bloquent l'initiation en complexant les catalyseurs, en réagissant avec l'oxygène, ou des agents de terminaison capables de dévier ou de piéger les radicaux libres, ils agissent en formant des produits finis non radicalaires. (HELLAL, 2011).

3.1.1 Test de piégeage du radical DPPH

Ce test, utilise une réaction d'oxydoréduction avec le 2,2 picrylhydrazyl radicale (DPPH) afin de déterminer la capacité anti -oxydante des extraits.

Le radical a une couleur violette en raison de l'électron non apparié d'azote et, après réaction avec l'atome d'oxygène d'un piègeur de radicaux de la réduction de DPPH-H (2,2- diphényl-1picrylhydrazin) est formé, qui est jaune (VILLANO *etal.*, 2007). Le changement de couleur suivie par spectrophotométrie à 517nm et de cette façon le potentiel antioxydant d'une substance ou un extrait peut être déterminée (MOLYNEUX, 2004).

La cinétique de cette activité a permis de déterminer les concentrations qui correspondent à 50 % d'inhibition (IC50); la valeur la plus faible correspond à l'efficacité de l'extrait la plus élevée. La valeur d'IC50 est exprimée en $\mu\text{g. ml}^{-1}$ (3 répétitions pour chaque concentration).

*MATERIEL ET
METHODES*

1. Matériels et méthodes

Notre travail a été réalisé au sein de le laboratoire pédagogique au département de biologie à la faculté des sciences de *l'université Dr. Moulay Tahar de Saida*.

1.1 Matériels biologiques

1.1.1 Matériels végétal

Notre plante est l' *Henophyton deserti* *Coss.& Durieu* a été récolté dans la région d'*EL BAYADH*, les feuilles sont nettoyées, broyé la conservé dans un endroit. La plante a été stockée soigneusement dans un endroit sec en vue de leurs analyses (Tests phytochimiques dosage des composées phénoliques par la méthode colorimétrique).



Figure (16) : Morphologie. *Henophyton deserti* *Coss.& Durieu*(photo original,2022)

Tableau(03) : lieu de récolte de la plante et les caractéristiques bioclimatiques de la zone de récolte.

La plante	<i>Henophyton deserti</i> Coss.& Durieu
La quantité du matériel végétal traité	1500 à 2000g
Etat	Sec
Lieu de récolte	El bayadh (Boualem)
Période de récolte	2021
Nature de la plante	Spontanée
Lieu d'achat	El bayadh
Etage bioclimatique	Semi-aride

A. Caractères généraux de la zone d'étude (El-bayadh)

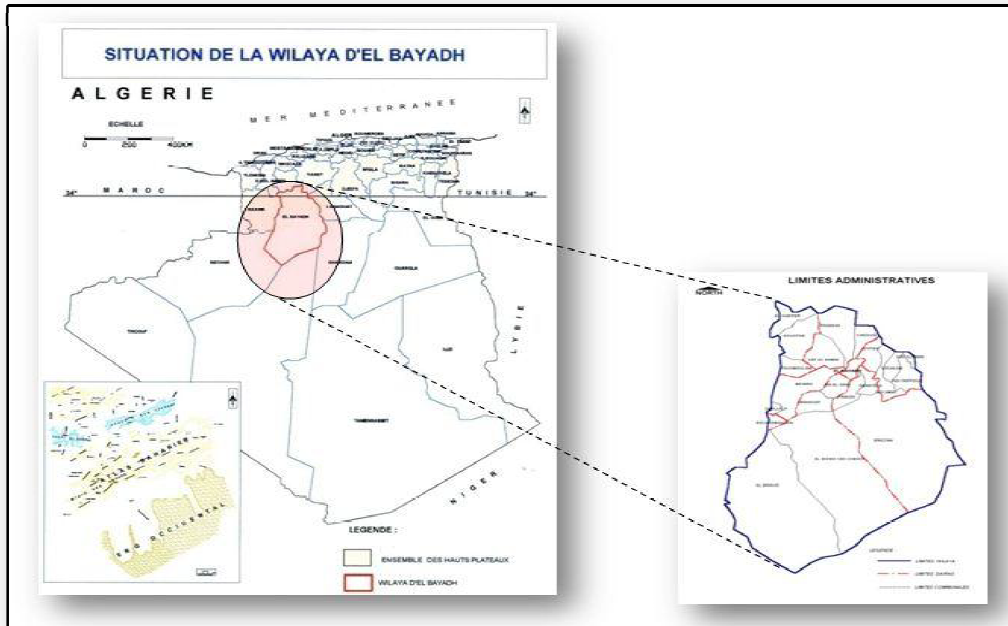
La wilaya d'El-Bayadh est située au Sud-Ouest du pays et fait partie intégrante des hautes plaines steppiques oranaises. Sur le plan de la stratégie nationale, elle est rattachée à la région programme « Hauts plateaux Ouest » qui concerne outre la Wilaya d'El-Bayadh, les Wilayas de Tiaret, Nâama, Saida et Tissemsilet, (**Figure 17 et 18**). Elle est limitée,

Au Nord et Nord-Ouest par Saida - Tiaret et Sidi Bel Abbés.

A l'Est et Sud est par Laghouat - Ghardaïa et Adrar.

A l'Ouest et Sud-Ouest par Nâama et Béchar.

Territoire majoritairement aride et semi-aride, la Wilaya s'étend sur une superficie de 71.696,70 Km².



Figure(17) : Situation de la wilaya *d'El Bayadh*

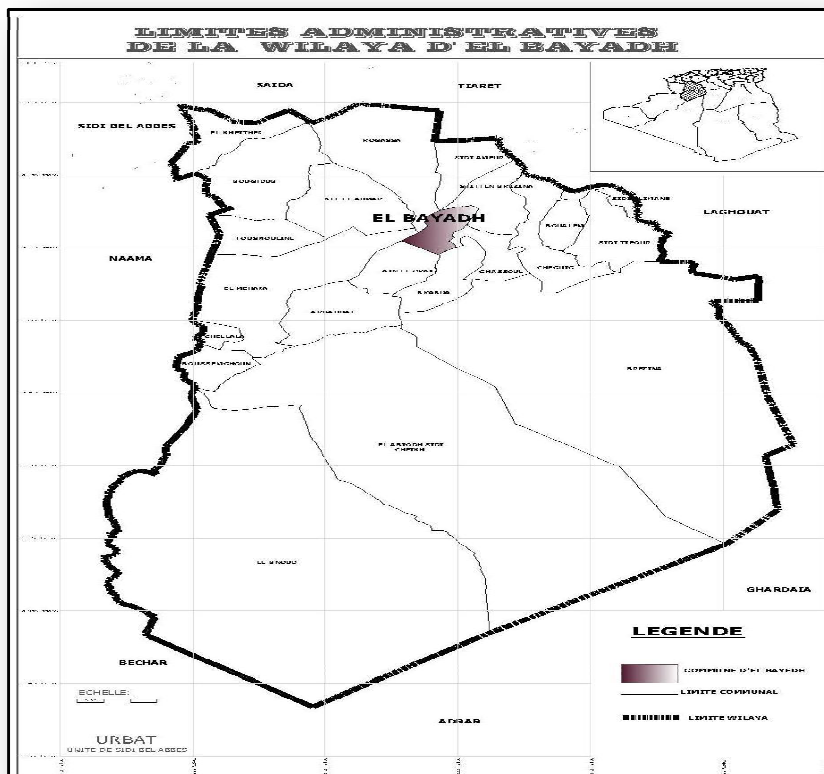


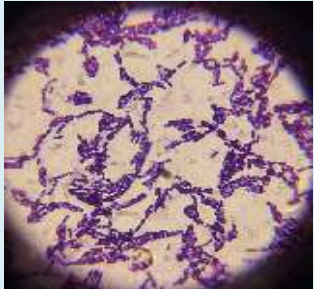

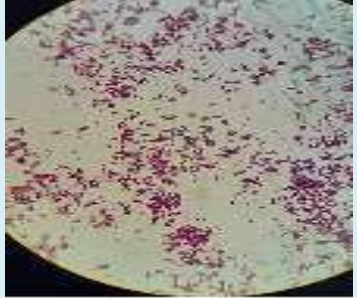
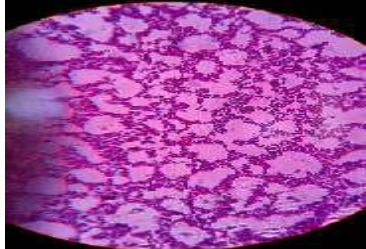
Figure (18): Carte des limites de la wilaya *El bayadh*

1.1.2 Matériel vivant

A. Microorganismes (souches testées)

Pour la mise en évidence de l'activité antimicrobienne, quatre (04) souches bactériennes et (quatre (04) levure (Tableau04) ont été testées vis extra à la vis de la *Henophyton deserti* Coss.& Durieu pour les bactériennes obtenues du laboratoire pédagogique de biologie (Université Dr. Moulay Tahar de Saida) et pour les levures obtenues du laboratoire pédagogique de biologie (Université de Tlemcen)

Tableau(04) : les différents microorganismes utilisés.

	Microorganisme	Référence		
Bactéries	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC25923	Gram +	
	<i>Listeria innocua</i>	ATCC19115	Gram +	
	<i>Escherichia coli</i>	ATCC25922	Gram -	
	<i>Kelbsella</i>		Gram -	

Levures	<i>Condida albicana</i>	A6-SB
	<i>Condida albicana</i>	A7-SB
	<i>Condida albicana</i>	A9-SB
	<i>Condida albicana</i>	A14-SB

1.1.3 Matériel technique d'étude au laboratoire

A. Réactifs et produits chimiques

Plusieurs réactifs et produits chimiques ont été utilisés dans ce travail, parmi ces produits: Magnésium, HCl, FeCl₃, réactif de Fehling, d'acide acétique, H₂SO₄, chlorure de fer, méthanol, éthanol, Na₂CO₃, AlCl₃, d'acétate de sodium, eau physiologique, chloroforme, Eau distillée, Réactif de Wagner et Mayer.

B. Appareillage et matériels utilisé

-UV spectrophotomètre (UV-1800 SHIMADZU), Cuves de plastique et de Quart, Evaporateur rotatif (Rotavapor BUCHI Heating bath R-210), Ban marie, pompe sous vide, Etuve (Mommert, Beschickung-Loadig Model 100-800).

-Verrerie : béchers, balance de précision, éprouvettes graduées, tubes à essais, les pipettes gradué et les micro-pipettes, les entonnoirs, les erlenmeyers.

1.2 Méthode de Préparation des extraits Extraction par chauffage à reflux

- Extraction sous reflux et à chaud (100c°) de 15g de poudre végétal dans 100ml méthanol / éthanol / eau, pendant 1h 30min
- Filtration et récupération du filtrat
- Le filtrat est évaporé à sec
- Le produit est récupère sur les parois de ballon d'évaporation
- L'extrait conservé



Figure(19) : Le montage pour extraction d'extract.

Les plantes étudiées

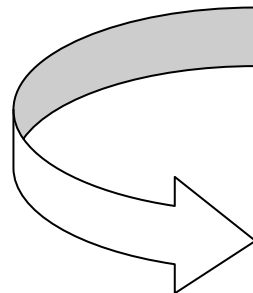
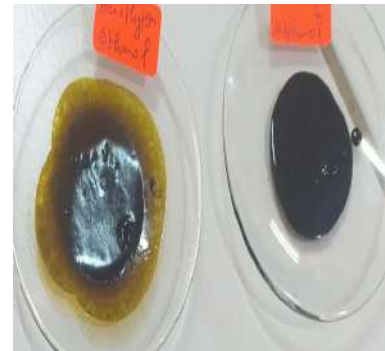
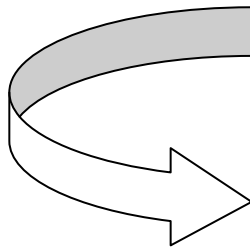
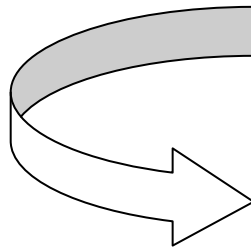
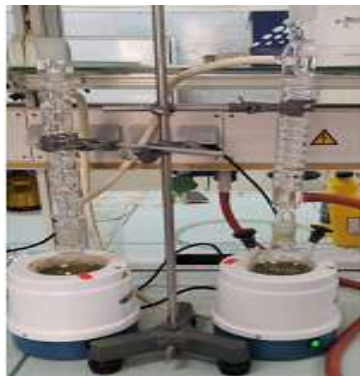


Figure (20) : Protocole de l'extraction.

1.2.1 Le rendement de *Henophyton deserti* Coss. & Durieu

Le rendement des extraits secs est le rapport entre le poids d'extrait sec obtenu (en gramme) et le poids de la plante utilisée (en gramme) (HARBORNE, 1998).

Le rendement qui est exprimé en pourcentage, a été calculé par la formule suivante:

$$\text{Rdt \%} = \left[\frac{\text{PE}}{\text{PA}} \right] \times 100$$

- R = Rendement de l'extrait en pourcentage.
- PE = Poids de l'extrait en gramme.
- PA = Poids de la plante en gramme.

1.2.2 Tests phytochimiques de la plante *Henophyton deserti* Coss. & Durieu

Les extraits préparés ont fait l'objet de quelques tests phytochimiques à fin de détecter la présence et l'absence de certaines familles chimiques, pour cela nous avons réalisé sur nos extraits certains tests qualitatifs :

A. Alcaloïdes

Nous avons procédé à une macération de 24 heures de 2 grammes de poudre végétale mélangés à 50 ml de H₂SO₄ dilués au demi et à de l'eau distillée. Nous avons filtré le mélange et rincé à l'eau de manière à obtenir 50 ml de filtrat. Ensuite nous avons utilisé deux tubes à essai dans lesquels nous avons introduit 1 ml du macérat. On ajoute dans le tube n°1 : 5 gouttes de réactif Mayer et tube n°2 : 5 gouttes de réactif Wagner. La présence d'une turbidité ou d'un précipité après 15 minutes indique d'alcaloïdes. (PARIS *et al.*, 1969)

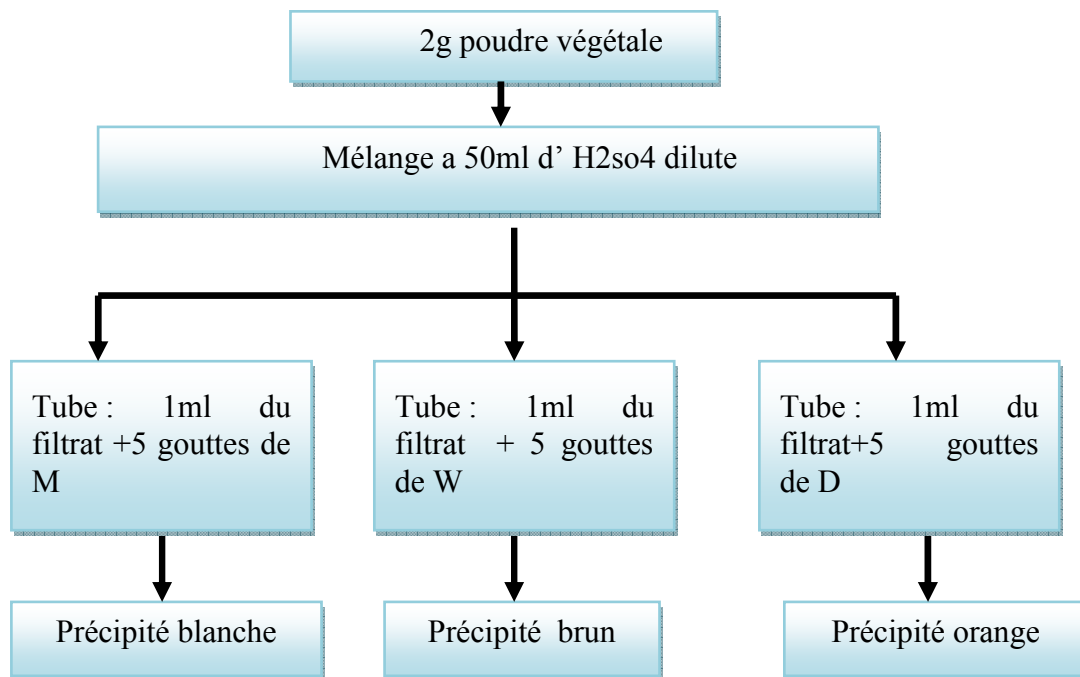


Figure (21): schéma des tests phytochimique pour la détection des alcaloïdes

B. Les tannins

La présence des tannins est mise en évidence en ajoutant à 1ml de l'extrait éthanoïque et méthanolique 2ml d'eau et 2 à 3 gouttes de solution de FeCl₃ diluée (1 %). L'apparition d'une coloration bleue noire caractérise la présence des tannins galliques, verte ou bleu-verte celle des tannins catéchiques (TREASE et EVANS, 1987).

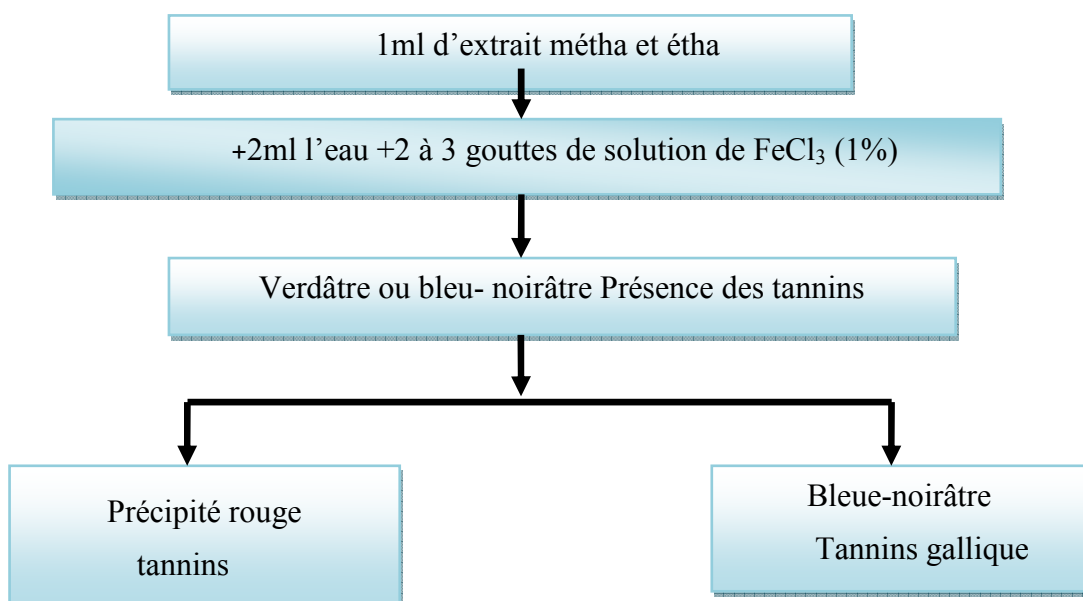


Figure (22) : Schéma des tests phytochimiques pour la détection des tannins

C. Les flavonoïdes

La réaction de détection des flavonoïdes consiste à traiter 5ml de l'extrait éthanolique et méthanolique avec 1ml de HCl concentré et 0,5g de tournures de magnésium. La présence des flavonoïdes est mise en évidence si une couleur rose ou rouge se développe après 3 minutes (CAVE, 1993).

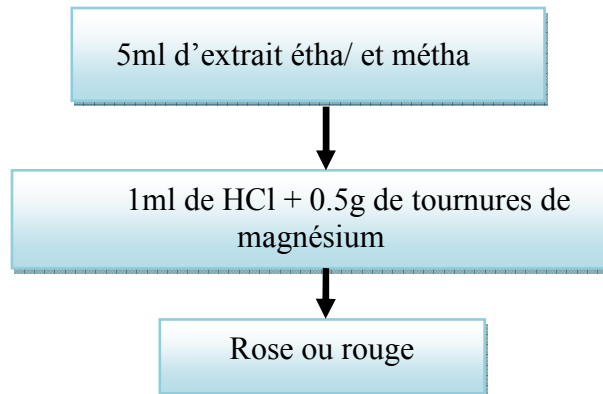
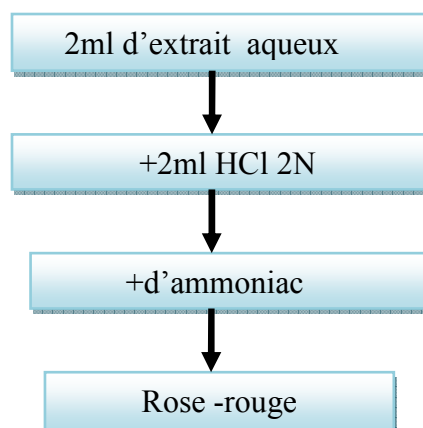


Figure (23) : Schéma des tests phytochimiques pour la détection Les flavonoïdes

D. Les anthocyanes

Un volume de 2ml d'infusé aqueux est additionné à 2ml de HCl 2N. L'apparition d'une coloration rose-rouge qui vire au bleu-violacé par addition d'ammoniac indique la présence d'anthocyanes (DEBRAY *et al.*, 1971 ; PARIS *et al.*, 1969).



Figure(24) : Schéma des tests phytochimiques pour la détection des Les anthocyanes

E. Les stérols

Test pour les stérols et stéroïdes

Un volume de 10ml de l'extrait éthanolique et méthanolique est placé dans un erlenmeyer. Après évaporation à sec, le résidu est solubilisé avec 10ml de chloroforme anhydre. Ensuite on mélange 5ml de la solution chloroformique avec 5ml d'anhydride acétique en y ajoutant quelques gouttes d'acide sulfurique concentré. On agit et on laisse la solution se reposer.

Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration violacée fugace virant au vert

(maximum d'intensité en 30 minutes à 21°C). (TREASE et EVANS, 1987)

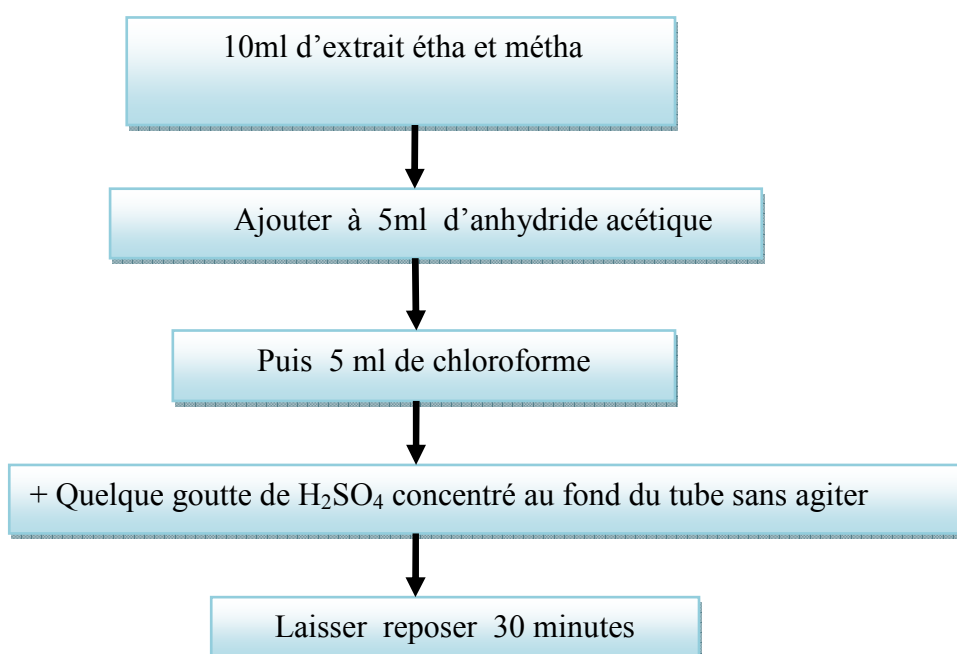


Figure (25) : Schéma des tests phytochimiques pour la détection des stérols et triterpènes

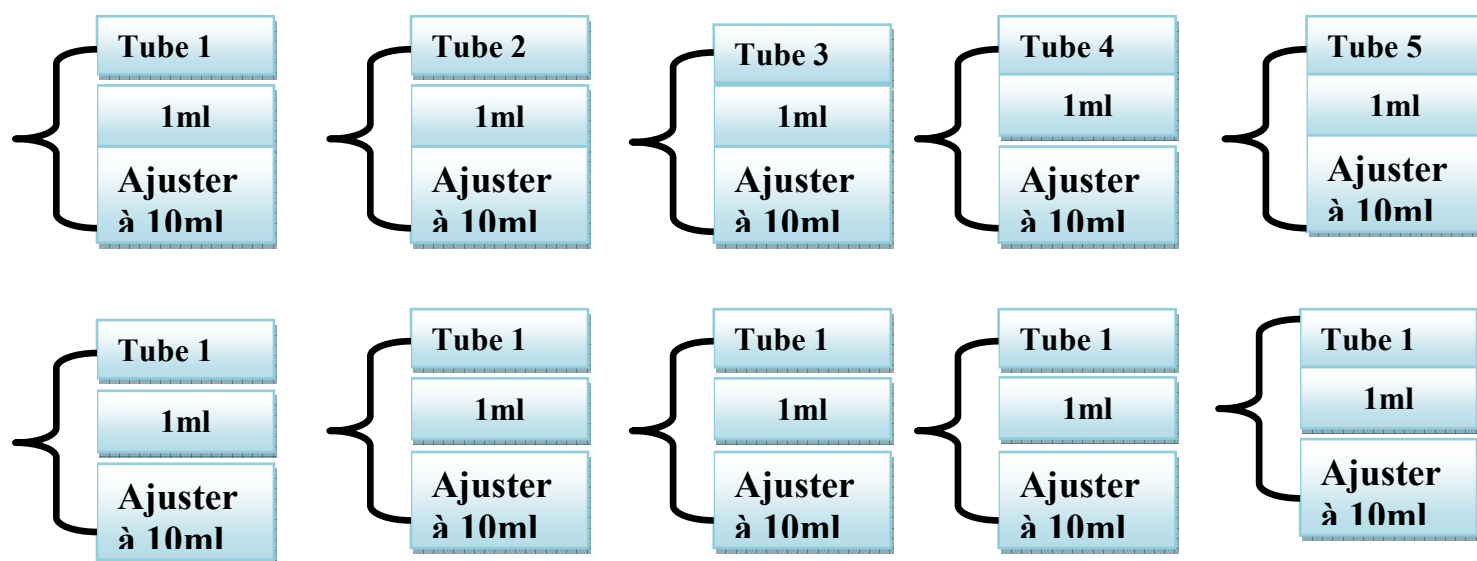
F. Les saponosides

Leur présence est déterminée quantitativement par le calcul de l'indice de mousse, degré de dilution d'un décocté aqueux donnant une mousse persistante dans des conditions déterminées. Nous avons procédé à une décoction de 2 grammes de poudre végétale avec 100 ml d'eau distillée qu'on porte à ébullition pendant 30 minutes. Après refroidissement et filtration, on réajuste le volume à 100ml. A partir de cette solution mère, on prépare 10 tubes (1,3cm de diamètre interne) avec 1,2, ... 10ml, le volume final étant réajusté à 10 ml avec de l'eau distillée. Chacun de ces tubes est agité avec énergie en position horizontale pendant 15 secondes. Après un repos de 15

minutes en position verticale, on relève la hauteur de la mousse persistante en centimètre. Si elle est proche de 1 cm dans le 10^{ème} tube, alors l'indice de mousse est calculé par la formule suivante :

$$I = \text{Hauteur de mousse (en cm) dans le 10\text{ème} \text{ tube} \times 5 / 0,0 X$$

La présence de saponines dans la plante est confirmée avec un indice supérieur à 100 (DOHOU *et al.*, 2003).

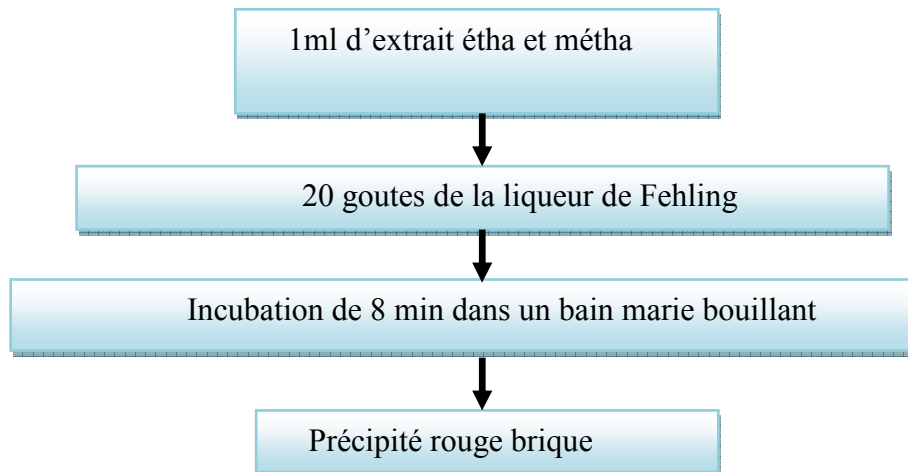


Figure(26) : Schéma des tests phytochimiques pour la détection des saponines

G. Les compose réducteurs

Leur détection consiste à traiter 1ml de l'extrait éthanolique et méthanolique et avec de l'eau distillée et de 20gouttes de la liqueur de Fehling puis chauffer.

Un test positif est révélé par la formation d'une précipitation rouge brique. (TREASE *et* EVANS , 1987)

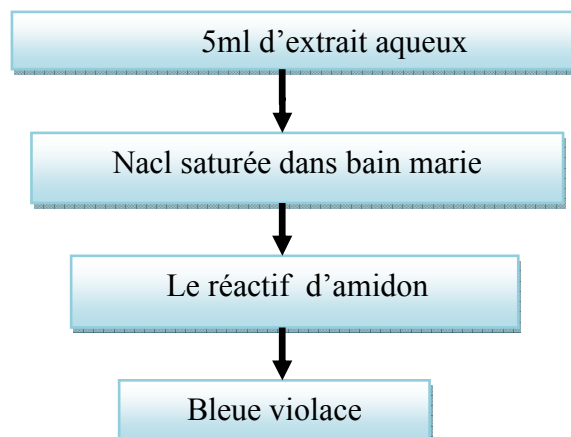


Figure(27) : Schéma des tests phytochimiques pour la détection des composés réducteurs

H.Amidon

On chauffe 5ml de l'extrait aqueux avec 10ml d'une solution de Nacl saturée dans un bain marie jusqu'à l'ébullition. Ajouter ensuite le réactif d'amidon

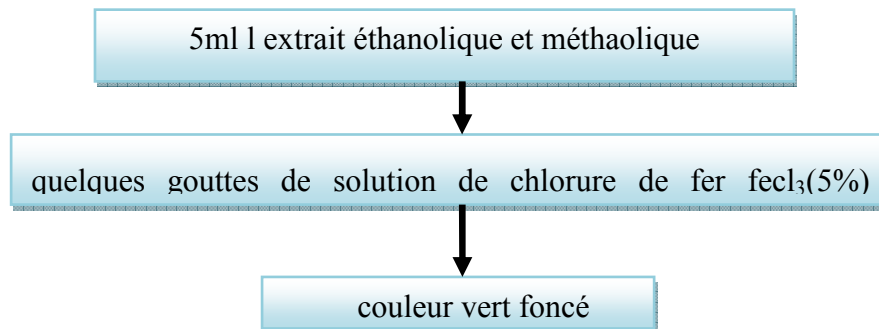
Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleue violace. (ALLAL, 2016)



Figure(28) : Schéma des tests phytochimiques pour la détection l'amidon

I.phénols

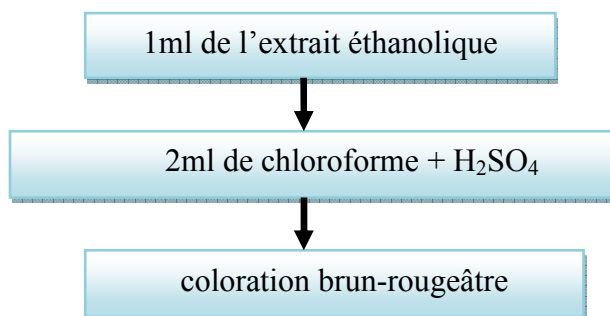
Aux 5 ml d'extrait éthanolique et méthanolique, quelques gouttes de solution de chlorure de fer naturelle (5%) sont ajoutées. Une couleur vert foncé indique la présence de composés phénoliques. (SANJAY *et al.*, 2015) .



Figure(29) : Schéma des tests phytochimiques pour la détection phénols

J.Glycosides cardiaques

Deux ml de chloroforme est ajouté à 1 ml de l'extrait éthanolique , l'apparition d'une coloration brun-rougeâtre après l'ajout de H₂SO₄ indique la présence des glycosides cardiaques(YAM *et al.*,2009)



Figure(30) : Schéma des tests phytochimiques pour la détection Glycosides cardiaques

1.2 La chromatographie sur couche mince (CCM) de la plante *Henophyton deserti* *coss. & Durieu*

C'est une technique d'analyse qualitative qui nous permet de fractionner de l'extrait méthanolique de la plante *Henophyton deserti coss & Durieu* afin d'avoir une idée sur leur composition chimique en utilisant certaines molécules pures comme témoins (acide gallique, Rutine, catéchine et la quercétine, vanilline).

Les essais de CCM sont réalisés sur extrait : l'extrait méthanolique 20 mg est solubilisé dans 1ml méthanol.

Les échantillons sont disposés sur une plaque préparée de verre fluorescente recouverte d'une face de gèle de silice : Les éluants testés sont essentiellement:

- Méthanol : Chloroforme : (50/50).
- Méthanol: Acétate d'éthyle: acide formique: (75/25/25/5).

Après migration du système sur la plaque CCM, on procède à la révélation des chromatogrammes par détecteur d'iode.

L'interprétation qualitative des chromatogrammes s'effectue par la détermination des facteurs de rétention R_f. La position finale de la tache (ou spot) est caractéristique de la molécule. On lui attribue une valeur, Elle dépend de la composition de l'éluant utilisé.

Ce R_f est le rapport de la distance parcourue par le composé divisé par la distance parcourue par l'éluant. (ALI et BENARIBA, 2012)

$$R_f = X/Y = \frac{\text{Hauteur de la tache}}{\text{hauteur du front du solvante}}$$

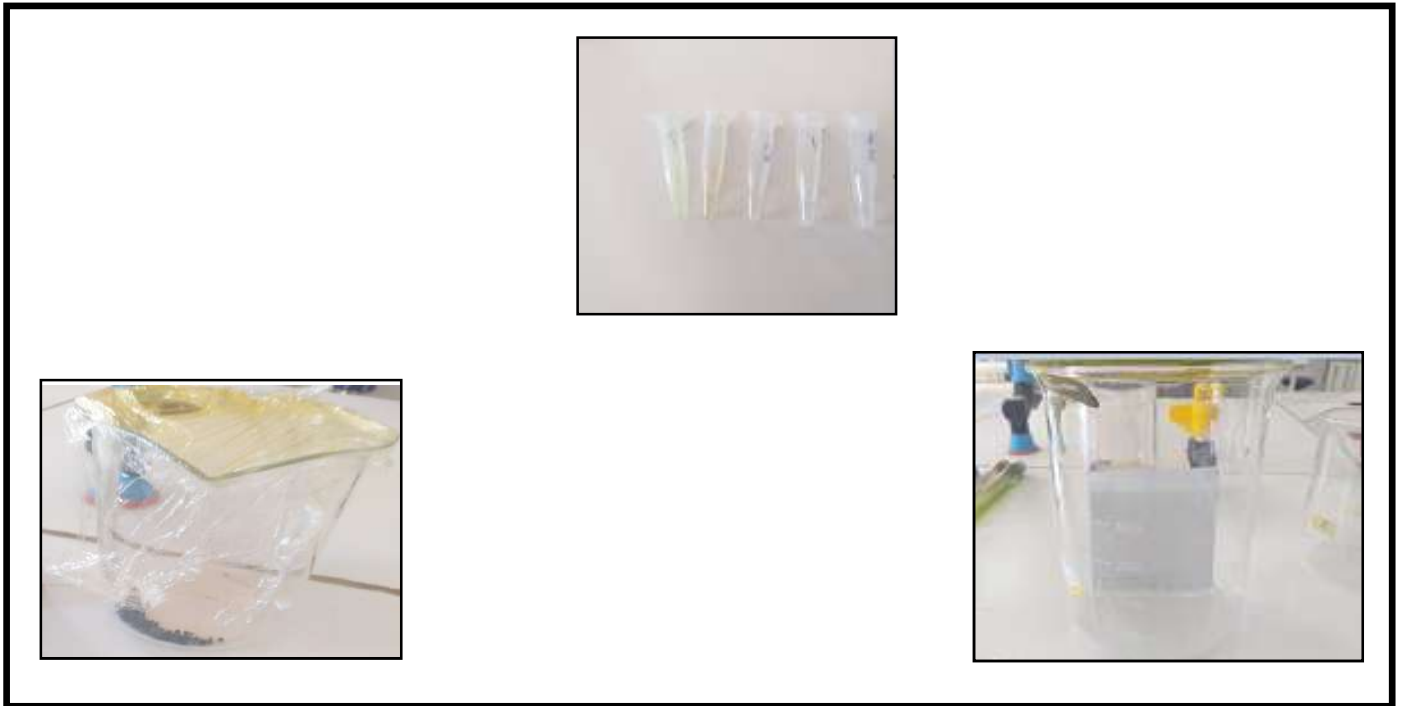
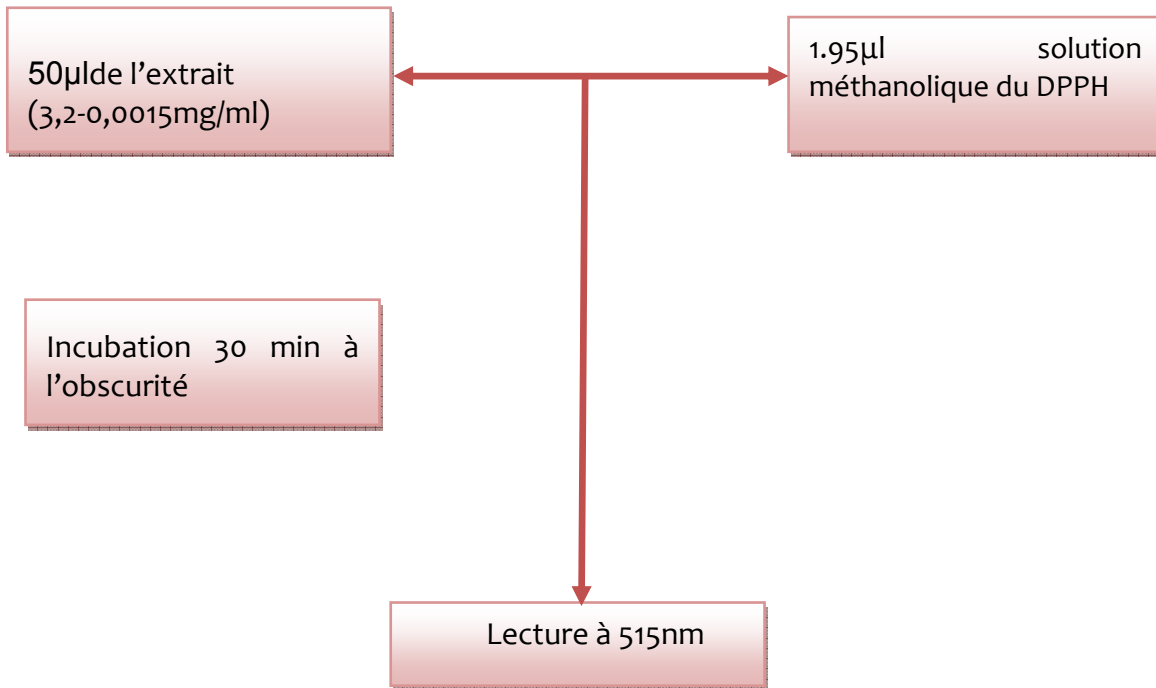


Figure (31) : les étapes de la méthode chromatographie sur couche mince CCM.

1.4 Evaluation de l'activité antioxydante

1.4.1. Etude de pouvoir réducteur du radical DPPH (2,2-Diphényl-1-Picryl-Hydrazil)

L'activité antioxydante des différents extraits est mesurée Selon la méthode de **(LOPES-LUTZ *et al.*, 2008)**. 50 μ l des différentes concentrations (3,2 à 0,0015 mg/ml) de chaque extrait sont ajoutés à 1.95 μ l de la solution méthanolique du DPPH (0,025g/l). Parallèlement, un contrôle négatif est préparé, en mélangeant 25 μ l de méthanol avec 1 ml de la solution méthanolique de DPPH, après 30min d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante l'absorbance est mesuré au spectrophotomètre de longueur d'onde 515nm Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard. BHA (hydroxyanisole butylé) et BHT (butylhydroxy toluène) dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration **(BOUGANDOURA, 2013)**.



Figure(32) : Protocole du test de piégeage du radicale DPPH

La capacité antioxydante de nos échantillons a été exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH• suivant l'équation :

$$\% \text{ Inhibition} = (A \text{ contrôle} - A \text{ échantillon}) \times 100 / A \text{ contrôle}$$

- %: Pourcentage d'inhibition de l'activité anti-radicalaire (AAR%).
- A Échantillon : Absorbance de l'échantillon.
- A Contrôle : Absorbance du contrôle négatif.

1.4.2 Calcul des IC₅₀

IC₅₀ ou concentration inhibitrice de 50 %, est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH les IC₅₀ sont calculées graphiquement par les régressions

linéaires des graphes tracés ; pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées.



Figure(33) : les étapes de test de piégeage du radical DPPH

1.5 Evaluation de l'activité antimicrobienne de la plante *Henophyton deserti* *coss.&durieu*

1.5.1 Activité antibactérienne de la plante *Henophyton deserti* *coss.&durieu*

A. Méthode de diffusion des puits

Méthode de diffusion des puits Décrite par *COOPER* et *WOODMAN(1946)* reprise par *SHRODE* et *MESSING (1949)*.

B. Principe

Elle consiste à découper la gélose en formant des trous circulaires (puits) pour verser l'extrait de différentes concentrations.

L'extrait diffuse radialement en donnant une zone d'inhibition circulaire à la surface de la gélose ensemencée avec la suspension bactérienne (**EYMARD, 2003**).

➤ Préparation de la gamme de concentration des extraits

L'extrait méthanolique pour obtenir une solution mère de 100 mg/ml, pour préparer les différentes dilutions (1/2). Cette gamme (**Tableau 05**) a été préparée dans des 4 tubes en verre.

Tableau (05) : les concentrations utilisées pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne

N°	SM (l)	2	3	4	5
Mg/ml	5	2.5	1.25	0.625	0.31

➤ Repiquage des souches bactériennes

Les souches bactériennes à tester se préparent par la méthode des stries dans des boîtes de pétri contenant la gélose nutritive, puis incubées pendant 24H à 37°C pour obtenir des colonies isolées.

➤ Préparation de l'inoculum

Prélever à l'aide d'une pipette pasteur des colonies bien séparées des souches bactériennes étudiées pour les homogénéiser dans 5 ml d'eau physiologique stérile.

➤ Préparation des milieux de cultures

La gélose de Mueller-Hinton est coulée et répartie dans des boîtes de pétri stériles, ces dernières sont séchées pendant 30 min à une température ambiante avant le emploi

➤ Ensemencement

L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage en stries, en tournant la boîte d'environ 60°, il s'effectue de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries sur les boîtes.

➤ Préparation des puits

Découper des trous circulaires dans la gélose de chaque boîte de pétri pour former des puits. Remplir les puits avec 30 microlitres de l'extrait à tester à des concentrations différentes. Des puits imprégnés de méthanol vont servir comme témoin négatif. Incuber les boîtes pendant 24H à 37°C.

➤ Expression des résultats

L'activité antibactérienne se manifeste par l'apparition des puits contenant la substance inhibitrice testée (BOUMAZA, 2011).

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque puits à l'aide d'une règle (mm).

Le diamètre de la zone d'inhibition montre la sensibilité des souches vis-à-vis des extraits (BENKIKI, 2006).

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8 mm.
- Sensible (+) : diamètre compris entre 9 à 14 mm.
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm.
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20 mm.

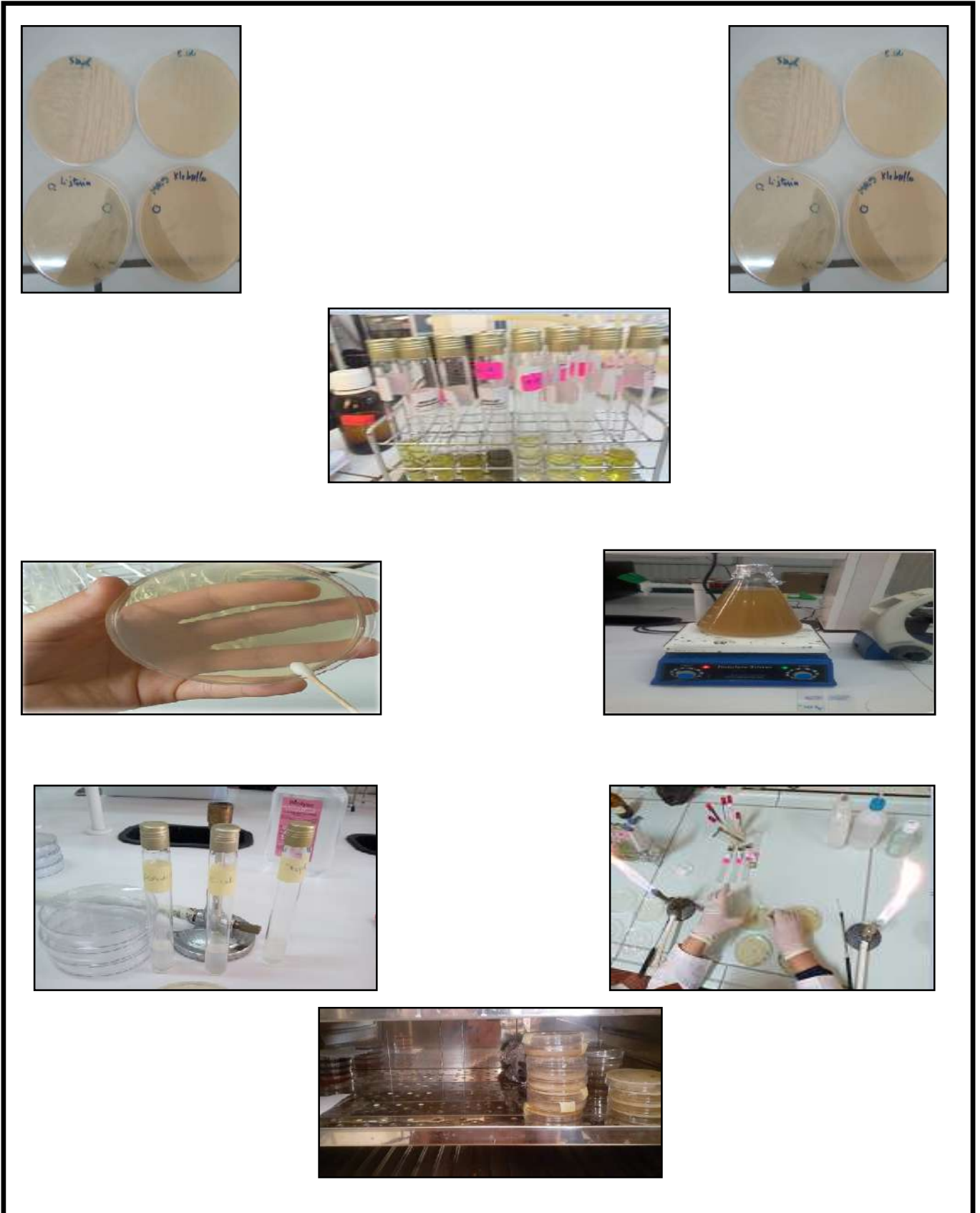
1.6 Activité antifongiques de la plante *Henophyton deserti* *coss.&Durieu*

C'est la technique de base utilisée pour étudier la capacité d'une substance à exercer un effet antimicrobien, elle est aussi appelée : la technique de dilution en gélose pour la détermination des extraits actifs.

Des boîtes de Pétri contenant du milieu Sabouraud dextrose agar additionné de 2% de glucose (pour les levures) sontensemencées aseptiquement par une suspension de 10^6 cellules/mL qui provient d'une culture jeune de levures ou de bactéries respectivement. L'ensemencement se fait par écouvillonnage.

Après le séchage des boîtes, la gélose est perforée au centre à l'aide de la partie supérieure d'une pipette Pasteur. Les cavités ainsi formées sont remplies de la solution aqueuse de la cendre à une concentration de 100g/L (environ 30 μ L par puits). Les boîtes sont mises à incubées dans une étuve à 30°C pendant 48h pour les levures.

L'action inhibitrice se manifeste par la formation d'une auréole autour des puits. La lecture des résultats s'effectue par mesure des diamètres des zones d'inhibitions. Un produit est considéré actif, si le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 8 mm (ELA et COLLI, 1996).



Figure(34) : les étapes de la méthode de diffusion en milieu solide de la plante *Henophyton deserti* *cozz.&Durieu*

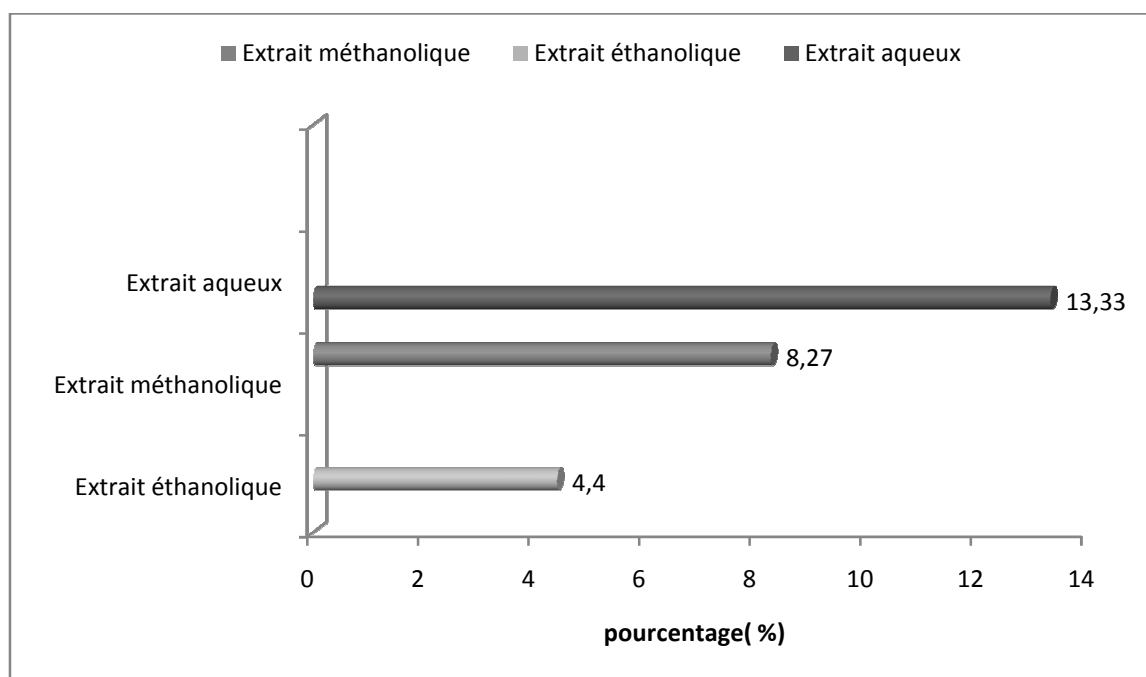
*RESULTATS ET
DISCUSSION*

1. Rendements obtenus des extraits

L'extraction des différents extraits brutes les abondants dans nos plantes, nous a permis de calculer le rendement de chaque extrait méthanolique et éthanolique et aqueux. Les résultats obtenus sont enregistrés dans le tableau(06) et figure(35)

Tableau(06) : Caractéristiques et rendement des extraits de la plante de *Henphyton deserti* *cosse & Durieu*

Extrait	Couleur	Aspect	Poids	Rendement (%)
Extrait méthanolique	Vert Foncé	Pâteux	1,24	8,27
Extrait éthanolique	Vert Foncé	Pâteux	0,66	4,4
Extrait aqueux	Vert Foncé	Pâteux	2	13,33



Figure(35) : Rendement(%) des extraits de *Henphyton deserti* *cosse & Durieu*



Le rendement des extraite aqueux et méthanolique et éthanolique de *Henphyton deserti coss.& Durieu* sont de l'ordre de 13.33 % et 8.27 % et 4.4%.







D'après nos résultats l'extrait aqueux de *Henphyton deserti coss.& Durieu* est présente le plus grand valeur de rendement dans les trois extraits par rapport les résultats de (NABATI,2014). le rendement de l'extraite méthanoïque de *Henphyton deserti coss.& Durieu* possède a une valeur de 29,55%,comparent avec les résultats de (KHACHEBA et BENAMAR ,2008) a montré que le rendement une valeur de 6,75% ce résultat est relativement moyenne en comparaison avec nos résultat et extraites aqueux de la même plante une valeur 31,32% ce résultat plus grande avec nos résultat.








2. Teste phytochimique de la plante *Henophyton deserti coss.& Durieu*


Le screening phytochimique au moyen des tests de coloration a permis de mettre en évidence les familles chimiques que renferme l'espèce étudiée. Nous résumons dans le **Tableau(07)** les résultats obtenus. Ce tableau révèle la présence ou l'absence d'un groupe de métabolites secondaires

Tableau(07): Résultat des tests phytochimique d'*Henphyton deserticoss.& Durieu*

Extrait	Métabolite testé	Réaction	Résultats
Méthanolique	Tannins	FeCl ₃	 (+)
	Flavonoïde	Touures de magnésium Mg ⁺	 (++)

	Phénol	chlorure de fer $FeCl_3$	(++) 
	Stéroïdes et stéroïde	Acide sulfurique H_2SO_4	(+) 
	Composés reducteur	Liqueur de fehlinge	(-) 
Ethanolique	Alcaloïdes	Mayer	(-) 
		Wagner	(-) 
	Tannins	$FeCl_3$	(+++) 

	Stéroles et stéroïde	Acide sulfurique H_2SO_4	(+++) 
	Composés reducteur	Liqueur de fehlinge	(-) 
	Glycocides cardiaque	H_2SO_4	(-) 
	Flavonoïde	Touures de magnésium Mg^+	(++) 
	Phénol		(++) 
Aqueux	Amidon	NAOH	(+) 
	Saponosides	Test de mousse	(+++) 

	Anthocyanes	HCL2N	(-) 
--	-------------	-------	--

(+++): test fortement positif.(++) :test positif.(+):test légèrement positif.(-):test négatif

La recherche effectuée sur les différents extraits révèle la présence d'importants métabolites secondaires comme les flavonoïdes, les tanins, les stérols et triterpènes, phénole, l'amidon, saponosides par contre le test des anthocyanes et composés réducteur, alcaloïdes, glycosides cardiaque est marqué comme négatif.

D'après les résultats obtenus, on a noté que l'extrait méthanolique en générale de la moyenne quantité flavonoïde.

Nos résultats sont confirmés par l'étude de (MECHERI et ZEGHABI, 2015) qui trouvent la quantité des flavonoïdes dans *Henphyton deserti coss. & Durieu* présente une quantité moyenne pour l'extrait séché à l'air libre.

Pour le test de alcaloïde observé l'absence des alcaloïdes, par contre l'étude de (NEDJMI et SOUSSOU, 2014 ; GUERRAH et SEGREMI, 2015) les alcaloïdes sont présents en grande quantité dans *Henphyton deserti coss. & Durieu*

Pour le test des tanins on a présent les tanins pour confirmer l'étude de (NEDJMI et SOUSSOU, 2014) richesse de tanins pour *Henphyton deserti coss. & Durieu* et (MECHERI et ZEGHABI, 2015) présence de tanins chez *Henphyton deserti coss. & Durieu* en faible quantité

Pour le test de saponines on observe les traces de saponine la présence de saponines est confirmée par l'apparition d'une hauteur de mousse persistante supérieure à 1 cm.

3. Chromatographie analytique sur couche mince de la plante *Henophyton deserti coss. & Durieu*

Pour avoir une empreinte polyphénolique de l'extrait méthanolique de la plante *Henophyton deserti coss. & Durieu*, une chromatographie analytique sur couche mince a été réalisée en utilisant les deux systèmes solvants :

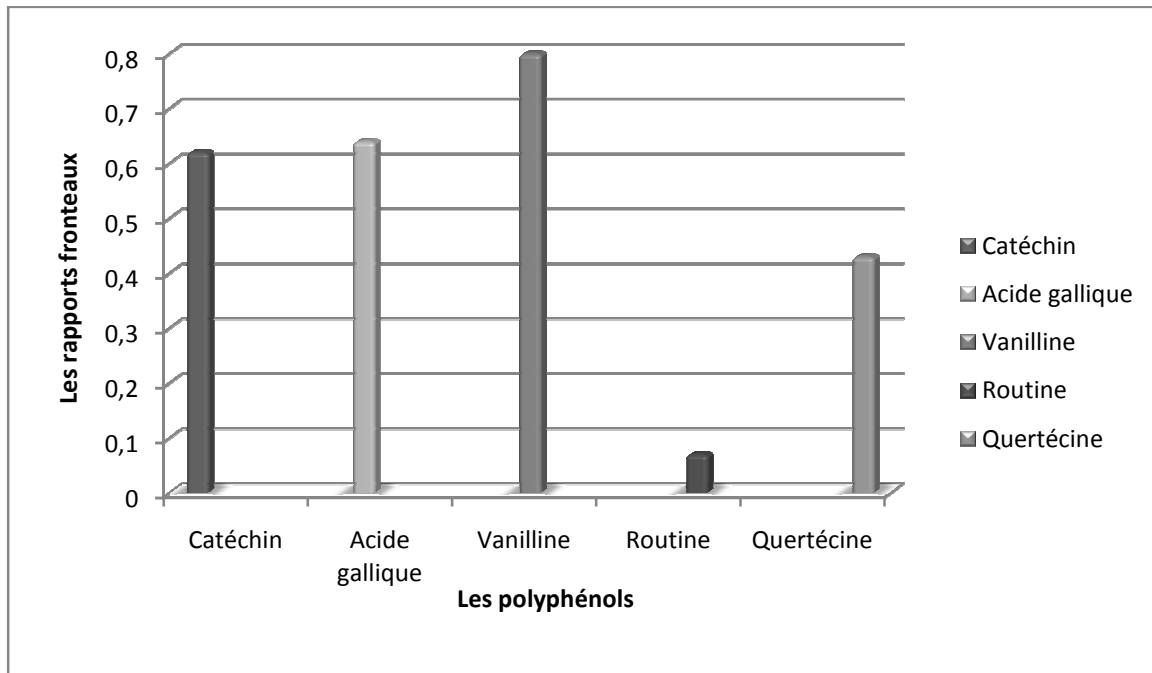
- Méthanol : Chloroforme : (50/50) (v/v)
- Méthanol: Acétate d'éthyle: acide formique: (75/25/25/5) (v/v/v)

Les différentes taches de produits qui se présentent sur les chromatogrammes ont été délimitées. Les standards utilisés sont des composés phénoliques : la quercétine (Que), la catéchine (Cat), l'acide gallique (Ag), routine (R), vanilline(V).

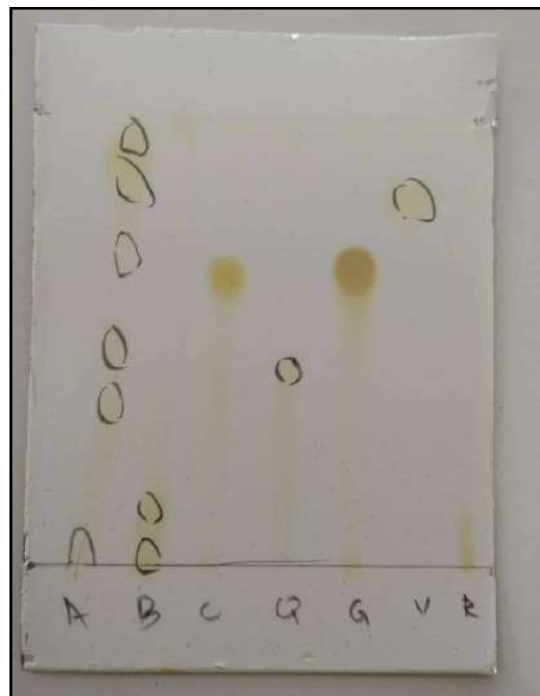


Figure(36) : Chromatographie sur couche mince de extrait méthanolique(Méthanol : Chloroforme : (50/50) (v/v)) des écorces de la plante *Henophyton deserti* *coss.&Durieu*.

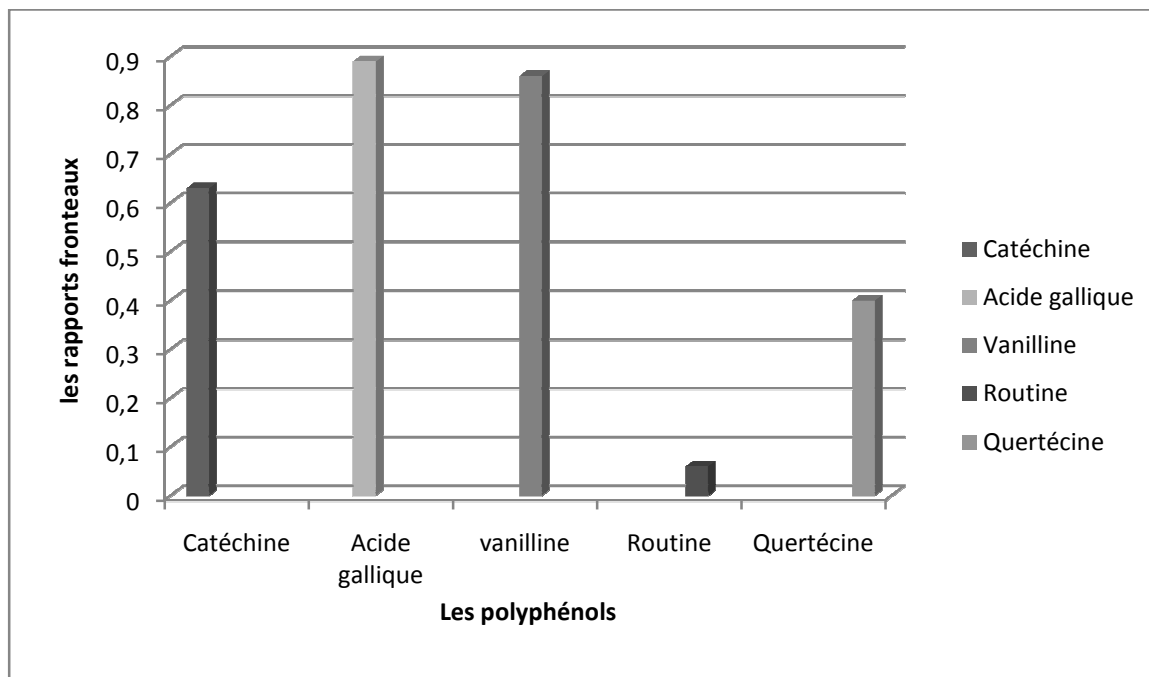
Une mesure des Rappports fronteaux a été effectuée et se présente dans les figures (36-37-38-39) ci-dessous :



Figure(37) : les Rf de chromatographie couche mince de extrait méthanolique(Méthanol : Chloroforme : (50/50) (v/v)) de la plante *Henophyton deserti* *ross.&Durieu*.



Figure(38) : Chromatographie sur couche mince de extrait méthanolique (Méthanol:Acétate d'éthyle: acide formique: (75/25/25/5)(v/v))de la plante *Henophyton deserti* *ross.&Durieu*.



Figure(39) : les Rf de chromatographie couche mince de extrait méthanolique(Méthanol: Acétate d'éthyle: acide formique: (75/25/25/5)) de la plante *Henophyton deserti* *cos.*&*Durieu*.

L'étude de l'identification des composés phénoliques des extraits de notre plante *Henophyton deserti* *cos.*&*Durieu* et à l'aide de quelques témoins utilisés, nous a permis de mettre en évidence la présence ou l'absence de l'acide gallique, le quercétine et vanilline et routine et catéchine.

A partir des résultats dans les figures (39) on constate que le meilleur système qu'on a pu séparer les mêmes constituants dans les extraits: Méthanol: Acétate d'éthyle: acide formique: (75/25/25/5) (v/v/v) et Méthanol : Chloroforme : (50/50) (v/v) mais dans le 2ème éluant il y a un manque en acide phénolique.

En conclusion les différents extraits de *Henophyton deserti* *cos.*& *Durieu* selon les analyses chromatographiques, cette plante est riche en composés phénoliques à savoir les acides phénoliques (acide gallique) (Rf1= 0.64) (Rf2=0.89) et flavonoïde (la catéchine(Rf1= 0.62) (Rf2=0.63), le quercétine (Rf1= 0.43) (Rf2=0.40).

4. Activité antioxydante des extraits de *Henophyton deserti* *cos.* & *durieu*

L'étude du pouvoir antioxydant a été réalisée par deux tests, la capacité antioxydante totale et l'activité antiradicalaire (piégeage du DPPH), dans le but de déterminer l'activité antioxydante des extraits méthanolique de *henophyton deserti* *cos.*& *Durieu*.

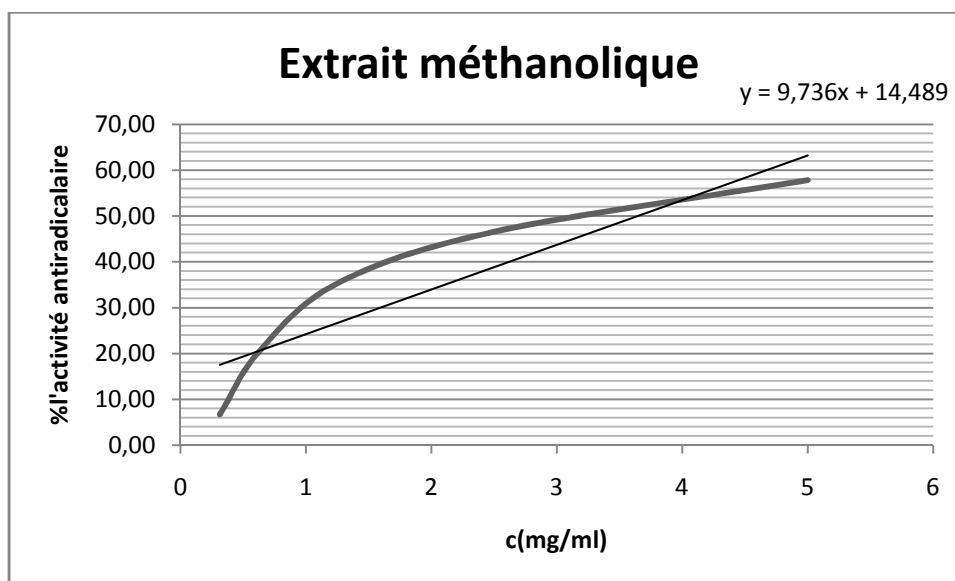


Figure (40): Activité antioxydant des extraits méthanolique d'*Henophyton deserti* *coss. & Durieu*

L'activité antioxydant évaluée pour le extrait méthanoïque ainsi que les standards (contrôle positif) utilisés est exprimée en IC₅₀ (concentration inhibitrice 50) ; c'est la concentration d'extrait qui neutralise (réduit) 50% de radical libre (DPPH), plus L'IC₅₀ est faible plus l'extrait est avec un potentiel antioxydant puissant.

Les résultats de l'activité antioxydant exprimée en IC₅₀ sont représenté dans le **tableau(08)** ci-dessous :

Tableau (08): les résultats des IC₅₀ pour le test DPPH

	IC ₅₀ (mg/ml)
L'extrait méthanoïque	3.69

Afin d'évaluer l'activité antioxydant de l'extrait méthanolique la capacité de piégeage des radicaux DPPH a été évaluée. **La figure(40)** montre que l'extrait méthanolique est doté d'une capacité significative à piéger le radical DPPH avec une concentration inhibitrice médiane égale à IC₅₀=3.69 mg/ml.

5. Activité antimicrobienne d'extrait de la plante *Henophyton deserti* *coss.&durieu*

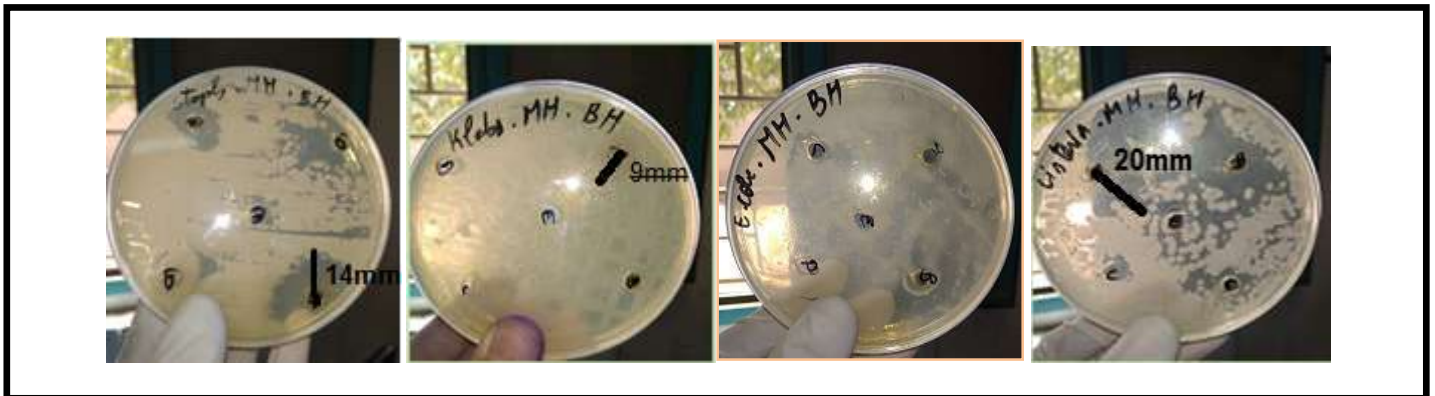
L'activité antimicrobienne des extraits méthanolique de la plante *Henophyton deserti coss.&Durieu* vis-à-vis des bactéries à Gram positif, à Gram négatif et des levures. Les résultats sont présentés dans les figures. Les diamètres des zones d'inhibition formées par ces extraits indiquent qu'ils présentaient une activité considérable contre les microorganismes.

5.1 Méthode de diffusion en milieu solide

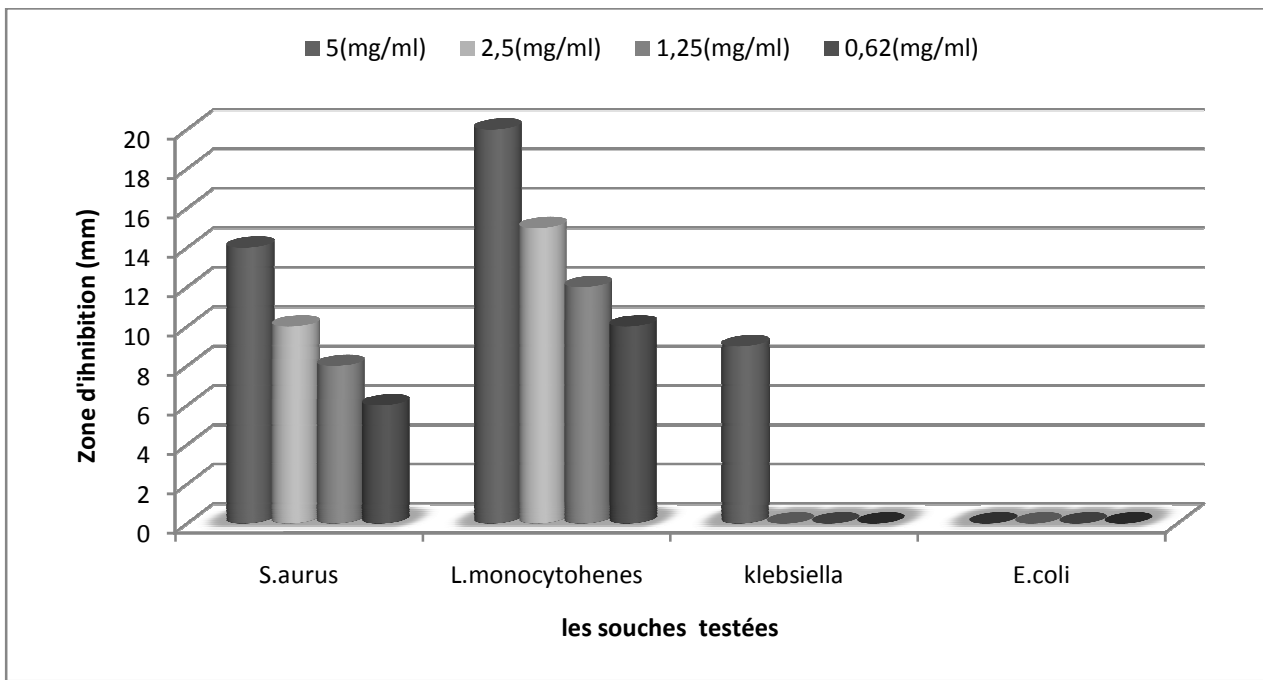
L'étude de pouvoir antimicrobien a été réalisée par la méthode de diffusion sur gélose.

5.1.1 Méthode de diffusion des puits

Les figures (41/42/43/44) représentent les résultats de l'extrait méthanolique de la plante *Henophyton deserti coss & Durieu*



Figure(41) : Activité antibactérienne d'extrait méthanoïque de *Henophyton deserti* *coss. & Durieu*



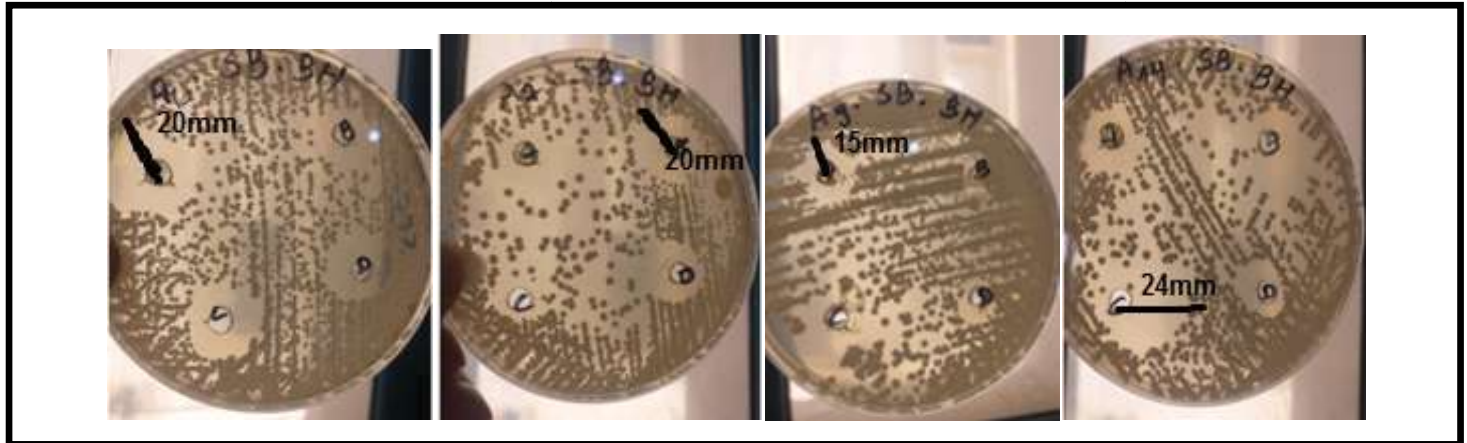
Figure(42) : diamètres des zones d'inhibition obtenus par l'extrait méthanoliques (les bactéries) de *Henophyton deserti* *coss.& Durieu*.

Les zones d'inhibition obtenues par l'extrait méthanolique à une concentration de 5 mg/ml sur *S. aureus*, *L. monocytogenes* et *kelbssela* et *E.coli* sont de l'ordre de 20, 15, 12 et 10 mm, respectivement.

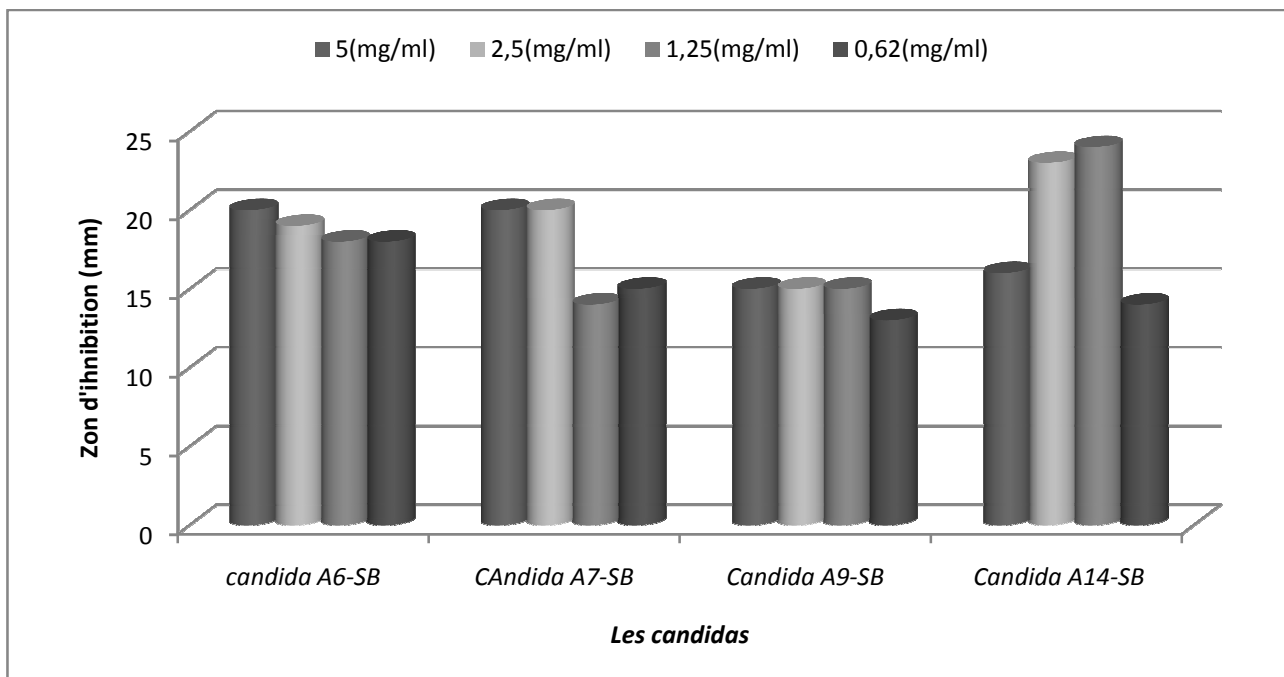
L'extrait méthanolique de *Henophyton deserti* *coss.& Durieu* a montré de bonnes activités par l'inhibition de la croissance d' *Staphylococcus aureus* et *Listeria monocytogenes* avec des diamètres de zone d'inhibition de l'ordre de 20 et 6 mm, respectivement. Une très bonne activité a été remarquée vis-à-vis de la bactérie à Gram positif *Listeria monocytogene* avec un diamètre de zone d'inhibition de 20 mm. Le diamètre de zone d'inhibition de l'extrait méthanolique du romarin variait de 20 et 6 mm. A contre *kelbssela* diamètres de zone d'inhibition de l'ordre de 9 mm dans la concentration 5mg/ml une faible activité, pour *E.coli* aucune zone d'inhibition.

Activité antibactérienne de l'extrait méthanolique contre *Staphylococcus aureus* et *Listeria monocytogenes* avec des zones d'inhibition de 14, 10, 8 et 6 mm et de 20, 15, 12 et 10 mm respectivement.

5.1.2 Activité antifongique d'extrait de la plante *Henophyton deserti* *cos.* & *Durieu*



Figure(43) : Activité antifongiques (*condida albicans*) de l'extrait méthanolique de la plante *Henophyton deserti* *cos.* & *Durieu*



Figure(44) : diamètres des zones d'inhibition obtenus par l'extrait méthanoliques (*les candidas albicans*) de *Henophyton deserti* *cos.* & *Durieu*

Pour l'activité antifongique, a été constatée autour des puits imprégnés de différents extraits. Afin de corroborer l'effet de l'extrait sur *candida A6-SB*, *condidaA7-SB*, *candida A14-SB* très sensible, les mesures des halos d'inhibition de la solution mère à une concentration de 5 mg/ml ont montré une zone d'inhibition plus grande *candida A6-SB* (20 mm, 18 mm) *condidaA7-SB*(20mm/15mm), *candida A14-SB*(16mm/14mm) ces extrêmement sensible dans concentration (2.5mg/0ml et 1.25mg/ml)(23mm/24mm) bonne activité et *candidaA9-SB* très sensible(15mm/13mm).

*Conclusion et
perspectives*

L'objectif de notre travail a été partiellement atteint vu les moyens disponibles limités du point de vue analytique. Néanmoins, l'étude phytochimique de l'espèce *Henophyton deserti* *coss.& Durieu* que nous avons menée nous a permis de mettre en évidence des résultats utilisables dans la pharmacopée traditionnelle algérienne, pour le traitement de plusieurs pathologies.

L'étude bibliographique préalable réalisée sur cette espèce a montré qu'il y a très peu de travaux publiés à caractères analytiques chimique ou biochimique. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs et d'autre part du besoin de la recherche d'une meilleure médication par une thérapie plus douce sans effets secondaires.

Dans le présent travail, on a intéressé aux composés phénoliques dans les plantes médicinales, l'analyse phytochimique de la plante montre que l'extrait méthanolique, éthanolique et aqueux d'*Henophyton deserti* *coss.& Durieu*. A révélé la présence de diverses familles chimiques inclus : les terpènes, les saponines, les phénols simples, les tanins, et les flavonoïdes et sucres réducteurs) et la chromatographie sur couche mince (CCM) analytique sur gel de silice, a démontré après révélation physique et chimique la présence d'une multitude de variétés de composés phénoliques : la quercitrine, acide gallique, vanilline, dans l'extrait méthanolique.

La technique utilisée pour étudier l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique, sachant que cette plante étudiée ne contient pas un faible pourcentage de l'activité antioxydante. Ces mêmes résultats sont obtenus par la révélation chimique par le (DPPH=3.96mg/ml).

L'étude des activités biologiques des extraits méthanolique, Le test de l'activité antimicrobienne des extraits, par la méthode de diffusion des puits en milieu gélosé, a montré que l'extrait testés actifs vis-à-vis de certaines souches bactériennes. Cependant, il est à noter que les bactéries les plus sensibles aux composés actifs étaient du genre *listeria monocytogene*, *Staphylococcus aureurs*, pour l'activité antifongique les *condidas* les plus sensibles aux composés actifs : *condida A6-SB*, *condida A7-SB*, *condida A14-SB*

Notons enfin que ce travail permettra d'envisager des perspectives de recherche ciblées dans cette plante. A cet effet, nous pouvons suggérer les perspectives suivantes :

- Poursuivre l'étude phytochimique de l'espèce *Henophyton deserti* *coss.& Durieu* afin d'isoler d'autres métabolites secondaires contenus dans les extraits.
- Etudier l'activité de ces métabolites afin de confirmer ou d'infirmer l'activité biologique attribuée à cette plante.
- Contribuer à la mise en évidence de certains principes actifs de cette plante.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

- AKOUA-KOFFI ,C.,GUESSENND,N.,GBONON,V.,FAYE-KETTE,H.,& DOSSO,M. (2004).** La méticillino-résistance de *Staphylococcus aureus* isolés à Abidjan (1998–2001): un nouveau problème en milieu hospitalier. *Médecine et maladies infectieuses*, 34(3), 132-136.
- ALI,H.M.,DJAZIRI,R.,&BENARIBA,N.(2012).** Contribution à l'étude in vitro de l'effet des extraits de feuilles de *Retama raetam* sur l'activité de l' α -amylase. Table de matiere.
- ALLAL ,ASMA.(2016).** Etude phytochimique et activités antioxydantes de quelques extraits d'une plante de la région de Tlemcen: *Psoralea bituminosa* L .Tlemcen : Université *ABOU BEKR BELKAÏD DE TLEMEN* .(mémoire). <http://dspace.univ-tlemcen.dz/handle/112/8833>
- ANTON,R. ,WICHTL ,M.(2003).** Plantes thérapeutiques Tradition, Pratique officinale Science et Thérapeutique. Tec et Doc. P 32-33
- AUDIGIÉ ,C., ZONSZAIN ,F.(2002).** Biochimie structurale . Paris : Doin
- BAHORUN,T.(1997)** Substances naturelles actives: La flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. *Food and Agricultural Research*, 83-94
- BALASUNDRAM,N.,SUNDRAM,K.,SAMMAN,S.(2006).** Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food chemistry*, 99(1), 191-203.
- BELOUD,A.(1998).** plantes médicinales . OPU,Alger.
- BENBROOK, M.(2005).** Accroître la teneur antioxydants des aliments grâce à l'agriculture et à la transformation alimentaire biologiques. Ed.Theorganic center : 6-8.
- BENKIKI,N.(2006)** Etude phytochimique des plantes médicinales algériennes : *Ruta montana*, *Matricaria pubescens* et *Hypericum perforatum*. Thèse de doctorat. Batna : Univ. HaDj Lakhdar.
- BOUGANDOURA,N.,BENDIMERAD,N.(2013).** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. *Nature & Technology*, (9), 14.
- BOULANGER ,P., POLONVSKI,J.(1969).** Traité de biochimie. Tome III. Ed. Masson, Paris: 760-770.
- BOUMAZA, D. (2011).** Séparation et caractérisation chimique de quelques biomolécules actives de deux plantes médicinales: *Inula viscosa*, *Rosmarinus officinalis* de la région d'Oran (Doctoral dissertation, Université d'Oran1-Ahmed Ben Bella).

- BOURREL,C.(1993).** Analyse chimique, activités biostatiques et antioxydantes d'extraits de plantes aromatiques sélectionnées (Doctoral dissertation, Toulouse, INPT).
- BOUSSEBOUA, H. (2002).** Eléments de microbiologie générale.
- BRAVO,L. (1998).** Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition reviews*, 56(11), 317-333.
- BROUDISCOU, L. P., LASSALS , B. (2000).** Effects of *Lavandula officinalis* and *Equisetum arvense* dry extracts and isoquercitrin on the fermentation of diets varying in forage contents by rumen microorganisms in batch culture. *Reproduction Nutrition Development*, 40(5), 431-440
- BRUNETON ,J.,(1999)** Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales. 3^{ème} Ed, Tec & Doc Lavoisier. Paris. p1120.
- BRUNETON,J.(1999).** Pharmiognosie, phytochimie, plantes médicinales, 2^{eme} édition, Paris Editions médicales internationales (Tec et Doc).
- CASLEY-SMITH, J. R., MORGAN, R. G., PILLER, N. B. (1993).** Treatment of lymphedema of the arms and legs with 5, 6-benzo-[alpha]-pyrone. *New England Journal of Medicine*, 329(16), 1158-1163.
- CAUDE,M. ,JARDY,A.(1996).** Méthodes chromatographiques. Dossier P1445. Base documentaire : Techniques d'analyse. Vol ; papier TA2.
- CAVE , A. (1993).** *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 2^{ème} Ed. Tec. Et Doc. Ed. Lavoisier, Paris, pp 274-285.*
- CAZAU-BEYRET, N. (2013).** Prise En Charge Des Douleurs Articulaires Par Aromatherapie Et, These Pour Le Diplome D'etat De Docteur En Pharmacie Phytotherapie, Faculte Des Sciences Pharmaceutiques, Universite Toulouse Iii Paul Sabatier,192p.
- CHEBROUK,F.(2009).** Caractérisation analytiques de quelques composés polyphénoliques et terpéniques issus de la plante *MARRUBIUM deserti* de la région de ghardaïa (Doctoral dissertation, Université de Ouargla-Kasdi Merbah).p76.
- CHEHMA, A., DJEBAR,M. R. (2008).** Les espèces médicinales spontanées du Sahara septentrional algérien: distribution spatio-temporelle et étude ethnobotanique. Synthèse: *Revue des Sciences et de la Technologie*, 17, 36-45
- CHEHMA,A.,DJEBAR,M.R.(2008).** Les espèces médicinales spontanées du Sahara septentrional algérien: distribution spatio-temporelle et étude ethnobotanique. *Laboratoire Bio-Ressources*

Saharienne, Préservation et Valorisation, Université de Ouargla, Algérie. Laboratoire de Toxicologie Cellulaire, Département de Biologie, Université de Annaba, Algérie.41p.

CORDELL, G. A. COLVARD, M. D. (2005).Some thoughts on the future of ethno pharmacology. *Journal of ethno pharmacology*, 100(1-2), 5-14.

COWAN ,M.M.(1999) Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews.* , 12(4), 564-582.

DARWISH-SAYED,M., BALBAA,S.I. AFIFI, M.S.A., 1973Nitrogenous base of the different organs of *Citrullus colocynthis*. *Planta Medica* 24(3). 260-265

DEBRAY,M., JACQUEMIN, H., RAZAFINDRAMBO,R.(1971).Phytochemical Screening of *Pentadesma butyracea* Sabine (Clusiaceae) Acclimated in Benin by GC/MS. *Travaux et documents de l'Orstom, Paris. France. Vol. 2013(2013) : 8 P*

DELWICHE,P. (2008). Soigner Le Jardin Par Les Plantes.Ed Nature Et Progrès Belgique.

DERBEL,S., BOUAZIZ, M., DHOUB,A., SAYADI, S., CHAIEB, M. (2010).Chemical composition and biological potential of seed oil and leaf extracts of *Henophyton deserti* Coss. & Durieu. *Comptes rendus chimie*, 13(4), 473-480.

DEVANT M., ANGLADA A., BACH A., (2007).Effects of plant extract supplementation on rumen fermentation and metabolism in young Holstein bulls consuming high levels of concentrate. *Animal Feed Science and Technology*, 137(1-2), 46-57.

DIOUF, P. N., STEVANOVICS,T., CLOUTIER,A (2009).Study on chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of hot water extract from *Picea mariana* bark and its proanthocyanidin-rich fractions. *Food Chemistry*, 113(4), 897-902.

DOHOU,R., YAMNI, K., TAHROUCHT, S., HASSANI, L. I., BADOB, A., GMIRA,N.(2003).Screening phytochimique d'une endémique iberomarocaine, *Thymelaea lythroïdes*. *Bulletin-Société de Pharmacie de Bordeaux*, 142(1/4), 61-78.

EL ABED ,D., (2007). Principes actifs des apiaceae. *Phyto Chem et Bio Sub journal*, Vol. 1 : 1-6.

ELA, M. A., EL-SHAER, N. S., GHANEM, N. B. (1996). Antimicrobial evaluation and chromatographic analysis of some essential and fixed oils. *Die Pharmazie*, 51(12), 993-994.

EYMARD, S. (2003). Mise en évidence et suivi de l'oxydation des lipides au cours de la conservation et de la transformation du chinchard (*Trachurus trachurus*): choix des procédés (Doctoral dissertation, Université de Nantes).P 28-38.

FAVIER,A.,(2003). Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, 108-11

FLEURIET ,A.,JAY-ALLEMAND, C., MACHEIX, J.J. (2005).Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR presses polytechniques.

FOUCHE, J. G., MARQUET ,A.,HAMBUCKERS , A., (2000) .Les plantes médicinales de la plante au médicament .observatoire du monde des plantes sart- tilman.

GAO,M.,LIU,C.Z .(2005). Comparison of techniques for the extraction of flavonoids from cultured cells of *Saussurea medusa* Maxim. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 21 (8-9):1461-1463

GAYET,C.(2013)Guide De Poche De Phytothérapie. Paris: Quotidien Malin.

GOEL,G., MAKKAR,H.P.S., BECKER ,K., (2008). Effect of *Sesbania sesban* and *Carduus pycnocephalus* and Fenugreek (*Trigonella foenum graecum* L.) seeds and their extracts on partitioning of nutrients from roughage- and concentrate-based feeds to methane. *Animal Feed Science and Technology*. 147 : 72–89.

GUERRAH ,M ., SEGUENI, M.(2015).Contribution Al'études Biochimique De Quelques Plantes Médicinales Dans Le Sahara Septentrional Algérien.Mémoire De Master En Biochimie Appliquée Publié, Université Echahid Amma Lakhdar D'el-Oued.

GUIGNARD, J. L., COSSON, L., HERY, M., (1985) Abrégé de phytochimie, Paris, New York, Barcelone

GUIGNARD,J.L.,POTIER, P.(2000).Biochimie végétale.2ème Ed. Dunod. Paris:177-185.

GURIB-FAKIMM,A.,(2006). Medicinal Plants: Traditions Of Yesterday And Drugs Of Tomorrow. *Molecular Aspects Of Medicine*, 27, 1-93p..

HANDA,S. S.,KHANUJA,S. P. S., LONGO G.,RAKESH,D. D. (2008). Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. International Centre for Science and High Technology.

HARBORNE,J.B.(1998). Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis. Ed. Chapman and Hall.London,302 p.

HART,K.J.,YANEZ-RUIZ,D.R.,DUVAL,S.M.,MCEWAN,N.R.,NEWBOLD, C.J., (2008) Plant extracts to manipulate rumen fermentation. *Animal Feed Science and Technology*. 147 : 8–35.

- HELLAL ,Z.(2011).**Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus. Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*). Mém de Magi, Unive Mouloud Mammeri De Tizi-Ouzou. Algérie. p78
- HERODEZ,S.S., HADOLIN, M., SKERGET, M., KNEZ,Z. (2003).** Solvent extraction study of antioxidants from Balm (*Melissa officinalis* L.) leaves. *Food chemistry*, 80(2), 275-282.
- HOPKINGS,W.G.(2003).** Physiologie végétale. 2ème Ed. Ed De Boeck. Espagne:139-276.
- ISERI,P., MASSON,M., RESTELLINI,J. P., YBERT,E.,DELAAGE DE MEUX,A., MOULARD, F., ZHA,E., DE LA ROQUE,R., DE LA ROQUE, O., VICAN,P., DEELESALLE -FEAT,T., BIAUJEAUD,M., Ringuet ,J., BLOTH,J., BOTREL,A.,(2001).** Larousse Des Plantes Médicinales : Identification, Préparation, Soins. 2ème Edition Devuef, Hong Kong: 335
- JUDD,W.S.,CAMBELL,C.S.,KELLOGG,E.A.,STEVENS,P.,(2002)**Botanique systématique-une perspective phylogénétique.1 ère Ed. De Boeck. Espagne:84-85.
- JULIE, M.J. (2011).** Enquête Prospective Ou Sein De La Population Consultant Dans Les Cabinets De Médecine Générale Sur L'île De La Réunion: A Propos Des Plantes Médicinales, Utilisation, Effets, Innocuité Et Lien Avec Le Médecin Généraliste. Mémoire De Doctorat En Médecine, Université Bordeaux 2, France.
- KAMRA, D.N., AGARWAL ,N., CHAUDHARY, L.C., (2006)** Inhibition of ruminal methanogenesis by tropical plants containing secondary compounds. *International Congress Series*. 1293 : 156–163.
- KAN, Y., GOKBULUT, A., KARTAL ,M., KONUKLUGIL, B., YILMAZ ,G. (2007).**Development and Validation of a LC Method for the Analysis of Phenolic Acids in Turkish *Salvia* Species. *Chromatographia Supplement* Vol. 66: S147–S152. Constantine. p81.
- KEMPF, I., ZEITOUNI, S. (2012).**Coût biologique de la résistance aux antibiotiques : analyse et conséquences. *Pathologie Biologie*, 60 (2), 9-14
- KHACHEBA ,I .,BENAMAR, H .(2008)**Effets des extraits de quelques plantes médicinales locales sur l' – amylase. Université Amar TelidjiLaghouat. p75.
- KHENAKA K., 2011-** Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogénèse ruminale chez l'ovin. Université Mentouri.

- LOPES-LUTZ, D., ALVIANO, D. S., ALVIANO, C. S., KOLODZIEJCZYK, P. P. (2008).**Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of Artemisia essential oils. *Phytochemistry*, 69(8), 1732-1738.
- MAHDJAR ,SALHA.(2013).** Contribution à l'Etude de la composition chimique de la plante Matricerai pubescents et à l'évaluation de son activité antioxydant. UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA
- MAKINO,R.,OHARA, S., HASHIDA, K. (2009).**Efficient extraction of polyphenolics from the bark of tropical tree species. *Journal of Tropical Forest Science*. P 45-9.
- MECHERI ,N ., ZEGHABI, K . (2015)** Evaluation Biologique Et L'effet De Séchage Sur La Caractérisation Des Métabolites Secondaires Des Extraits Issus De Quelques Plantes Spontanées Médicinalesmémoire Master Biotechnologie Végétale, Université Kasdi Merbah Ouargla
- MERGHEME, R. (2009).**Eléments de biochimie végétale.Bahddine.Algéri Microbiologie. Ed: DUNOD, Paris, 247-248
- MILBURY,P., RICHER, A.(2008).**erstanding the AntioxidantControversy. Ed. Praeger:81P
- MOLYNEUX, P.(2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity.*Songklanakarin J. Sci. Technol.* 26, 211-219.
- NAGARET, A. S. (2011).** La phytothérapie: se soigner par les plantes. Editions Eyrolles.
- NAGENDRAN B.,KALYANA S., SAMIR , S. (2006).** Phenolic compounds in plants and agriindustrial byproducts
- NAUCIEL, C., VILDE, J. L. (2005).**Bactériologie médicale. Elsevier Masson.
- NEDJMI ,A .,SOUSSOU ,A. (2014)** Caractérisations biochimiques de quelques plantes spontanées médicinales à travers des différents modes de séchage. Mémoire Master Biotechnologie végétale. Université Kasdi Merbah Ouargla. p 4
- OULD,EL HADJ.M.D., HADJ MAHAMMED, M., ZEDEIROU, H.,CHEHMA, A.(2003).**Importance des plantes spontanées médicinales la pharmacologie traditionnelle la région de Ouargla (Sahara septentrional - Est algérien). Département de Biologie Faculté des Sciences et Sciences de l'Ingénieur Laboratoire de protection des écosystèmes en milieu aride et semi aride Université de Ouargla BP 163 Ouargla 30000, Algérie.76p.
- PARIS, R., MOYES,H.(1969)**Précis de matière médicale. Paris : Masson.450p.

- PASTRE,J.,PRIYMENKO,N.(2007).** Intérêt des anti-oxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. *Revue Méd. Vét.* (4) :187 P.
- PATRA,A.K.,SAXENA,J.(2010).** A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. *Phytochemistry*,71(11-12) ,1198–1222
- PETERSON,J.D.M.(1998)** Flavonoids: dietary occurrence and biochemical activity. *Nutrition Res* 18. 1995-2018.
- PLESA,C.,HADARUGA,D.,HADARUGA,N.,BRANIC,A.,ARDELEAN,A.,LUPEA,A. (2011).**Juniperus communisand Juniperus virginiana hydrophobic extracts:a multivariateanalysis approach. *Revista de Chimie* 62 (9):941-946
- PRADEAU,D.,DAUPHIN,C.(2007).** Chromatographie planaire : applications. Dossier P1476, Base documentaire : Techniques d'analyse, vol. papier n° TA2.
- QUEZEL ,P., ET SANTA , S. (1963).**Nouvelle Flore De L'algerie Et Des Régions Désertiques Méridionales.Ed,Tome I: Paris. reviews, 12(4), 564.
- RIZK, A.M., (1982).** Constituents of plants growing in Qatar. *Fitoterrapia*, Elsevier B.V. Amsterdam 52 (2) : 35-42.
- ROUESSAC, F.,ROUESSAC, A., DANIEL CRUCH. (2004).** Analyse chimique, méthodes et techniques instrumentales modernes, méthodes séparatives. 6ème Ed. Dunod, Paris,p.102
- ROUTRAY,W., Orsat ,V. (2012).** Microwave assisted extraction of flavonoids: a review. *Food and Bioprocess Technology*, 5 (No 2), P 409-24.
- SANAGO ,R. (2006).** Le Rôle Des Plantes Médicinales En Médecine Traditionnelle. Université Bamako(Mali): 53
- SANJAY, P., KARTIK, D., VIRANI, E.D., PITHAWALA, M.D., SHUKLA, S.K., LAHIRI, N.K.J., MODI, H.A. (2015).** Phytochemical screening, total phenolic content, antibacterial and antioxidant activity of wild edible mushroom, *Peurotus Ostreatus*. *Intentional research journal of pharmacy*.vol 6(1).65-66p.
- SIVROPOULOU, A., PAPANIKOLAOU, E., NIKOLAOU, C., KOKKINI,S., LANARAS, T., ARSENAKIS, M. (1996).**Antimicrobial and cytotoxic activities of Origanum essential oils. *Journal of agricultural and Food Chemistry*, 44(5), 1202-1205
- SOFOFORA,A.(2010).**Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. Ed N2, KARTHALA, paris, 378p.

- TALBI,S., ROMERO-PUERTAS, M. C.,HERNANDEZ, A.,TERRON, L., FERCHICHI, A., SANDALIO, L. M. (2015).**Drought tolerance in a Saharian plant *Oudneya africana*: role of antioxidant defences. *Environmental and Experimental Botany*, 111, 114-126.
- TANGUY ,M.(2009).**Antioxydants Première partie : Les antioxydants dans l'alimentation. *Médecine*.Vol 5 (6):256-260.
- TEISSEIRE,P.L.(1991)**Chimie des substances odorantes. *Technique et Documentation Lavoisier*. Paris : 298-299
- TELLI, A., ESNAULT, M.A., KHELIL, A. (2015).**An ethno pharmacological survey of plants used in traditional diabetes treatment in south-eastern Algeria (Ouargla province).*Journal of Arid Environments*.86p.
- TRASE ,E., EVANS, W. C(1987)**Pharmacognosie,Billiaire Tindall .London 13 th Edition. P61-62.In Karumi Y, Onyeyili PA et Ogugduaja VO, 2004. Identification des principes actifs de l'extrait de feuilles de *M. balsamia* (Baume du pommé). *Journal of Medicine and scientific*.vol.4(3):179-182.
- TREASE, E., EVANS, W.C. (1987).** Pharmacognosie, Billiaire Tindall. London 13 th Edition. P 61-62. In Karumi Y, Onyeyili PA et Ogugduaja VO, 2004. Identification des principes actifs de l'extrait de feuilles de *M. balsamia* (Baume du pommé). *Journal of Medicine and scientific*. Nigeria. Vol. 4(3) : 179- 182.
- TREASE,G.E., EVANS,W.C.(1989).** A textbook of Pharmacognosy (13th edition) Bacilluere Tinal Ltd, London. 1994
- VALNET,J.(2001).**Aromathérapie .Traitement des maladies par les essences de plantes.ED,vigot
- VIGAN, M. (2012).** Progrès Dermato- Allergologie. John Libbey Eurotext Besancon: France
- VILLANO,D., FERNANDEZ-PACHON ,M.S.,MOYA , M.L.,TRONCOSO ,A.M., GARCIA-PARILLA ,M.C.(2007).**Radical scavenging ability of phenolic compounds towards DPPH free radical.*Talanta*,71: 230–235.
- VOLUME, M. 1 (2004)-JEROME J. PERRY, JAMES T. STALEY, STEPHEN LORY.** EDIZIONE ZANICHELLI
- WALLACE,R.J.(2004).** Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. *Proceedings of Nutrition Society*. 63: 621–629
- WANG, L.,WALLER,C.L.(2006).** Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology*, 17, P 300-312

WORLD HEALTH ORGANISATION (WHO). (2000). A report of the consultation meeting on traditional and modern medicine. *Harmonizing two approaches, Beijing, China.* p 22-26.

YAM, M. F., ANG, L. F., AMEER, O. Z., SALMAN, I. M., AZIZ, H. A., ASMAWI, M. Z. (2009). Anti-inflammatory and analgesic effects of *Elephantopus tomentosus* ethanolic extract. *Journal of acupuncture and meridian studies*, 2(4), 280-287. Available on : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20633503>

ZAKARIA, L.N., BELHATTAB, R. (2016). In vitro antioxidant activity of *Oudneya africana* R.Br. aerial parts. *Biological Sciences and Pharmaceutical Research* Vol.4(6),pp.58-64. 59-60p.

NABTI L. Z., 2014- Évaluation des Activités antioxydante et antimicrobienne des extraits de *Oudneya africana* R.Br. et *Randonia africana* Coss. Mémoire de Magister en Biologie. Université Ferhat Abbas de Sétif. p110.