



République Algérienne Démocratique Et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITÉ ABBES LAGHROUR –KHENCHELA-

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de biologie moléculaire et cellulaire

MEMOIRE

Présenté Pour l'obtention du Diplôme de

MASTER

FILIERE : biologie

OPTION : Biotechnologie et amélioration des plantes

Thème

*Etude phytochimique et l'activité
antibactérienne des extraits des racines de la
plante *Hyoscyamus albus* L.*

Présenté par

Yahiaoui wahiba

Laouar soumia

Soutenu le : 11 /06/2015

Jury de soutenance

Président : Mme. Hamli Sofia MAA Université Abbes Laghrou –Khenchela

Rapporteur : Mme. Kadi Kenza MCB Université Abbes Laghrou Khenchela

Examineur : Mr. Zraieb Azzedine MAA Université Abbes Laghrou –Khenchela

Promotion : juin -2015

Remerciement

Nous remercions avant tout ALLAH tout puissant, de m'avoir guidé toutes les années d'étude et m'avoir donné la volonté, la patience et le courage pour terminer ce travail.

Nous remercions notre encadreur, Mme KADI

Qui a accepté de diriger mon travail et m'a accordé toute son attention et sa patience pour l'accomplir.

Nous remercions les membres du jury Mme. Hamli Sofia , Mr. Zraieb Azzedine

Nous remercions tous les Ingénieurs de laboratoire de l'université Abbas laghrour -Khenchela- qui ont été oubliés : Mme BOUMAAREF f, Mme BOURMADA m, Mr AWAYJIA

Nous remercions toutes les personnes qui de près ou de loin ont contribué à ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à mes très chers parents, surtout mon père qu'il trouve ici toute ma gratitude pour leur soutien tout au long de mes études

A mes sœurs : Soumia, Fatima, Soussou

A mes frères : Oussama, aymen

A toute ma famille

A mes très chères amies : Meryem, Bahya, Rafika, et surtout soumia

A tous mes collègues et mes maîtres

A tous ceux que j'aime

DEDICACE

A mon encadreur Mme : kadi

Pour ces conciles est qui m'a encouragé et aidé durant cette période.

Amon amour, mon frère et mon ami : Abd ellatif

Pour leur grand cœur, est j'ai partagé ma souffrances dans les cinq années de l'université, et sa respect, surtout sa confiance

Merci leur amour qui m'a permis de devenir la personne Que je suis.

A mes parents, pour vos mains qui ont tant travaillées, Pour votre cœur qui m'a tant donné pour votre sourire qui m'a tant réchauffé, Pour vos yeux qui furent parfois mouillés, Pour vous qui m'avez tant aimé.

A mon amie que j'ai vécue avec elles des beaux moments au cours de mon cursus à L'université: Hiba je t'aime beaucoup et merci pour ces années.

Sans oublier autre amies : Sabrina

A mes amies de la promotion de magister de Produits

Naturelles : Meriem, Rafika, Biya et Nawal, Fouzia, nihad, Salma.

A tous qui me connaisse de près ou de loin

Sommaire

Introduction

Partie théorique

Chapitre 1 : Etude butanique

1- l'histoire des plantes médicinales en Algérie :.....	01
2- La famille des Solanacées :.....	01
3- Les Jusquiames :.....	02
3-1- Espèces :.....	02
3-2- <i>Hyoscyamus albus</i> L (la Jusquiame blanche).....	03
3-2-1- Description.....	03
3-2-2- Habitat.....	04
3-2-3- Noms vernaculaire.....	04
3-2-4- Informations complémentaires.....	04
3-2-5- Classification d' <i>Hyoscyamus albus</i> L.....	04
4- Composition chimiques d' <i>Hyoscyamus albus</i> L:.....	05
5- Utilisation :.....	06

Chapitre 2 : Les alcaloïdes

1. Définition et fonction.....	07
2- Biosynthèse des métabolites secondaires.....	07
3- Historique des alcaloïdes.....	08
4- Définition.....	09
5- Biosynthèse et classification des alcaloïdes.....	09
6- Localisation.....	11

7- Fonctions.....	11
8- Classification des alcaloïdes.....	12
8-1-Classification structural.....	12
9- Extraction et dosage des alcaloïdes.....	13
9-1-Extraction.....	13
9-2-Dosage.....	14
10-Propriétés physico-chimiques.....	15
11-Extraction par un solvant en milieu alcalin.....	16
12-Les effets des alcaloïdes.....	17
12-1- Effets des alcaloïdes sur le système nerveux centrale (SNC).....	18
12-2- Effets des alcaloïdes sur le système nerveux autonome (SNA).....	19
12-2-1-Effets des alcaloïdes sur l'appareil respiratoire.....	19
12-2-2- Effets des alcaloïdes sur les sécrétions	20
12-2-3- Effets des alcaloïdes sur l'appareil rénal.....	20
12-2-4- Effets des alcaloïdes sur l'appareil génital.....	20
12-3- Effets des alcaloïdes sur le système cardiovasculaire.....	21
12-4- Autres actions des alcaloïdes.....	21

Chapitre 3 : Les souches bactériennes testées

1-1-Rappel sur les bactéries	23
1-2- la structure bactérienne.....	23
2-Classification des bactéries d'intérêt médical	23
2-1- Bactéries en forme de sphère : les cocciés	23
2-1-1-Cocciés Gram positif	23
2-1-2- Cocciés Gram négatif	23
2-2- Bactéries en forme de bâtonnet : les bacilles.....	23
2-2-1-Bacilles Gram positif.....	23
2-2-2 Bacilles Gram négatif.....	24
2-2-3 Bacilles acido-alcool résistants (BAAR).....	24
2-3-Bactéries en forme de spirale : les spirochètes.....	24
2-4- Flore bactérienne anaérobie.....	24
2-4-1 Gram positif.....	24

2-4-2 Gram négatif.....	24
3- Les infections bactériennes.....	24
4-Les souches testées.....	24
4-1- <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	24
4-2- <i>Staphylococcus aureus</i>	25
4-3- <i>Staphylococcus aureus subsp. Aureus</i>	26
4-3- <i>Escherichia coli</i>	26

Partie pratique

Chapitre

Matériel et méthodes

1-Matériel végétal	28
2-Matériel technique.....	28
3- Etude phyto-chimique de la <i>Hyscyamus albus</i> L.....	29
3-1-Mise en évidence des tanins.....	29
3-2-Mise en évidence des saponosides.....	30
3-3-Mise en évidence des flavonoïdes.....	30
3-4-Mise en évidence des composés réducteurs.....	30
3-5- la mise en évidence des coumarines.....	30
3-6-Mise en évidence des alcaloïdes.....	30
4-Extraction des alcaloïdes	30
5-Détermination des alcaloïdes totaux.....	31
6-Etude de l'activité antibactérienne.....	31
6-1- Cueillette des souches testés	31
6-2-Matériel de l'activité antibactérienne.....	32
6-3-méthode des disques.....	32
6-4-Préparation des solutions tests.....	32
6-5-Préparation des disques.....	33
5-6-Milieus de culture.....	33
5-7-L'ensemencement.....	33

5-8-Application des disques.....	33
5-9-Lecture.....	34
6-Analyse statistique des données	34
Résultats et discussions	
1-Criblage phytochimique de l'espèce <i>Hyoscyamus albus</i> L.....	35
2- Le rendement des alcaloïdes totaux extraits.....	36
3- L'étude de l'activité antibactérienne de l' <i>Hyoscyamus albus</i> L :	
3-1- Analyse de la variance.....	37
3-2- L'activité antibactérienne de l'éthanol.....	37
3-4- L'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique brut d' <i>Hyoscyamus albus</i> L....	38
3-5- L'activité antibactérienne de l'antibiotique d' <i>Hyoscyamus albus</i> L.....	38
3-6- L'activité antibactérienne des alcaloïdes.....	39
4-Discussion générale de l'activité antibactérienne.....	40
-Conclusion.....	41
-Référence bibliographique.....	42
-Les annexes.....	43

Les abréviations

AcOH : acide acétique

EtOH : Ethanol

H₂SO₄ : acide sulfurique

AlCl₃ : chlorure d'aluminium

NaOH : hydroxyle de sodium

HCl : acide chlorhydrique

CHCl₃ : chloroforme (trichlorométhane)

Na : Sodium

Mg : Magnésium

K : Potassium

Ca : Calcium

Zn : Zinc

(G +) : Gram positif

(G-) : Gram négatif

Oxa : oxacilline

Met : méthanol

EB : extrait brute

EA : extrait alcaloïdique

Liste des figures

Figure 1 : <i>Hyoscyamus albus</i> L.....	2
Figure 2: La jusquiame blanche en période de floraison et fructification (lieu de récolte).....	3
Figure 3 : Jusquiame blanche (lieu de récolte 26/04/2013).....	4
Figure 4: Fleur de Jusquiame blanche (lieu de récolte 26/04/2013).....	5
Figure 5: Biosynthèse des métabolites secondaires.....	8
Figure 6: Biosynthèse des alcaloïdes.....	10
Figure 7: structure des alcaloïdes bases et les sels d'alcaloïde.....	16
Figure 8 : <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25
Figure 9 : <i>Staphylococcus aureus</i>	26
Figure 10 : <i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>Aureus</i>	26
Figure 11: <i>Escherichia coli</i>	27

Liste des tableaux

Tableau 1 : la solubilité des alcaloïdes	16
Tableau 2 : les résultats des réactions en tubes de la partie racinaire de l' <i>Hsyoscyamus albus L</i>	35
Tableau 3 : l'analyse de variance du diamètre de la zone d'inhibition (cm)	37
Tableau 4 : l'activité antibactérienne de l'éthanol 70%.....	37
Tableau 5 : les résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique de la jusquiame blanche	38
Tableau 6 : les résultats de l'activité antibactirienne de l'antibiotique	38
Tableau 7 : l'activité antibactérienne des alcaloïdes de la jusquiame blanche	39

Introduction

Introduction

Au travers des âges, L'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base tel que, nourriture, abris, vêtements et aussi pour ses besoins médicaux. Les plantes possèdent d'extraordinaires vertus thérapeutiques. Leurs utilisations pour le traitement de plusieurs maladies chez les êtres vivants et en particulier L'homme est très ancienne et a toujours été faites de façon empirique (SVOBODA, 2000).

De nos jours, nous comprenons de plus en plus, que les principes actifs des plantes médicinales sont souvent liés aux produits des métabolites secondaires. Leurs propriétés sont actuellement pour un bon nombre reconnue et répertorié, et donc mises à profit, dans le cadre des médecines traditionnelles et également dans la médecine allopathique moderne (BOURGAUD *et al*, 2001; KAR, 2007).

Aujourd'hui, on estime que les principes actifs provenant des végétaux représentent environ 25% des médicaments prescrits. Soit un total de 120 composés d'origine naturelle provenant de 90 plantes différentes. En Afrique, près de 6377 espèces de plantes sont utilisées, dont plus de 400 sont des plantes médicinales qui contribues pour 90% du traitement médicales. Jusqu'en 2004, on a estimé que près de 75% de la population africaine ont toujours recours aux plantes pour se soigner. De plus ce type de soin est considéré souvent comme faisant partie de la médecine douce (KAR, 2007).

Dans ce contexte s'inscrit ce présent travail de recherche, dont le but principal est d'estimer le rendement des alcaloïdes dans les racines du genre *Hyoscyamus albus* L. de la famille solanaceae très connu par son usage médicinale et l'activité antibactérienne.

Le mémoire est constitué de 2 parties :

- Dans **la première partie**, on a présenté le contexte bibliographique de ce travail de recherche dont **le premier chapitre** expose la description botanique de l'espèce, **le deuxième chapitre** porte sur l'étude des alcaloïdes et leurs effets biologiques et thérapeutiques et **le troisième chapitre** les souches bactériennes utilisées dans cette étude.
- Et dans **la deuxième partie** comprend la partie pratique dont on a déterminé la méthodologie de l'extraction et de dosage des alcaloïdes dans **le quatrième chapitre** ainsi que la méthodologie suivie dans l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits, et on a terminé par la présentation des résultats obtenus et leur discussion dans **le cinquième chapitre**.

Partie Bibliographique

- **Chapitre I**
Etude Botanique
- **Chapitre II**
Les Alcaloides
- **Chapitre III**
Les Souches Bactériennes testées

Chapitre I

étude butanique

Chapitre 1 : Etude botanique

1- L'historique des plantes médicinales en Algérie

Chaque culture a une histoire concernant l'utilisation des plantes médicinales pour traiter leurs maux. En Algérie l'utilisation des plantes médicinales est vieille d'un millier d'années, les premières écritures sur les plantes médicinales en Algérie et dans le Maghreb remontent au 9^e siècle a laissé de divers traités sur la médecine, les drogues simples, EL Bekry, auteur d'Abou Abdallah d'un livre sur les usines importantes d'Andalusia et d'une description de l'Afrique du Nord et de l'Abdallah-Ben-Lounès un docteur très habile né à Oran, qui a décrit l'utilisation de beaucoup de plantes médicinales (**BENHOUHOU, 2005**).

Même pendant le colonialisme Français de 1830 à 1962, les botanistes ont réussi a cataloguer un grand nombre d'espèces comme médicinales et un livre sur les plantes médicinales et aromatiques d'Algérie était publié en 1942 par Fourment et Roques ils ont mentionné 200 espèces décrites et étudiées pour la plupart d'elles dans le Nord d'Algérie et seulement 6 espèces du Sahara (**HAMDI-PACHA, 1993**).

Parmi les plantes médicinales d'importance, les plantes de la famille des composées qui constituent la plus vaste subdivision du règne végétal (**HAMDI-PACHA, 1993**).

2/- La famille des Solanacées

Les **Solanacées (Solanaceae.)** sont une famille de plantes dicotylédones (Magnoliopsida) appartenant à l'ordre des Solanales (**Olmstead et al, 1999**), dont le nom vient du genre Solanum. Ce sont des plantes herbacées, des arbustes, des arbres ou des lianes avec des feuilles alternes, simples et sans stipules. La famille comprend près de 98 genres et 2 700 espèces (**OLMSTEAD et BOHS, 2007**), et occupe une grande diversité d'habitat, de morphologie et d'écologie. Cette famille cosmopolite est présente partout dans le monde à l'exception de l'Antarctique. La majeure diversité d'espèces se rencontre en Amérique du Sud et en Amérique centrale. Cette famille comprend des espèces alimentaires d'une grande importance économique telles que la pomme de terre (*Solanum tuberosum*), la tomate (*Solanum lycopersicum*), l'aubergine (*Solanum melongena*) et les piments (*Capsicum*). De nombreuses plantes ornementales très populaires appartiennent aux Solanacées : Petunia, Schizanthus, Salpiglossis et Datura. Certaines espèces, riches en alcaloïdes, sont mondialement connues pour leurs usages médicaux, leurs effets psychotropes ou pour leur

Toxicité: belladone, morelle, brugmansia, datura, mandragore, tabac, jusquiame,

(OLMSTEAD et BOHS, 2007).

3-Les Jusquiames

Le genre *Hyoscyamus albus* L. (**figure1**) comporte une vingtaine d'espèces surtout représentées dans le bassin méditerranéen, l'Afrique du Nord et l'Asie occidentale. Toutes les jusquiames sont toxiques (**ETIENNE, 2005 ; RICHARD, 1982**).

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



Figure N°1 : *Hyoscyamus albus* L. (ETIENNE, 2005).

3-1-Espèces

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

- *Hyoscyamus aureus* L.
- *Hyoscyamus muticus* L.
- *Hyoscyamus niger* L.
- *Hyoscyamus pisillus* L.

- *Hyoscyamus reticulatus* L.
- *Hyoscyamus major* mill L.
- *Hyoscyamus minor* mill L.
- *Hyoscyamus luridussalisb* L.
- *Hyoscyamus boveanusdun* L.
- *Hyoscyamus desertorum*Asch et boiss L.

Hyoscyamus albus L. (ROBERTS et WINK, 1998).

3-2-*Hyoscyamus albus* L. (la Jusquiame blanche)

3-2-1-Description

Plante annuelle et bisannuelle de 20-90 cm, velue-visqueuse, à odeur vireuse faible; feuilles molles, toutes même les florales pétiolées, ovales-orbiculaires, en cœur ou un peu en coin à la base, sinuées-dentées à dents triangulaires; fleurs inférieures pédonculées, les autres su sessiles, calice très velu, le fructifère faiblement nervé-réticulé, à lobes courts, triangulaires-aigus; corolle irrégulière, à limbe oblique d'un jaune pâle non veiné en réseau à gorge et filets des étamines verdâtres; étamines dépassant un peu la gorge; capsule peu renflée à la base (figure2).

La jusquiame possède divers alcaloïdes tropaniques car elle est très riche en atropine, l'hyoscyamine et la scopolamine (HOUIVET, 2007).



Figure 2: La jusquiame blanche en période de floraison et fructification (lieu de récolte).

Chapitre I : Etude botanique

3-2-2-Habitat

La jusquiame blanche se trouve dans les décombres, murs et rochers du Midi, Languedoc, Provence; Haute-Loire ; Corse. Région méditerranéenne tout entiers



Figure N°03 : Jusquiame blanche (lieu de récolte 26/04/2013).

3-2-3-Noms vernaculaire

Al banj ou un Jusquiames nommé scientifiques (latin: *Hyoscyamus*) espèces herbacées de la famille solanacée comprend sept types acceptables (TIMBAL, 1904).

3-2-4-Informations complémentaires (TIMBAL, 1904)

***Chorologie** : méditerranéen

***Inflorescence** : cyme unipare hélicoïde

***Sexualité** : hermaphrodite

***Pollinisation** : entomogame

***Fruit** : capsule

***Couleur des fleurs** : jaune

***Macule** : bleu

***Caractérisation écologique** : friches annuelles, nitrophiles, thermophiles, estivales, Mésohydriques (JEAN, 1904).

3-2-5-Classification de l'espèce *Hyoscyamus albus* L.

Règne : Plantae

Phylum: Phanerogammas

Sub phylum: Angiospermes

Classe: Dicotylédone

Division: Métachlamydée

Raio : Sympetole

Ordre: Tubiflorae

Famille : Solanaceae

Genre : *Hyoscyamus*

Espèce: *Hyoscyamus albus* (TREAS *et al*, 1978, DOMINIQUE, 1872)



Figure N°04: Fleur de Jusquiame blanche (lieu de récolte 26/04/2013).

4-Composition chimique de l'espèce *Hyoscyamus albus* L.

La jusquiame et ses cousines la belladone et le datura ont une composition chimique voisine; 15 à 20% de substances minérales (Iron., Na, Mg, K, Ca, Zn, Arsenic) (DUCK, 1992) et surtout 0,2 à 0,5% d'alcaloïdes tropaniques : la hyoscyamine et la scopolamine.

Toutes les parties la jusquiame en contiennent mais c'est dans les feuilles que la concentration en est la plus forte (0.03-0.17) %, les racines 1% et les grains (0.01-0.06) %.

La hyoscyamine et l'atropine ont la même formule chimique et la même activité pharmacologique. La première est optiquement active, la deuxième ne l'est pas (racémique) et c'est cette dernière qui est utilisée en médecine, bien que probablement non présente dans la plante vivante. (PUDERSELL, 2006).

En plus elle contient des autres alcaloïdes mais a des concentrations très faibles comme Nortropine, belladonine, Cuscohygrine (TEBERLKO, 1974 et LUNA, 1995).

L'*Hyoscyamus* aussi contient des flavonoïdes glycosides (Hypersides, Quercitaine),

Les flavonoïdes aglycones (Kaempferole), quelques amines volatiles (choline, pyrroline), les coumarines et quelques dérivés d'alcaloïdes (Atroscine, acide gaminoburyrique), Scopetole, scopine, Tétra méthyl putrescine et les protéines (**PUDERSELL, 2006**).

Les grains d'*Hyoscyamus albus* L. contiennent plusieurs lipides et acides gras insaturés (Acide oléique et l'acide palmitique...) (**PUDERSELL, 2006**).

5-Utilisation

L'*Hyoscyamus* est une plante hallucinogène qui a été utilisée de tous temps par les "sorciers", "chamans et "guérisseurs médium". Son usage est particulièrement dangereux car la quantité de feuille à fumer ou à ingérer pour obtenir l'effet hallucinogène est difficile à doser. A forte dose, le délire est furieux avec convulsions puis coma et parfois mort; à faible dose les effets sont juste par sympathicolytiques.

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

Mais L'*Hyoscyamus* est aussi une plante médicinale, les formes galéniques dépendent des pays, en France on trouve la poudre de l'*Hyoscyamus*, la teinture et l'extrait mou de l'*Hyoscyamus*; on trouvait les feuilles d'*Hyoscyamus*,. Il entre dans la composition de sirops antitussifs et entrain il y a quelques années dans la composition de cigarettes et de poudre antiasthmatisque.

Atropine: pré anesthésie, ophtalmologie, manifestations douloureuses et spasmodiques du tube digestif et de l'appareil urinaire.

Scopolamine: préanesthésie et troubles parkinsoniens, mal des transports (avec le risque de rétention urinaire en cas de troubles prostatiques).

Diurétique, hypnotique, narcotique, sédatif, Plus anecdotique, on utilise encore sous les tropiques la feuille d'*Hyoscyamus* séchée en fumigation pour calmer la crise d'asthme et la feuille verte légèrement chauffée en cataplasme sur les articulations douloureuses (**BOWN, 1995; CHEVALLIER, 1996**).

Chapitre II

les alcaliodes

1. Définition et fonction

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

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

2-Biosynthèse des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires résultent généralement de trois voies de biosynthèse : la voie de shikimate, la voie de mevalonate et du pyruvate figure 5 (VERPOORTE et ALFERMANN, 2000)

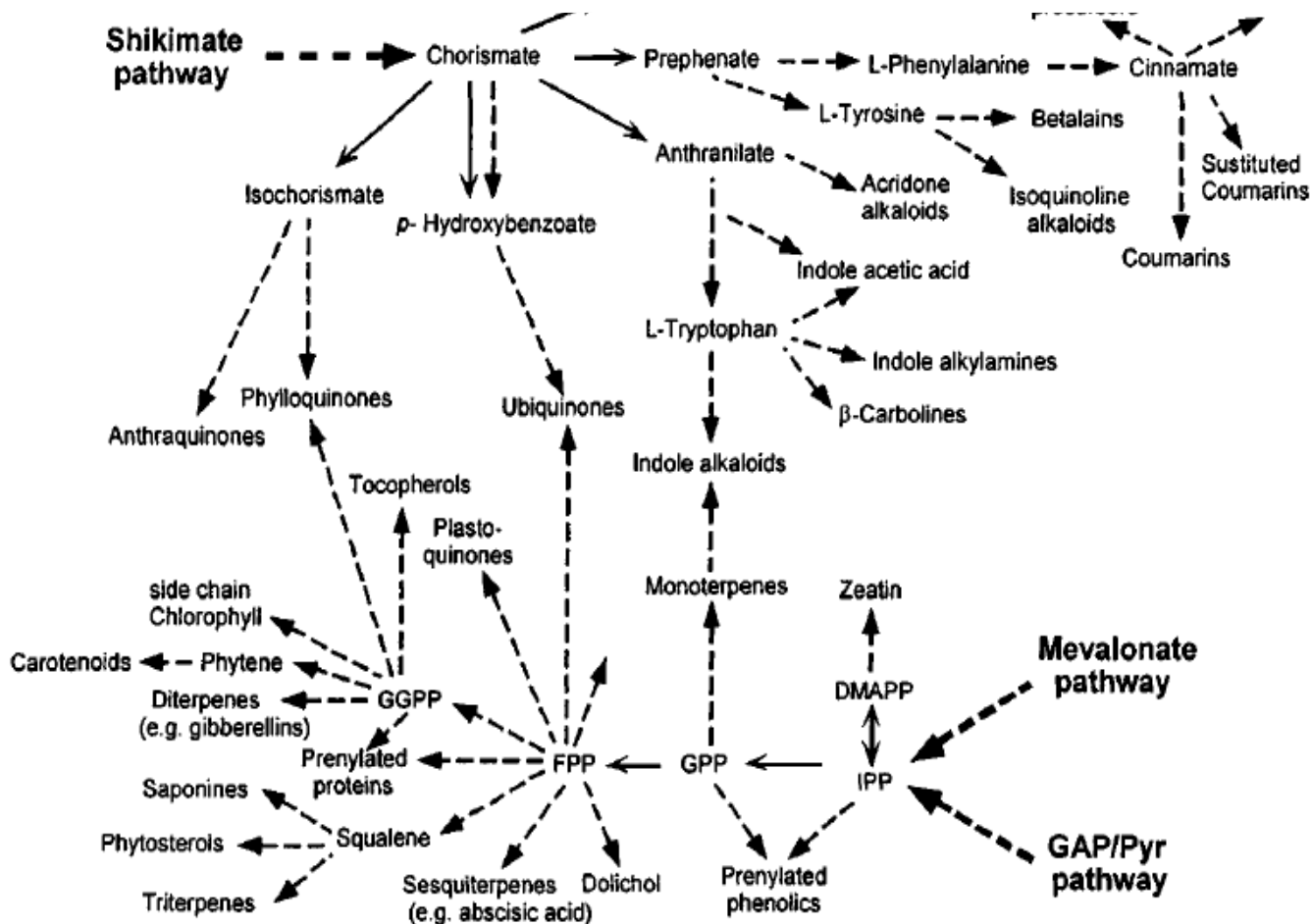


Figure N° 5: Biosynthèse des métabolites secondaires (VERPOORTE et ALFERMANN, 2000 ; WINK, 2010).

3- Historique des alcaloïdes

Ce sont des composés qui cristallisent facilement.

Usages traditionnels depuis des millénaires : opium, aconit, coca, belladone, colchique, quinquina, ipéca, curares très actives voire potentiellement toxiques.

1803 : Derosne : isolement du 1^{er} alcali végétal : narcotine et morphine de l'opium.

1806 : Serturmer : isolement du principe somnifère (= morphine) de l'opium.

1817-1820 : Pelletier et Caventou : identification de nombreux alcaloïdes : caféine du café, émétine de l'ipéca, strychnine de la noix vomique, quinine et cinchonine du quinquina, conine.

4- Définition

Le terme alcaloïde a été introduit par Neisner au début du XIX^e siècle, pour désigner des substances naturelles réagissant comme des bases, comme des alcalis (de l'arabe *al kaly*, lasoude et du grec *eidōs*, l'aspect). Ils sont définis comme un groupe hétérogène des substances azotées au goût amer, liées par leur propriété chimique commune : la basicité, d'origine naturelle et de distribution restreinte, ils ont une structure complexe (**BRUNETON, 1999**).

portent tous une terminaison en « -ine », comme la codéine, la caféine, la morphine,...etc (**CHARPENTIE et al, 2004**).

Les alcaloïdes représentent un ensemble de molécules d'origine naturelle, renfermant du carbone, de l'hydrogène et, plus spécialement, de l'azote, la plupart possèdent une activité biologique marquée qui a suscité de longue date un intérêt thérapeutique. Leur dénomination – de l'arabe *al kali* (qui a donné « alcali ») (**POISSON, 2015**).

5-Biosynthèse et classification des alcaloïdes

Pour certains auteurs, les alcaloïdes sont bio synthétiquement formés à partir d'un acide aminé et l'azote est inclus dans un système hétérocyclique, ces éléments caractérisent les alcaloïdes vrais. Par ailleurs, d'autres auteurs distinguent :

- Les pseudo-alcaloïdes présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivés des acides aminés. Il s'agit dans la majorité des cas des terpénoïdes.
- Les proto-alcaloïdes sont des aminés simples dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique : ils ont une réaction basique et sont élaborés *in vivo* à partir d'acide aminé. Diverses substances répondent à cette définition : des aminés simples comme la sérotonine, la mescaline du peyotl ou la cathinone du thé des Abyssins et aussi les bétaines (**BRUNETON, 1999**).

Chapitre II : les alcaloïdes

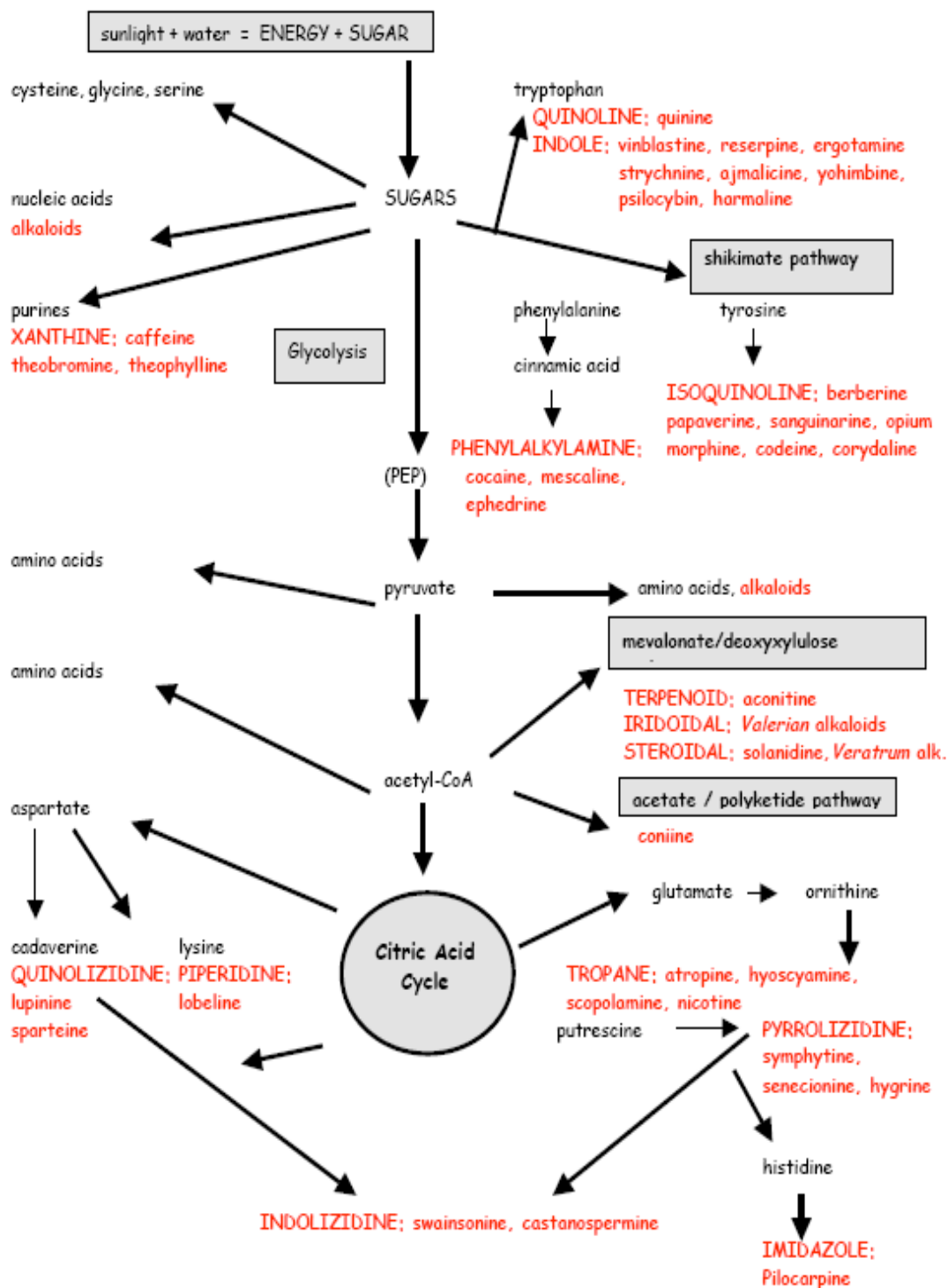


Figure N°6: Biosynthèse des alcaloïdes (KLEIN, 2006)

6-Localisation

Les lieux d'élaboration des alcaloïdes dans les plantes sont variables suivant les espèces. Ce sont les tissus jeunes, en phase de croissance et les tissus périphériques – cellules épidermiques ou sous-épidermiques des feuilles, téguments des graines, partie corticale des racines – qui constituent les sites privilégiés de production. La mise en évidence d'alcaloïdes dans les tissus fait appel à des réactifs de précipitation ou de fluorescence. Ils y existent soit à l'état libre, soit le plus souvent combinés à des acides organiques banals (acide tartrique) ou des acides spécifiques de leur origine (acide méconique du pavot, acides tiglique et angélique des *Veratrum*). On a remarqué que, dans les cultures *in vitro*, il se formait des combinaisons insolubles avec des macromolécules cellulaires (POISSON,2015).

Les teneurs sont très variables : certaines écorces de quinquina jaune renferment jusqu'à 20 % d'alcaloïdes, mais des concentrations de l'ordre de 1 % sont plus habituelles.

La Sensibilité des méthodes actuelles de détection permet d'analyser des plantes en contenant moins de 1 p.p.m. Quoi qu'il en soit, les proportions varient globalement, non seulement avec l'espèce d'origine ou ses variétés, mais avec la nature du sol, le climat, l'environnement, éventuellement les conditions culturales (pavot somnifère).

Certains alcaloïdes peuvent se trouver à de très faibles proportions comparativement à d'autres de la même espèce, ce qui complique beaucoup les opérations de séparation. Le cas de la leurocristine (vincristine), alcaloïde antitumoral de la pervenche de Madagascar (*Catharanthus roseus*) dont la teneur est de l'ordre de $3 \cdot 10^{-4}$ % (3 g par tonne), est très démonstratif(CHARPENTIER *et al*, 2004).

7- Fonctions

Pour le règne végétal :

- protection contre les animaux phytophages ou autres prédateurs, servent à la survie
- produits d'excrétion du métabolisme azoté parfois
- substances de réserve.
- régulateurs de croissance.

Pour le règne animal :

faible masse moléculaire donc caractère volatile, signaux chimiques.

- allumons : éléments de défense
- phéromones : éléments de communication.

Pour le règne humain :

probablement régulation du métabolisme avec un système d'excrétion.

8- Classification des alcaloïdes

Trois types de classification des alcaloïdes ont été proposés suivant :

1. leurs activités biologiques et écologiques,
2. leurs structures chimiques,
3. leurs voies de biosynthèse.

8-1-Classification structural

Ils sont catégorisés en fonction de leur structure chimique

groupe des Azolidines (pyrrolidines) : Aniracetam, Anisomycine, CX614, Dextromoramide, Diphenylprolinol, Acide Domoic, Histapyrrodine, Acide Kainic, Methdilazine, Oxaceprol, Prolintane, Pyrrobutamine, hygrine, cuscohygrine.

groupe des Azines : pipéridine, conicine, trigonelline, arecaidine, guvacine, pilocarpine, cytisine, nicotine, spartéine, pelletierine.

groupe des Tropanes : atropine, hyoscyamine, cocaïne, ecgonine, scopolamine.

groupe des Quinoléines : Acridine, Acide bicinchoninique, Broxyquinoline, Chlorquinaldol, Cinchophen, Clioquinol, Dequalinium, Dihydroquinine, Dihydroquinidine, Hydroxychloroquine, 8- Hydroxyquinoline, Iodoquinol, Acide Kynurenique, Méfloquine, Nitroxoline, Oxycinchophen, Primaquine, Quinine, Quinidine, TSQ, Topotecan, Acide Xanthurenique, Strychnine, Brucine, Veratrine, Cevadine, Echinopsine
Aminoquinolines : Chloroquine, Hydroxychloroquine, Primaquine, 8-Aminoquinolines : Primaquine, Tafenoquine, Rodoquine, Pamaquine,

groupe des Isoquinolines : dimethisoquine, quinapril, quinapirilat, debrisoquine, 2,2'Hexadecamethylenediisoquinolinium dichloride, N-laurylisoquinoliniumbromide, narcéine, hydrastine, berbérine

les alcaloïdes de l'opium :

naturels : Morphine, Codéine, Thébaïne, Papavérine, Narcotine, Noscapine, semi-synthétiques : Hydromorphone, Hydrocodone, héroïne, synthétiques : Fentanyl, Pethidine, Methadone, Propoxyphène,

groupe des Phényléthylamines (ce ne sont pas des alcaloïdes au sens propre, même si régulièrement classés comme tels) : MDMA, méthamphétamine, mescaline, éphédrine ;

groupe des Indoles :

Tryptamines : DMT, NMT (monométhyltryptamine), psilocybine, sérotonine, pseudophrynamine,

Ergolines : les alcaloïdes de l'ergot de seigle (ergométrine, ergotamine, ergosine, ergovaline, ergokryptine, ergocornine, ergocristine, acide lysergique, etc.).

Bêta-carbolines : harmine, yohimbine, réserpine, émétine,

groupe des Purines :

Xanthines : caféine, théobromine, théophylline,

groupe des Terpénoïdes :

les alcaloïdes de l'aconit napel : aconitine, Solanidine, Solasodine, Batrachotoxine, Delphinine

Stéroïdes : solanine, samandarin,

groupe des Bétaïnes (composés d'ammonium quaternaire, ce ne sont pas des alcaloïdes au sens propre, même si régulièrement classés comme tels) : muscarine, choline, neurine.

groupes des Pyrazoles.

9- Extraction et dosage des alcaloïdes

9-1-Extraction

Deux cas peuvent présenter : dans le premier la drogue pulvérisée est directement épuisée par de l'eau acidifiée; dans le second c'est avec une solution alcoolique acidifiée qu'est réalisé l'épuisement. Dans ce cas de figure l'extraction est suivie d'une distillation sous vide

qui élimine l'alcool et laisse une solution aqueuse acide de sels d'alcaloïdes.

Dans les deux cas on a donc une solution aqueuse de sels d'alcaloïdes qu'il faut purifier. Pour ce fait on peut :

Alcaliniser la solution et extraire les bases par un solvant organique non miscible, Fixer sélectivement les alcaloïdes contenus dans la solution sur une résine échangeuse d'ions puis les éluer à l'aide d'un acide fort ; Précipiter les alcaloïdes sous la forme d'iodomercures. Le complexe formé est récupéré par filtration, solubilisé dans un mélange alcool-acétonique et décomposé par passage sur une résine échangeuse d'ions (**BRUNETON, 1999**).

9-3-Dosage

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

Il faut distinguer le dosage des alcaloïdes totaux et celui d'un alcaloïde particulier dans une drogue donnée.

Le dosage des alcaloïdes totaux (AT) commence obligatoirement par leur extraction à l'aide d'une méthode générale, on préfère généralement la méthode en milieu alcalin.

Le résidu d'AT peut ensuite être apprécié par une méthode gravimétrique ou par un dosage

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

Pour le dosage d'un constituant ou d'un groupe de constituants dans une drogue déterminée, on aura recours à des techniques spectrophotométriques, colorimétriques, fluorimétriques, densitométriques. Les méthodes spectrophotométriques sont très sensibles et assez fréquemment préconisées : dosage des alcaloïdes de type quinine et de type cinchonine par mesure de l'absorbance à deux longueurs d'onde dans les écorces de quinquina, dosage de

la caféine dans la feuille de thé,...etc. Si le dosage ne peut être effectué directement, il est possible de séparer le composé à doser par CCM et de procéder à la mesure de l'absorbance après élution des taches.

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

10-Propriétés physico-chimiques

Les alcaloïdes sont des composés aminés, ordinairement des aminés tertiaires, basiques (JAVILLIER *et al*, 1959).

Des alcaloïdes en grande quantité sont capables de détruire les liaisons phosphodiester d'un organisme, par hydrolyse avec un groupe hydroxyle (OH) libre. Ces phosphodiester étant chargés de la dégradation des lipides et glucides dans le corps, leur stockage est perturbé. Une application pratique de cet effet est observée chez les fumeurs (la nicotine étant un alcaloïde d'origine végétale), qui ont tendance à prendre du poids lorsqu'ils arrêtent de fumer. Les nucléotides composant l'ADN et l'ARN sont elles aussi liées par des liaisons phosphodiester. Si elles sont détruites, cela risque d'entraîner des erreurs de copie de l'information génomique, et donc altérer le codage des acides aminés formant les protéines du corps. Si l'altération est suffisante pour aboutir à une protéine totalement différente, le fonctionnement de l'organisme peut s'en trouver changé. Et comme la réparation de l'ADN passe également par les liaisons phosphodiester, si celles-ci sont détruites, l'erreur génétique va persister et peut aboutir à des cancers. On remarque d'ailleurs le taux élevé de cancer du poumon chez les plus gros consommateurs de nicotine (GUIGNARD, 2000).

Dans la nature, les alcaloïdes existent souvent sous forme optiquement active; parfois, le même alcaloïde se rencontre, à l'état naturel, sous les trois formes: d-, l- ou dl- (nornicotine) (JAVILLIER *et al*, 1959).

Presque toujours ils sont capables de dévier la lumière polarisée, les bases cristallisées et donnent des points de fusion nets, sans décomposition surtout au-dessous de 200°C (BRUNETON, 1999).

La solubilité des alcaloïdes est en fonction du pH. En règle générale :

Les alcaloïdes bases sont solubles dans les solvants apolaires (organiques) et les alcools et insolubles dans l'eau tableau, La basicité des alcaloïdes est très variable, étant étroitement fonction de la disponibilité du doublet libre de l'azote. Elle est également influencée par des contraintes stériques. C'est un facteur d'instabilité pour les molécules qui, à l'état de base et en solution, sont sensibles à la chaleur, à la lumière et à l'oxygène. La basicité des

alcaloïdes permet de former des sels avec des acides minéraux (chlorhydrates, sulfates, nitrates) ou organiques (tartarates, sulfamates, maléates). **Figure 09**

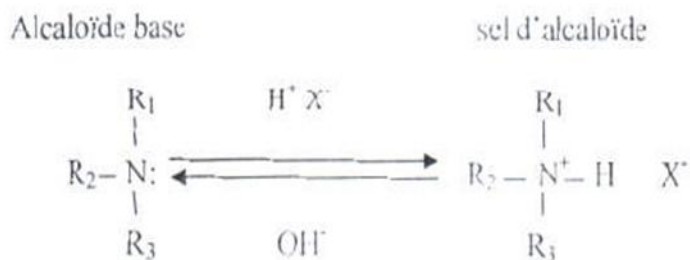


Figure N° 09: structure des alcaloïdes bases et les sels d'alcaloïde (GHESTEM *et al*, 2001).

Les alcaloïdes sels sont solubles dans l'eau et les alcools et insolubles dans les solvants apolaires (GHESTEM *et al*, 2001). **tableau 1**

Tableau 1 : la solubilité des alcaloïdes (GHESTEM *et al*, 2001)

pH alcalin	pH acide
Insoluble dans H ₂ O	Soluble dans H ₂ O et les alcools (MeOH, Et OH)
Soluble dans les solvants organiques apolaires Et les alcools (MeOH, Et OH)	Soluble dans les solvants organiques apolaires
(non ionisé)	(ionisé)

11-Extraction par un solvant en milieu alcalin

1ère étape

La drogue pulvérisée et délipidée est mélangée à une solution aqueuse alcaline qui déplace les alcaloïdes de leurs combinaisons salines, les bases ainsi libérées sont ensuite solubilisées dans un solvant organique. L'agent d'alcalinisation est très souvent l'ammoniaque.

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

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

L'extraction peut se faire par simple contact ou, et c'est de loin préférable, par contacts

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

2^{ème} étape

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

3^{ème} étape

Les solutions aqueuses de sels d'alcaloïdes, réunies et le cas échéant « lavées » par un solvant apolaire (hexane, oxyde de diéthyle), sont alcalinisées par une base en présence d'un solvant organique non miscible à l'eau. Les alcaloïdes bases précipitent et se dissolvent dans la phase organique. L'épuisement de la phase aqueuse est poursuivi jusqu'à ce que tous les alcaloïdes soient repassés en phase organique. Cette étape de purification peut se faire, comme la précédente et selon les quantités mises enjeu, dans une ampoule à décantation ou dans des appareils plus ou moins complexes : perforateurs, extracteurs centrifuges. En dernier lieu, le solvant organique contenant les alcaloïdes bases est décanté, débarrassé des traces d'eau qu'il peut renfermer par déshydratation sur un sel anhydre (par exemple le sulfate de sodium) et évaporé sous pression réduite. Il reste alors un résidu secs alcaloïdes totaux. (**BRUNETON, 1999**).

12-Les effets des alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances particulièrement intéressantes pour leurs activités Pharmacologiques (**BRUNETON, 1999**).

Ils ont aussi de nombreuses utilisations thérapeutiques (**GHESTEM *et al*, 2001**) notamment :
 Au niveau du système nerveux centrale (SNC) comme dépresseurs (morphine, scopolamine) ou stimulants (caféine, strychnine).

Au niveau du système nerveux autonome (SNA) comme sympathomimétiques(éphédrine, sympatholytiques, yohimbine, ergotine), parasympholytiques(atropine, hyoscyamine) ou ganglioplégiques (spartéine, nicotine).

Il existe aussi des curarisants, d'anesthésiques locaux (cocaïne), d'antifibrillants (quinidine),

d'antitumoraux, (vinblastine, ellipticine), d'antipaludiques, (quinine), d'amoebicides (émétine). Ces activités conduisent à une utilisation importante des drogues à alcaloïdes (**BRUNETON, 1999**). Les alcaloïdes sont utilisés soit tels quels, soit sous formes de dérivés plus actifs, (**DELPHANIQUE *et al*, 1996**).

12-1- Effets des alcaloïdes sur le système nerveux central (SNC)

Certains alcaloïdes agissent sur le SNC comme dépresseurs ou stimulants (**GHESTEM *et al*, 2001**).

-L'atropine : exerce des effets consécutifs à son interaction avec les récepteurs muscariniques centraux, aux doses toxiques, elle provoque une excitation importante : agitation, désorientation, exagération des réflexes, hallucinations, délire, confusion mentale, insomnie.

A faible dose, l'action peu nette, est à tendance dépressive, sédative (**BRUNETON, 1999**).

-La scopolamine : l'activité parasympatholytique de cet alcaloïde est identique à celle de l'atropine, mais moins marquée. Ses effets sur le SNC sont nets : action sédatives, dépressive, hypnotique, amnésiante (**BRUNETON, 1999**).

-La nicotine : est un stimulant centrale, elle provoque des tremblements et des convulsions. La nicotine excite les cellules médullaires de Penchan et diminue ainsi les réflexes médullaires mono et polysympatiques (**COHEN *et al*, 1981**).

-L'éphédrine : produit une excitation sur le SNC avec des tremblements de l'insomnie, elle produit tous les effets de la noradrenaline.

-La cocaïne : résulte de la potentialisation de la transmission dopaminergique dans le système limbique du cerveau antérieur.

-La pilocarpine et l'arécoline : ont des effets centraux de type parkinsonien comprenant le tremblement et l'ataxie qui sont le résultat de l'activation des récepteurs muscariniques aux niveaux des ganglions de la base. La pilocarpine détermine un éveil cortical caractéristique (**GOODMAN *et al*, 1996**).

-L'ergotamine: est plus de 26g efficace dans le traitement de la migraine (**KATZUNG, 2000**).

-La morphine: la morphine induit une analgésie sélective : elle déprime très fortement la perception nociceptive, elle élève le seuil de la douleur. (**BRUNETON, 1999**)

-La caféine : elle agit principalement au niveau du SNC comme un stimulant cortical. La caféine à l'état d'éveil, facilite l'idéation et diminue la sensation de fatigue(**BRUNETON, 1999**).

-**L'hyocine** : à une action dépressive sur le SNC (**JAVILLIER *et al*, 1959**).

-**La vincamine** : améliore le fonctionnement des cellules cérébrales.

12-2- Effets des alcaloïdes sur le système nerveux autonome (SNA)

-**Le groupe atropine/ hyoscyamine** : a une action parasympatholytique sur le SNA et une action spasmodique ou spasmolytique.

-**La scopolamine** : à une action antinauséreuse et une action parasympatholytique plus faible que celle de l'atropine et l'hyoscyamine.

-**La cocaïne** : est un anesthésique local très puissant, c'est un produit sympathomimétique.

-**La sparteine** : coupe la conduction au niveau des ganglions des nerfs sympathiques.

-**La codéine** : a une activité antitussive, antalgique et antidiarrhéique.

-**La nicotine** : stimule les ganglions parasympathiques puis un ralentissement par stimulation des ganglions sympathiques (**COHEN *et al*, 1981**).

-**L'éphédrine** : s'apparente à l'adrénaline, provoquant une libération des catécholamines endogènes ; c'est un sympathomimétique indirect (**CHARPENTIER *et al*, 1998**).

Au niveau du système nerveux autonome les alcaloïdes agissent au niveau de plusieurs organes et appareils comme l'œil, l'appareil respiratoire, l'appareil rénal, le tube digestif, l'appareil génital, ...etc.

12-2-1-Effets des alcaloïdes sur l'appareil respiratoire

-**La morphine** : possède une action dépressive centrale par la dépression respiratoire avec risque d'arrêt respiratoire.

-**La nicotine** : à faible dose entraîne la paralysie respiratoire.

-**La tubocurarine** : diminue la fréquence et l'amplitude respiratoire par l'action directe sur le bulbe (**COHEN *et al*, 1981**).

-**L'éphédrine** : accélère les mouvements respiratoires et augmente leur intensité, c'est un bronchodilatateur et stimulante du centre respiratoire bulbaire.

Grâce à la présence de caféine et de théophylline, le thé est un stimulant respiratoire (**CHOPRA *et al*, 2002**).

-**La codéine** : exerce une action antitussive. Cette activité s'accompagne d'une légère dépression des centres respiratoires (**BRUNETON, 1999**).

12-2-2- Effets des alcaloïdes sur les sécrétions

-**L'atropine** : elle entraîne un freinage des sécrétions salivaires (sécheresse buccale),

gastriques, sudorales, pancréatiques, bronchiques et lacrymales (**BRUNETON, 1999**).

-La pilocarpine : parasympatholytiquement, la pilocarpine provoque une hypersécrétion salivaire, gastrique et sudorale (**BRUNETON, 1999**). Elle est utilisée lors d'une insuffisance rénale (**B. CHARPENTIER *et al*, 1998**).

12-2-3- Effets des alcaloïdes sur l'appareil rénal

Les fleurs de Genêt balein (riches en spartéine) sont utilisées sous formes de tisane comme un diurétique.

-La colchicine : est utilisée dans le traitement de la goutte (élévation de l'acide urique sanguin) et aussi pour un traitement de l'allopurinol (pour éviter la crise de la goutte) (**CHARPENTIER *et al*, 1998**).

-La caféine : a un effet diurétique (**CHOPRA *et al*, 2002**).

-L'éphédrine : affaiblit la capacité contractile de la vessie.

-La morphine : induit une rétention urinaire, c'est un antidiurétique (**BRUNETON, 1999**).

10-2-4-Effets des alcaloïdes sur le tube digestif :

-L'atropine : induit un relâchement des fibres lisses, une inhibition motrice diminution de tonus, de l'amplitude et de la fréquence des contractions péristaltiques intestinales (**BRUNETON, 1999**).

-L'amine de l'ésérine : est administré à la dose de 1 à 3 mg per os dans les troubles gastro-intestinales, l'hypochlorhydrie et l'insuffisance digestive (**COHEN *et al*, 1981**).

-La strychnine : stimule le tube digestif à la dose de 1 à 3 mg/j (**CHARPENTIER *et al*, 1998, 2004**).

-La morphine : provoque un vomissement et agit au niveau des fibres musculaires lisses (**BRUNETON, 1999**).

12-2-4- Effets des alcaloïdes sur l'appareil génital

-La spartéine : stimule les fibres lisses de l'utérus (**CHARPENTIER *et al*, 1998**).

-La méthylergométrine : est utilisée en cas de saignements importants ou prolongé après l'accouchement pour contracter l'utérus et faire cesser l'hémorragie (**BRUNETON, 1999**).

12-3-Effets des alcaloïdes sur le système cardiovasculaire

-L'atropine : au niveau cardiaque, l'atropine après une bradycardie élève le rythme par suppression de l'action freinage du vague, au niveau vasculaire : les effets sont marqués (mais à doses toxiques, on observe une vasodilatation des vaisseaux

capillaires cutanés surtout au niveau de la face) (**BRUNETON, 1999**).

-La caféine : a un effet chronotrope et un effet inotrope : ces deux propriétés définissent cette substance comme un analeptique cardiaque; possède un effet hypertenseur et provoque une augmentation du débit cardiaque.

-La théophylline : est un bronchodilatateur.

-La nicotine : l'action de la nicotine sur la pression artérielle est typique ; c'est un hypertenseur, elle accroît la fréquence et la force des battements cardiaques et la consommation de l'oxygène par le myocarde. (**COHEN *et al*, 1981**).

-L'éphédrine : est un chronotrope et inotrope positif sur le cœur. C'est un vasoconstrictrice, son effet cardiaque est plus marqué que son effet vasculaire.

-L'ésérine : produit un ralentissement des battements du cœur, par une action muscarinique, cette action est inhibée par l'atropine et remplacée par une accélération cardiaque (**CHARPENTIER *et al*, 1998**).

-La quinidine : est un sédatif cardiaque qui diminue l'excitabilité, la conductibilité et la contractibilité du myocarde.

-La morphine : est un dépresseur cardiaque avec bradycardie, il provoque aussi l'hypertension.

-La codéine : est un dérivé de la morphine, a une action analgésique (**JOLLIET *et al*, 2000**).

-La sparteine : agit comme un tonique cardiaque, recommandés comme cardiosédatif.

-L'agmatine : c'est un antifibrillant. Il ralentit les battements de cœur.

-L'hordéine est l'hydrastine : sont des hypertensive. (**JAVILLIER *et al*, 1959**).

12-4- Autres actions des alcaloïdes

Des recherches sont faites pour l'emploi comme anticancéreux.

- La nicotine : induit la fibrillation des muscles striés par action sur la plaque motrice, provoque leur contraction en libérant le calcium du reticulum sarcoplasmique(**COHEN *et al*, 1998**).

-la caféine : provoque un ralentissement des fibres lisses au niveau des vaisseaux et des poumons et elle favorise la contraction musculaire au niveau des fibres striées.

-La colchicine : est un antitumorale ; elle bloque la division cellulaire au stade de lamétaphase.

-La strychnine : est un antiasthénique et un médicament contre l'énurésie, elle entre dans la composition d'appâts empoisonnés pour les rougeurs (**RUBIN *et al*, 2004**).

-La serpentine : est un antidiabétique, anti-leucémique, anti-tumorale, elle bloque la division en stade métaphase par action antitubuline.

-La vinblastine et la vincristine : sont utilisés dans le traitement des leucémies, de la maladie de Hodgkin et de diverses autres tumeurs.

-La quinine : est un antimalarien qui rend encore service dans certaines formes graves du (paludisme, il reste un antipaludique et un fébrifuge précieux (**AIACHE *et al*, 1989**)).

-La broncriptine : inhibe la lactation des dérivés plus simples comme le LSD (diethylamidede l'acide lysergique) (**DELPHANIQUE *et al*, 1996**)).

Chapitre III

Les Souches Bactériennes testées

1-1-Rappel sur les bactéries

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

Les bactéries se reproduisent selon deux modes :

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

1-2- la structure bactérienne

Une bactérie est composée :

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

2-Classification des bactéries d'intérêt médical

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

2-1-1-Coccies Gram positif

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

2-1-2- Coccies Gram négatif

Nous avons le genre Neisseria.

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

2-2-1-Bacilles Gram positif

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

2-2-2 Bacilles Gram négatif

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

2-2-3 Bacilles acido-alcoolo résistants (BAAR)

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

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

Nous avons les genres *Treponema*, *Leptospira*, *Borrelia*, *Spirillum*.

2-4- Flore bactérienne anaérobie

2-4-1 Gram positif

Nous avons les genres *Clostridium*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Propionibacterium*.

3-4-2 Gram négatif

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

3- Les infections bactériennes

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

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

4-Les souches testées

4-1-*Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa est une commune bactérie qui peut causer la maladie chez les animaux, y compris les humains. Ce est le citrate, catalase et oxydase positif. Il se trouve dans le sol, l'eau, la flore de la peau, et la plupart des environnements artificiels dans le monde entier. Il se développe non seulement dans des atmosphères normales, mais aussi dans hypoxiques atmosphères, et a, ainsi, colonisé de nombreux environnements naturels et artificiels. Il utilise un large éventail de matières organiques pour la nourriture; chez les animaux, sa polyvalence permet à l'organisme d'infecter les tissus endommagés ou ceux qui ont une immunité réduite. Les symptômes de ces infection sont généralisées inflammation et la septicémie. Si ces colonisations se produisent dans les organes du corps critiques, tels que les poumons, le tractus et les reins, les résultats peuvent être

mortels. Comme il se développe sur des surfaces humides, cette bactérie se retrouve également sur et dans l'équipement médical (GBENOU *et al*, 2011).



Figure N°11 : *Pseudomonas aeruginosa* (GBENOU *et al*, 2011).

4-2-*Staphylococcus aureus*

Les staphylocoques sont des bactéries de type cocci à Gram positif, qui se retrouvent fréquemment chez les personnes en bonne santé, habituellement dans la muqueuse du nez. La bactérie peut ensuite coloniser d'autres régions, via les mains, et en particulier les parties humides du corps comme les aisselles ou la zone génitale.

Parmi la quarantaine de types de staphylocoques existants, le staphylocoque doré (*Staphylococcus aureus*) est le plus souvent rencontré dans les pathologies infectieuses. Ce staphylocoque peut causer des infections graves. De plus, il est l'un des principaux responsables des infections nosocomiales, c'est-à-dire contractées en milieu hospitalier, ainsi que des intoxications alimentaires.

Les staphylocoques sont à l'origine d'affections de la peau, le plus souvent bénignes comme l'impétigo, mais, le staphylocoque doré peut entraîner des infections plus graves comme certaines formes de pneumonies et de méningites bactériennes. Ce type de bactérie est également une des principales causes d'intoxication alimentaire liée à des cas de gastro-entérite. Lorsque les staphylocoques dorés se développent dans la circulation sanguine, ils peuvent se fixer dans les articulations, les os, les poumons ou le cœur. L'infection peut se révéler très grave et parfois même être mortelle (MARSHALL, et WILMOTH, 1981)

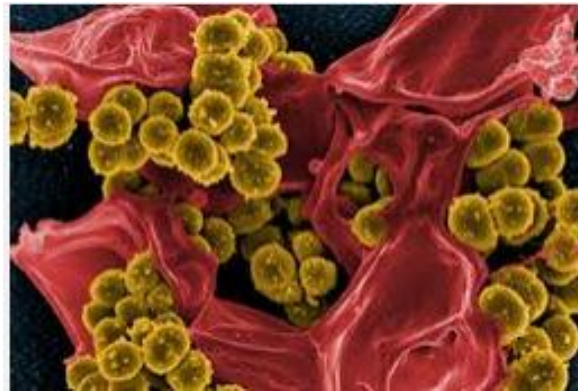


Figure N°12 : *Staphylococcus aureus* (MARSHALL, et WILMOTH, 1981)

4-3-Staphylococcus aureus sub sp. aureus

Staphylococcus aureus est un pathogène qui provoque une intoxication alimentaire et l'infection associée communautaire avec la résistance aux antibiotiques. Cette espèce est un microbe intestinale indigène trouvé chez les nourrissons et ne trouve pas dans l'intestin adulte. La taille relativement petite du génome et l'évolution rapide des gènes de résistance aux antibiotiques dans les espèces ont attiré une attention croissante à la santé publique. Pour étendre notre compréhension des espèces et d'utiliser les données du génome pour des études génomiques comparatives, nous avons séquencé la souche type de *S. aureus* subsp. *aureus* (KIM *et al*, 2014)

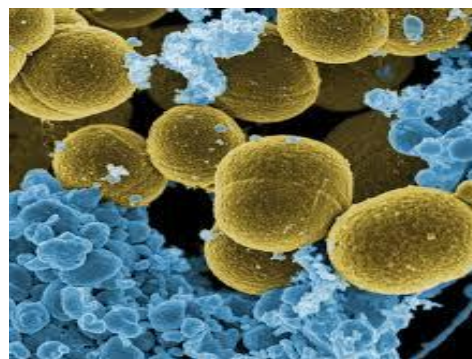


Figure N°13 : *Staphylococcus aureus subsp. aureus* (KIM *et al*, 2014)

4-3- *Escherichia coli*

Escherichia coli (bacille à Gram négatif), commensal du tube digestif, est la bactérie la plus fréquemment impliquée dans les infections urinaires.

Elle peut aussi provoquer des diarrhées par des mécanismes très divers, ainsi que diverses infections communautaires ou nosocomiales (NATARO et KAPER, 1998).

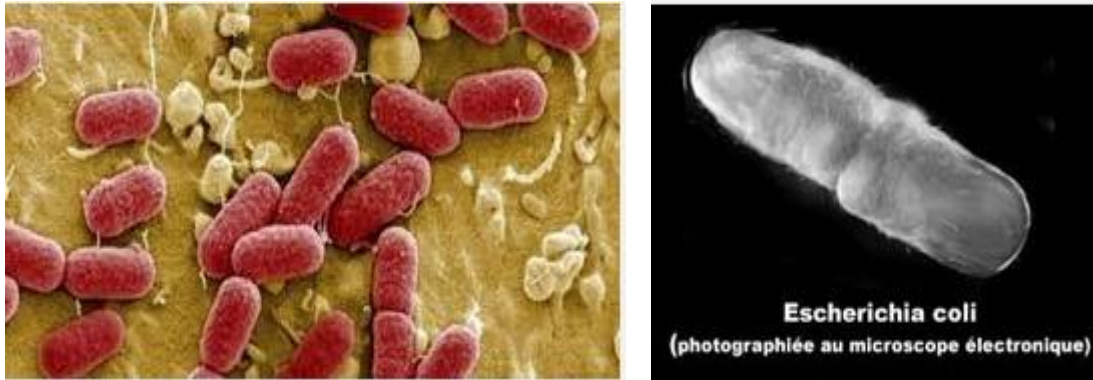


Figure N°14: *Escherichia coli* (GIRAULT, 1971).

Partie Pratique

- **Chapitre V**
Matériel et Méthodes
- **Chapitre IV**
Résultats et Discussion

Chapitre IV

Matériel et Méthodes

Matériel et méthodes

Le travail expérimental, pour but l'étude de l'activité antibactérienne d'une plante médicinale: *Hyoscyamus albus L.*

La partie expérimentale a été réalisée au laboratoire de microbiologie, **Université Abbès Laghrour –Khenchela-** .

Matériel

1-Matériel végétal

L'espèce sélectionnée *Hyoscyamus albus L.* a été récoltée dans la région de Arris (wilaya de Batna) en 26/ 04/ 2013.

Le matériel végétal est constitué de la partie racinaire. la plante récoltée a été séché à l'ombre et à l'air libre, après le séchage la plante a été broyée pour obtenir une poudre fine pour l'utiliser dans les différents tests.

2. Matériel technique de laboratoire

a-Rota vapeur

b- Etuve

c-Rota vapeur

d-Chambre d'observation UV

e-vortex

f-Autoclave

g-Balance

Verrerie

* fioles, tube à essais, entonnoirs, pipette pasteur, bécher

* Ampoule à décanter 250 ml

*Ballon

*Burette graduée

*Boites pétri

Produits chimiques

*Ethanol (CH-OH)

- *Chloroforme (CHCl_3)
- *Acétone (CH_3COCH_3)
- *Chlorure ferrique FeCl_3
- *Hydroxyde d'ammonium (NH_4OH 10%)
- * Acide acétique (AcOH)
- * Hydrochloride HCl
- *Hydroxyde de sodium (NaOH).
- *Réactif de Mayer.
- *Réactif de Wagner
- *Acide sulfurique (H_2SO_4)

3- Etude phyto-chimique de la jusquiame blanche

(Screening phytochimique)

Il est indispensable de connaître les différents groupes chimiques de la plante.

3-1-Mise en évidence des tanins

A 2 ml de la solution à tester, ajouter 2 à 3 gouttes de solution de FeCl_3 à 2%.

Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleue-noire et un précipité (Laisser reposer quelques minutes) (KARUMI *et al*, 2004).

3-2-Mise en évidence des saponosides

Test 1 :

5 ml de la solution à tester sont bien mélangés avec 10 ml d'eau distillée pendant 2 min. La formation d'une mousse persistante après 15 min confirme la présence des saponosides (KARUMI *et al*, 2004).

Test 2 :

5 ml de l'extrait sont mélangés avec 2 ml de chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique concentré. Une couleur rouge-marronne de la couche d'interface indique la présence des triterpènes hétérosidiques (EDEAGA, 2005).

3-3-Mise en évidence des flavonoïdes

5 ml de l'extrait butanolique sont traités avec quelques gouttes d' AlCl_3 (1%).

La présence des flavonoïdes est confirmée par l'apparition d'une couleur jaune (EDEAGA, 2005).

3-4-Mise en évidence des composés réducteurs

Ce test est basé sur la réaction de Keller-Kiliani.

A 1 ml de l'extrait ajouter 5 ml d'acide acétique contenant des traces de FeCl_3 et 5 ml d'acide sulfurique contenant des traces de FeCl_3 .

La présence des composés réducteurs est confirmée par la formation de deux phases, une colorée en brun rouge (acide acétique) et la deuxième en bleu-vert (acide sulfurique) (**EDEAGA, 2005**).

Parmi les composés réducteurs on note les coumarines,

3-5- Mise en évidence des coumarines

La mise en évidence de ces dernières se fait selon la méthode décrite par (**BENMEHDI, 2000**).

Placer 1 g d'échantillon de la plante humide dans un tube à essai. Couvrir le tube avec un papier imbibé d'une solution de NaOH et le placer dans un bain marie pendant quelques minutes.

Ajouter 0,5 ml de NH_4OH (10%). Mettre deux taches sur un papier filtre et examiner sous la lumière ultraviolette. La fluorescence des taches confirme la présence des coumarines

3-6-Mise en évidence des alcaloïdes

Test 1 : Ce test est fait pour révéler la présence ou l'absence des alcaloïdes sels.

L'extrait sec, ajouter 5 ml d' HCl 2N au résidu et chauffer dans un bain marie. Filtrer le mélange et réaliser les tests avec le réactif de **Wagner** (2g de KI et 1,27g d' I_2 solubilisé dans 100 ml d'eau distillée). La présence de turbidité ou de précipitation indique la présence des alcaloïdes sels (**BENMAHDI, 2000**).

Test de Mayer 2 :

5ml de solution ou extrait brut, ajouter quelques gouttes du réactif **Mayer**. La présence de turbidité ou de précipitation indique la présence des alcaloïdes sels.

4-Extraction des alcaloïdes

Les racines de la jusquiame blanche récoltées ont été nettoyées puis broyées. 10g de la matière végétale obtenue est mise à macérer dans un mélange hydro alcoolique: Ethanol + Eau (70%, 30% V / V) pendant 24H.

La macération est répétée 2 fois avec renouvellement du solvant, puis on filtre.

Après filtration, le filtrat a subi une l'évaporation sous vide (Rota vapeur) à 50 °C, la solution (Extrait brut) a subi des extractions successives de type liquide-liquide en utilisant le solvant de chloroforme (50ml) ; HCl (50ml) et l'hydroxyde d'ammonium (50ml), l'extraction est répétée trois fois (**BRUNETON, 1999**).

5-Détermination des alcaloïdes totaux (**BRUNETON, 1999**)

L'estimation des alcaloïdes des extraits végétaux par dosage par volume a été réalisée par la méthode classique.

Mettre les alcaloïdes totaux dans volume de HCl 0.2N et ajouter le Na OH 0.2N en présence de rouge diméthyle comme témoin jusqu'à le changement de la couleur.

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

$$\% \text{des alcaloïdes} = \frac{\text{volumed'acide}(0.2N) - \text{volumedebase}(0.2N)(n - 1)}{\text{poidsd'chantillon}(g)}$$

6-Etude de l'activité antibactérienne

Nous avons appliqué la technique par contact direct dite aromatoگرامme pour évaluer

l'activité antibactérienne de différents extraits de la jusquiame blanche (**MABKHOTA et YOUNSI, 2005**).

6-1-Cueillette des souches testés

Les effets de l'activité biologique des plantes sont étudiés sur les souches bactériennes :

Souche 01 : *Pseudomonas aeruginosa*

Souche02 : *Staphylococcus aureus*

Souche03 : *Staphylococcus aureus subsp aureus*

Souche 04 : *Escherichia coli*

Provenant de laboratoire de Microbiologie à l'hôpital de la wilaya de Khenchela.

Les tests d'activité biologique sont réalisés au niveau du laboratoire de microbiologie de l'institut de biologie de l'université Abbés Laghrour – Khenchela-.

6-2-Matériel de l'activité antibactérienne

-une gélose Mueller-Hinton en boîte de Pétri

-disques d'antibiotique, ou un distributeur permettant la dépose standardisée des disques sur la gélose

- une souche pure de la bactérie à étudier

-un râteau ou un écouvillon

-une pipette de 1 ml

- pipette pasteur
- Eau physiologique stérile

6-3-Méthode des disques

C'est une vieille méthode pour mesurer le pouvoir antibactérien des antibiotiques de synthèse. La méthode est appelée aromatoگرامme par référence à l'antibiogramme, la seule différence est que l'antibiotique est remplacé par les composés étudiés:(l'aromatoگرامme est à la phytothérapie ce que l'antibiogramme décrit par la pharmacopée française des antibiotiques est à la médecine) (GIRAULT, 1971).

Inspiré de la méthode de SHROEDER et MESSING (1949), l'aromatoگرامme consiste à utiliser des disques de papier filtre imprégnés dans les solutions et placés à la surface des géloses ensemencées. Après incubation, les diamètres d'inhibition sont mesurés en mm ; ils correspondent aux zones où les germes avaient été inhibés ou détruits par la diffusion de composés.

La sensibilité d'un germe est **nulle(-)** quand le diamètre est inférieur ou égal à 8 mm (**N**).

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

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

6-4-Préparation des solutions tests

Les solutions testées sont les solutions de

- Test négatif (Ethanol 70%)
- Test positif (Oxacilline)
- Extrait brut de la plante (extrait éthanolique)
- Extrait des alcaloïdes

6-5-Préparation des disques

Cette préparation se fait à partir du papier Wathman N°3 qui est découpé en disques de 6 mm de diamètre, Ces disques seront placés dans un tube à vis pour stérilisation à l'étuve pendant 30 min à 130°C

On a les disques de :

- Test négatif.
- Test positif (Oxacilline)
- Extrait brut de la plante
- Extrait des alcaloïdes

6-6-Milieus de culture

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

6-7-L'ensemencement

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

6-8-Application des disques

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

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

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

6-9-Lecture

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

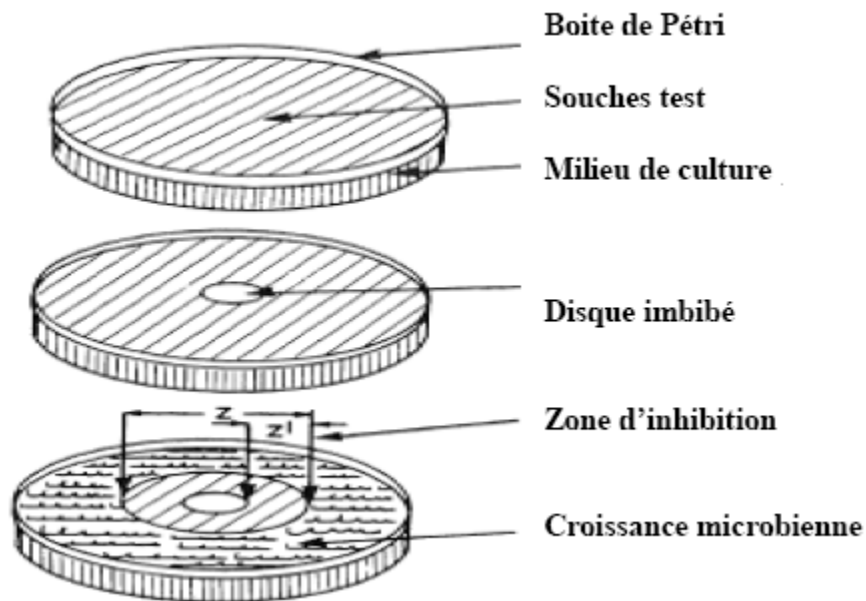


Figure N°15: illustration de la méthode des aromatogrammes sur boîte de Pétri (PIBIRI, 2005).

7-Analyse statistique des données

Les analyses de variance des résultats de l'activité antibactérienne ont été réalisées par le logiciel statistique MINITAB.

Les différences considérées hautement significatives à $p < 0.01$.

Chapitre V




Résultats et Discussion

Résultats et discussion


1-Criblage phytochimique de l'espèce *Hyoscyamus albus* L.

Les résultats de screening phytochimique des racines de la jusquiame blanche sont présentés dans le tableau ci-dessous

Tableau N°02 : les résultats des réactions en tubes de la partie racinaire de l'*Hyoscyamus albus* L.

Recherche	Résultats	
Les tanins	Apparition d'une coloration bleue noir(+)	Extrait brut 
Les saponosides	Formation d'une mousse persistante(+)	Extrait brut 
Les flavonoïdes	Apparition d'une couleur jaune (+)	Extrait brut 

Chapitre V : Résultats et discussion

<p style="text-align: center;">Les composés réducteurs</p>	<p style="text-align: center;">Formation de deux phase une en brun rouge et l'autre en bleu vert (+)</p>	<p style="text-align: right;">Extrait brut</p> 
<p style="text-align: center;">Les coumarines</p>	<p style="text-align: center;">La présence la florescence(+)</p>	
<p style="text-align: center;">Les alcaloïdes</p>	<p style="text-align: center;">La présence de turbidité (+)</p>	<p style="text-align: right;">Extrait brut</p> 

+ Fonction de l'intensité de la coloration et/ou des précipités.

Les résultats ont été positifs avec les saponosides, les flavonoïdes, les composés réducteurs, les tanins et les alcaloïdes. Donc les racines de *Hyoscyamus albus* L. récoltées d'Arris renferment presque toutes les grandes familles des métabolites secondaires.

Ce qui est en accord avec les résultats obtenus par Hannachi(2013) sur la partie aérienne.

2- Le rendement ou le dosage des alcaloïdes totaux extraits

Le pourcentage des alcaloïdes de la partie racinaire de l'*Hyoscyamus albus* L. est de 0,84% par contre la partie aérienne de la même espèce l'*Hyoscyamus albus* L. séchée à l'abri de la lumière a donné un pourcentage de 0,783% (Hannachi, 2013).

Ce rendement est élevé par rapport au rendement d'alcaloïde de la partie aérienne trouvé par Hannachi (2013) pour la même espèce récoltée de la même région et dans la même période.

3- L'étude de l'activité antibactérienne de l'*Hyoscyamus albus* L.

3-1-Analyse de la variance

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

Tableau N°03 : l'analyse de variance du diamètre de la zone d'inhibition (cm)

source	DDL	SC	CM	F	P
Souches	3	7.33	2.44	1.68	0.192
Extraits	3	1027.50	342.50	234.86	0.000
Interaction	9	23.50	2.61	1.79	0.109
Erreur	32	46.67	1.46		
Total	47	1105.00			

L'analyse de variance des résultats de l'activité antibactérienne en fonction des extraits et des souches testées présente une différence significative entre les extraits testés (extraits brut, l'extrait alcaloïdique, test négatif et test positif) avec $p=0.000$, et ne présente aucune différence significative entre les souches testées : *Pseudomonas Aeruginosa* (G-) *Escherichia coli* (G-) *Staphylococcus aureus* (G+) *Staphylococcus aureus* (G+) ($p=0.192$), ainsi que l'interaction entre les souches et les extraits($p=0.109$).

3-2- L'activité antibactérienne de teste négatif d'*Hyoscyamus albus* L.

Tableau N°04: Résultats de l'activité antibactérienne de l'éthanol 70%.

Souches bactériennes	Le diamètre de la zone d'inhibition (mm)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-
<i>Staphylococcus aureus subsp. aureus</i>	-
<i>Escherichia coli</i>	-

Selon l'observation des résultats présentés dans le tableau N°4, On constate que le test négatif l'éthanol 70% n'a aucun effet sur les souches bactériennes testées.

Même résultat trouvé par Hannachi (2013) pour la partie aérienne de la même espèce.

3-3- L'activité antibactérienne de l'extrait éthanologique brut d'*Hyoscyamus albus* L.

Tableau N°05 : Résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait éthanologique de la jusquiame blanche.

Souches bactériennes	Le diamètre de la zone d'inhibition (mm)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10
<i>Staphylococcus aureus</i>	7
<i>Staphylococcus aureus subsp. aureus</i>	8,5
<i>Escherichia coli</i>	8

On remarque aussi que l'extrait éthanologique brut des racines de l'*Hyoscyamus albus* L. présente une activité antibactérienne moyenne contre les souches testées (*Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus subsp. aureus*, *Escherichia coli*).

3-4- L'activité antibactérienne de l'antibiotique d'*Hyoscyamus albus* L.

Tableau N°06: Résultats de l'activité antibactérienne de l'antibiotique oxacilline

Souches bactériennes	Le diamètre de la zone d'inhibition (mm)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8
<i>Staphylococcus aureus</i>	10
<i>Staphylococcus aureus subsp. aureus</i>	13
<i>Escherichia coli</i>	14

Les résultats présentés dans le tableau N° 6. On remarque que le test positif l'antibiotique oxacilline présente une activité antibactérienne contre vis à vis les souches testées (*Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus subsp. aureus*, *Escherichia coli*) exprimée par des diamètres de la zone d'inhibition varie entre 8 et 14 mm, dont la souche *Pseudomonas aeruginosa* a montré une meilleure résistance par rapport aux autre souches avec un diamètre de 8mm par contre la souche la plus sensible est *Escherichia coli* avec un diamètre de 14mm.

3-5- L'activité antibactérienne des alcaloïdes d'*Hyoscyamus albus* L.

Tableau N°07 : L'activité antibactérienne des alcaloïdes d'*Hyoscyamus albus* L.

Souches bactériennes	Le diamètre de la zone d'inhibition (mm)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7,33
<i>Staphylococcus aureus</i>	-
<i>Staphylococcus aureus subsp. aureus</i>	8
<i>Escherichia coli</i>	7,66

Les résultats présentés dans le tableau N°7 présentent une activité antibactérienne contre les souches testées (*Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus subsp. aureus*, *Escherichia coli*), dont la souche *Staphylococcus aureus* a montré une

meilleure résistance par rapport ou autre souches avec un diamètre de 0mm par rapport ou autre souches avec un diamètre de 7, 33mm par contre la souche la plus sensible est avec un *Staphylococcus aureus subsp. aureus* diamètre de 8mm.

4-Discussion générale de l'activité antibactérienne

D'après ces résultats nous pouvons dire que la zone d'inhibition des extraits peut être affectée par le degré de diffusion des extraits dans la gélose. Ceci peut donc expliquer les diamètres importants de la zones d'inhibition révélées dans nos résultats et qui se rapprochent des résultats de l'antibiotique utilisé comme test positif et nous pouvons déduire que la zone d'inhibition des extraits brut et alcaloïdique de l'*Hyoscyamus albus* L. dépend de l'espèce bactérienne testée, *Pseudomonas aeruginosa*, est l'espèce la plus connue par sa résistance a la plupart des extraits des plantes médicinales, cette sensibilité est en relation avec la nature de sa membrane externe qui lui confère la sensibilité à la plupart des agents biocides.

Il est apparaît que le *Staphylococcus aureus* (gram positive) est la bactérie la plus susceptible par comparaison avec les autres souches (gram négative) ; ceci peut être attribué à la différence de la structure entre les bactéries gram positives et les bactéries gram négatives.

La paroi cellulaire des bactéries gram positives est constituée par une seule couche alors que la paroi cellulaire du gram négatif a une structure multicouche liée par une membrane cellulaire externe (ALI-SHTAYEH *et al*, 1998).

Conclusion

Conclusion

Les plantes médicinales présentent une source inépuisable de substances et composés naturels bioactifs. Dans le cadre d'étude et de valorisation des plantes médicinales, nous avons réalisé une étude phytochimique et biologique de la plante *Hyoscyamus albus* L.

Les résultats du criblage préliminaire des racines de la jusquiame blanche ont montré que *H.albus* L. contient : des flavonoïdes, des saponosides, des tanins, des coumarines, des composés réducteurs, et des alcaloïdes.

L'extraction des alcaloïdes de *Hyoscyamus albus* L. a été effectuée par un solvant en milieu alcalin. Le dosage des alcaloïdes par la méthode classique à partir des racines de la jusquiame blanche a révélé un pourcentage de 0,84%.

L'évaluation de l'activité antibactérienne, est réalisée en adoptant la méthode des disques par un test de sensibilité de quatre souches bactériennes, deux gram positif : *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus aureus* (ATCC 43300) et deux gram négatif : *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) et *Escherichia coli* (ATCC 25922), elle a révélé une puissante activité des différents extraits ainsi que l'analyse de variance des résultats de l'activité antibactérienne a présenté une différence significative entre les extraits testés.

En fin l'ensemble de ces résultats obtenus in vitro ne constitue qu'une première étape de la recherche de substance de source naturelle biologiquement active. Des essais complémentaires seront nécessaires et devront pouvoir confirmer les performances mises en évidence.

Les références bibliographiques

Référence bibliographique

- **Anna B. Bowen et Christopher R. Braden 2006.** Number 8–August ; Synopsis Invasive Enterobactersakazakii Disease in Infants .
- **Anonyme, 2005.** Monographie de la wilaya de Batna. Document interne de la direction de planification et de l'aménagement du territoire, 145 p.
- **Agence Nationale pour la Conservation de la Nature et (A Union Internationale pour la Conservation pour la Conservation de la Nature NN et UICN ,2013)**
- **Baseflor. Index botanique, écologique et chorologique de la flore de France par Julve, Ph.,1998 .** ff. Informations complémentaires.
- **Baseveg. Répertoire synonymique des groupements végétaux 1998.** de France par Julve, Ph., ff. :
- **Becker, K., Harmsen, D., Mellmann, A., Meier, C., Schumann, P., Peters, G., & von Eiff, C. (2004).** Development and evaluation of a quality-controlled ribosomal sequence database for 16S ribosomal DNA-based identification of Staphylococcus species. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(11), 4988-4995. doi : 10.1128/JCM.42.11.4988-4995.2004
- **Brown JH, « Theobald Smith 1859-1934 », J Bacteriol**, vol. 30, no 1, 1935, p. 1–3 2009
- **Bruneton, J.L.** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, (3ème éd). Paris : Editions médicales internationales, éditions Tec & Doc Lavoisier, 1999; 799-1079; 1120p.
- **Bull. Soc. bot. Fr., Bull. Soc. Bot. Fr. (1904)**, Société Botanique de France , Tome 124 - Fascicule 7-8 - Saisie : Jean TIMBAL - Art. n°20490
- **Cohen, Y. ; Jacquot, C. 1981, 2001 .** Pharmacologie, (5 ème éd révisée). Paris : éditions Masson,; 93, 94, 96-100 ; 489p.
- **Curtis M. J. ; Walker M. J. ; Sutter M. G ; Hoffman B. B,1999.** -pharmacologie intégrée. (1 ère cd). Paris : éditions De Doeck université. ; 540-545; 606p.
- **Chansellé , S.** Guide du préparateur en pharmacie, (2 ème éd). Paris : Editions
- **Charpentier, B.; Hamon-Lorléac'h, F.; Harlay, F-A.; Huard, A. Ridoux, L.;**

Référence bibliographique

- Chopra, D. ; Simon, D, 2002.** Les plantes médicinales et leurs bienfaits. Editions presses de châtelet; 95-100 ; 254p.
- Dajoazr, 2003.** Précis d'écologie. Ed. Dunod, Paris, 615 p.
- Dr Jean-Michel Hurtel, 2002.** Soigner par les plantes phytothérapie, plantes médicinales, aromatiques, huiles essentielles. copyright *www.phytomania.com
- **Dr.M.Girault.(1971)** .Traité de phytothérapie et d'aromathérapie ,tome III,cité par A,Editeur.paris.tome 1-P,204.
- **Dr Gau David 2013** . Article , La partie-du-scientifique&id=710:les-alcaloides .
- Duraffourd C,Dhervicourt L ,et Laparaz J.C.(1990)**, Examen de laboratoire
- **E.Derety, J.Mol.Structr, 1999.** (Theochem)
- Faurle C., FERRA Ch., MEDORI P., DEVAUX J. & J-L. HEMPTIENNE, 2003.**
Ecologie, Approche scientifique et pratique. 5e édition, Ed. Tec & Doc (Lavoisier), 407 p. FRONTIER S., PICHOD-VIALE D., LEPRÉTRE A., DAVOULT D. & Ch. LUCZAK., 2004- Ecosystèmes, Structure, Fonctionnement, Evolution. 3e édition, Ed. DUNOD, Paris, 549 p.
- **François Denis,Marie-Cécile Ploy 2007.** Bactériologie médicale: techniques usuelles. ECBU, page 139. Elsevier Masson, - 573 pages.
- **Frédéric LEGENS** Correspondance nomenclaturale, étymologie, description et répartition. Contribution :, Bernard
- Ghestem, A.; Seguin, E.; Paris, M.; Orecchioni, A-M. 2001** . Le préparateur en pharmacie, (dossier 2). Paris : Editions médicales internationales, éditions Tec & Doc Lavoisier.; 153-190 ; 273p.
- Guignard, J-L., Cosson, L. ; Henry, M .1985.** Abrégé en phytochimie. Paris: éditions Masson, , 121-129 ; 224p
- Guinochet & al , 1973-1984** . Flore de France par les éditions du C.N.R.S. (5 vol.) de: Correspondance nomenclaturale.

Référence bibliographique

-Haguet, Julien GRILLOT, Jean-Jacques GALZIN.

-Infections à *Enterobactersakazakii* associées à la consommation d'une préparation en poudre pour nourrissons ,France, octobre à décembre 2004. Rapport d'investigation. Mars 2006. 4 avril 2006

-J.a,1998 . car.La recherché..

-Jacques E. Poisson 2013. Article (professeur à l'université de Paris-Sud, Centre d'études pharmaceutiques de Châtenay-Malabry)

-Javillier, M. ; Polonovski, M. ; Florkin, Boulanger, M.P. ; Lemoigne, M. ; Roche, J. ; Wurmser, R. 1959 ; Traité de biochimie générale, (tome 1, 2 ème fascicule). Paris: éditions Masson, 1312-1357 ; 1475p.

- Jean-François Léger ,noms vernaculaires des taxons de la BDNFF

-Journal of Experimental Medecine, 2013. Staphylococcus aureus golden pigment impairs neutrophil killing and promotes virulence through its antioxidant activity

- Journal officiel de la République Algérienne, 19 décembre 1984. Décret n° 84-365, fixant la composition, la consistance et les limites territoriale des communes. Wilaya de Batna, p.1479.

-Juillet. P. ; Fontaine. M. ; Merlin. Chambraud. E ,2000 . pharmacologie. Paris : éditions Masson,; 93, 94. 96-100 ; 182p.

-Katzung, B.G ,2000. pharmacologie fondamentale et clinique. (7 ème éd). Paris : éditions PICCIN, : 289-294 ; 1150p.

- Kluytmans, J., van Belkum, A., &Verbrugh, H. (1997). Nasal carriage of Staphylococcus aureus : epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks.*ClinicalMicrobiology Reviews*, 10(3), 505-520.

- L'abbé H .flore descriptive et illustrée de la France par. COSTE (tome 2, taxon n°2637)

- Mabkhota M et Younsi W, caractérisation et activité antibactérienne .

Référence bibliographique

- **Melton, Tomas, (15may2001)** .Review of Optometry, clinical Guide to Ophthalmic drugs
- Menthapiperita L et de Rosmarinusofficinalis L** .huiles essentielles de (effet du mélange des huiles ». Thèse ing, institut d'agropastoralisme, Institut de Djelfa, p41.
- **Mme SalimaBenhouhou , 2005** Institue agronomique national, Alger (Algérie) usage
- M. moulin, (1990)**. Pharmacologie, Masson éditeur, Paris, spécial : plantes médicinales en Afrique du nord.

- **Mogode D, 2005**. « Etude phytochimique et pharmacologique de Cassia nigricansvahl (Caesalpiaceae) utilisé dans le traitement des dermatoses au Tchd » .Université de Bamako

- **Murray, P. R., Baron, E. J., Jorgensen, J. H., Landry, M. L., Pfaller, M. A., &Yolken, R. H. (Eds.). (2003)**. *Manual of Clinical Microbiology* (8th ed.). Herdon, VA, United States of America : American Society for Microbiology.

- Olmstead, R. G., J. A. Sweere, R. E. Spangler, L. Bohs, and J. D. Palmer. 1999**. Phylogenyand provisional classification of the Solanaceae based on chloroplast DNA. Pp. 111-137. En: Solanaceae IV: advances in biology and utilization, M. Nee, D. E. Symon, R. N. Lester, and J.P. Jessop (eds.). The Royal Botanic Gardens
- Outils de détermination en ligne. Contribution : membres du réseau Tela Botanica.
- Paul Fournier**, les quatre flores de France de: Correspondance nomenclaturale.
- **Philippe Julve** ,Phytochorologie des départements français:

- Plos Pathogens, 12 avril 2012** . Intraspecies Variation in the Emergence of Hyperinfectious Bacterial Strains in Nature" (Visuel Rocky MountainLaboratories, NIAID, NIH "La Salmonella typhimurium (rouge) envahit les cellules humaines cultivées) ;

- physiologie, *Hyoscyamus albus*, photopériodisme, gibbérélline, croissance, floraison

- Roberts M.F,Wink .M,(1998)** ;alcaloids :biochemistry ecology and medicinal applications.Plenumpress.New York.

- **Rozier, J Bolnot, V ,1985** .Carrier. Bases Microbiologique de l'hygiène des Aliments

Référence bibliographique

.Maison Alfortparis

-Répartition. Contribution : membres du réseau Tela Botanica

-**S. chaker, 2010** *Encyclopédie Berbère*, entrée « Aurès »

-**Singleton P, 2005**. Bactériologie pour la médecine, la biologie et les biotechnologies, 6ème édition, éd.Dunod,.

-**Staniszewska M., Kula J., Wieczorkiewicz M., Kusewicz D ,2005**.. Essential Oils of Wild and Cultivated Carrots - the chemical composition and antimicrobial activity. *Journal of essential oil res.* 17 (5), 579-583,

-**Stewart P., 1969**. Quotient pluviométrique et dégradation biosphérique. Quelques réflexions. *Bull. Int. Nati. Agro. El Harrache* : 24-25.

-**Teixeira da Silva J,2004**. Mining the essential oils of the Anthemideae. *African Journal of Biotechnology*.3 (12) 706-720, .

-**Tenover F.C, 2006**. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *The American journal of medicine*.119 (6A), S3-S10.

-**Trease G, Evans W.C.(1998)** ;text book of pharmacognosy. baillure. Tindall and Cose, London 11ed. p536.

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

-**Turano A ; Evans.W.C ;(1989)** .Inhibitory effects of papaverine on HIV replication in vitro. *AIDS. Res. Hum. retrovir*5 :183-191.

-**Walsh F.M. and Amyes S.G.B,2004**. Microbiology and drug resistance mechanisms of fully resistant pathogens. *Current Opinion in Microbiology*. 7, 439- 444,.

-**Wight M. et Anton R, 1999**. Plantes thérapeutiques: tradition, pratiques officinales, science et thérapeutiques. éd. Tec et Doc,

- **Xper Botanica** ,Noms communs. Contribution : membres du réseau Tela Botanica.

-**Yala D., Merad A.S., Mohamedi D. et Ouar Korich M, 2001**. Résistance bactérienne aux antibiotiques. *Médecine du Maghreb*. n°9.

Référence bibliographique

-Yala D., Merad A.S., Mohamedi D., et OuarKorich M.N, 2001. Classification et Mode d'action des antibiotiques. Médecine du Maghreb. n°91,

-Z.r.Boissier, J.Asselimean, J.P.Zalta , 1993 .les antibiotiques, structures et exemples de mode d'action .Herma .paris

Liens et site internet

1-[Http//quasimodo.versailles.inra.fr/inapg/reactdef/const/index.htm](http://quasimodo.versailles.inra.fr/inapg/reactdef/const/index.htm).

02- <http://www.universalis.fr/auteurs/jacques-e-poisson/>

Annexe



Les racines de la plante *Hyoscyamus albus* L.



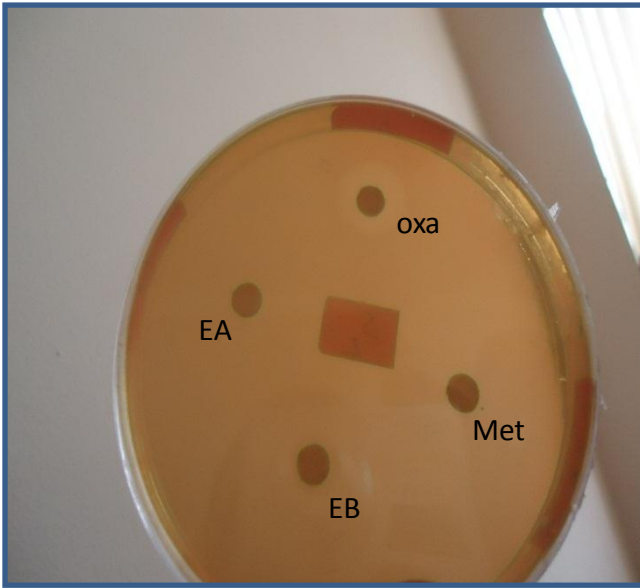
Filtration de la matière végétale après la macération

Annexe

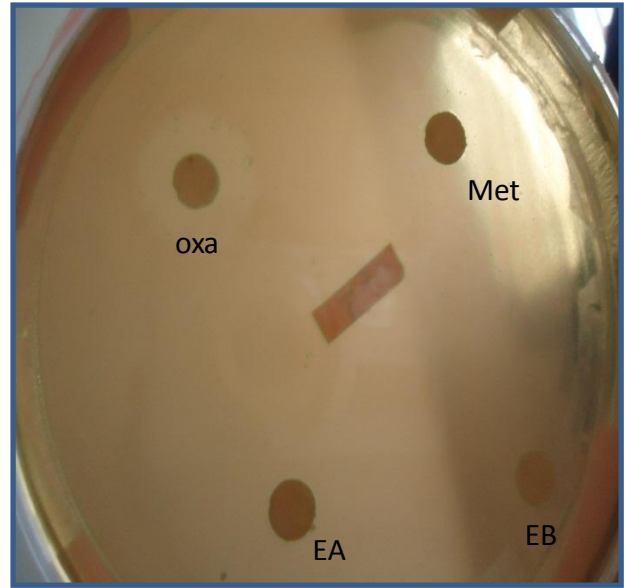


Rota vapeur (laboratoire SNV université Khenchela)

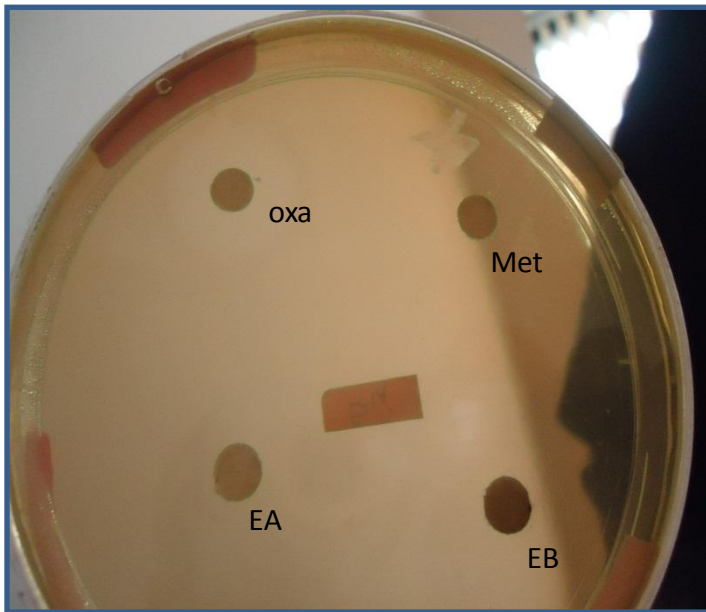




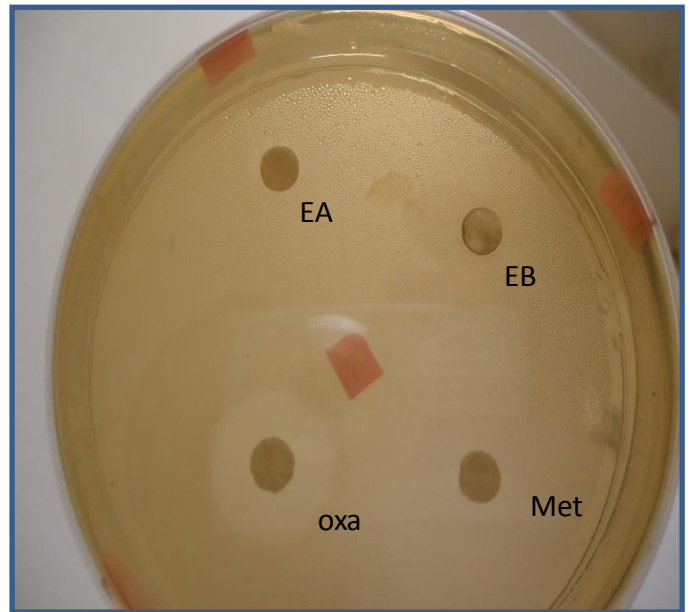
L'effet des extraits sur *Pseudomonas aeruginosa*
(ATCC 27853)



l'effet des extrait sur *staphylococcus aureus* (ATCC 25923)



L'effet des extraits sur *staphylococcus aureus*
(ATCC 43300)



l'effet des extrait sur *E.coli*
(ATCC 25922)

Résumé

Les plantes médicinales sont devenues avec l'évolution de la science les extraits de base pour le traitement de nombreuses pathologies.

Dans ce travail l'extrait alcaloïdique de la partie racinaire de la plante médicinale *Hyoscyamus albus* L. a été testé pour évaluer l'activité antibactérienne.

Le screening phytochimique a révélé que cette plante contient : des flavonoïdes, des saponosides, des tanins, des coumarines, des composés réducteurs, et des alcaloïdes.

L'extraction des alcaloïdes de *Hyoscyamus albus* L. a été effectuée par un solvant en milieu alcalin. Le dosage des alcaloïdes par la méthode classique à partir des racines de la jusquiame blanche a révélé un pourcentage de 0,84%.

L'estimation de l'activité antibactérienne des extraits bruts et alcaloïdique sur 4 souches cliniques : *Pseudomonas Aeruginosa* (G-) *Escherichia coli* (G-) *Staphylococcus aureus* (G+) *Staphylococcus aureus* (G+) a été effectuée par la méthode de diffusion en disque, les résultats obtenus présentent une différence significative entre les différents extraits. L'effet inhibiteur le plus marqué est obtenu par l'extrait alcaloïdique avec la souche *Staphylococcus aureus* par un diamètre 8mm par contre la souche *Pseudomonas Aeruginosa* a présenté une certaine résistance à l'extrait alcaloïdique (7.33mm).

Mots clés : *Hyoscyamus albus* L., racines, alcaloïdes, activité antibactérienne.

ABSTRACT

Medicinal plants became the basic extracts for the remedy of different pathology

In this work the alkaloid extract of the root part of the medical plant *Hyoscyamus albus L.* Tested for evaluate their antibactrienne activity.

The phtochimique screening on this plant contains: flavonoids, sponosids, tanins are reductive composers, alkaloids.

The alkaloids extraction of *Hyoscyamus albus L* effected by a solvent in the middle alkaline.

The alkaloids dosages by the classique method from the whit henbane of 0.84%

The estimation of the antibacterienne activity of the bruts extracts alcaliodic on 4 souches clinics : *Escherichia coli* (G-), *Pseudomonas Aeruginosa* (G-), *Staphylococcus aureus* (G+), *Staphylococcus aureus* (G+) for the diffusion methode disk .

The results obtained present significative defference between the different extracts .

The effect obtained by the alcalodique extract *Staphylococcus aureus* with a diametter (8 mm)

On the contrary the soucha *Pseudomonas Aerwveyonox* present certain resistant vs the alkalodique extract (7.33mm).

Key words: *Hyoscyamus albus L.* Root, alkaloids, antibacterial activity.

المخلص

- في هذا العمل قمنا بتقييم النشاط ضد البكتيري للمستخلص القلويدي للمجموع الجذري لنبات الطبي السكران الأبيض *Hyoscyamus albus L.*
- الفرز الفيتو كيميائي لهذا النبات أثبت أنه يحتوي على الفلافونويدات ، الصابونيات ، الدبغيات ، الكومارينات ، المركبات المرجعة والقلويدات
- استخلاص القلويدات لنبات السكران كان باستعمال مذيب في الوسط القاعدي
- معايرة القلويدات للمجموع الجذري لنبات السكران أعطي نسبة مئوية تقدر بـ 084 %
- تقييم الفعالية ضد البكتيرية للمستخلصين الخام والقلويدي على 4 سلالات :

- *Pseudomonas aeruginosa* (G-)
- *Staphylococcus aureus* (G+)
- *Staphylococcus aureus* (G+)
- *Escherichia coli* (G-)

كان بطريقة الإنتشار عبر الأقراص :

النتائج المتحصل عليها أوضحت وجود فرق معنوي بين مختلف المستخلصات - التأثير المثبط الأكثر وضوحاً:

وجد عن طريق المستخلص القلويدي على السلالة *Staphylococcus aureus*

يقطر بتثبيط : 8 مم

- أما السلالة : *Pseudomonas aeruginosa* أبدت نوع من المقاومة للمستخلص

القلويدي بقطر تثبيط 7.3 مم

الكلمات المفتاحية :

- السكران الأبيض ، القلويدات ، الجذور ، النشاط ، الفعالية ، ضد البكتيرية