



République Algérienne Démocratique Et Populaire

Ministère De L'Enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique

Université Abbes Laghrour- Khanchela

Faculté Des Sciences De La Nature Et De La Vie

Département De Biologie Moléculaire Et Cellulaire

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme : **Master Académique En Sciences Biologiques**

Option : **Biochimie Appliquée**

Thème

Etude phytochimique et activités biologiques de la
plante médicinale

« *Atriplex halimus L.* »

Présenté par :

SEBAA Nour El Houda et ANSER Hana

Soutenu Le : 06/07/2019

Devant les membres de jury :

- **Présidente** : M^{me}. KRIM Meriem (M.C.B) Univ. Abbès Laghrour- Khenchela
- **Promoteur** : Mr. MAAMAR Hichem (M.C.B) Univ. Abbès Laghrour - Khenchela
- **Examinatrice** : M^{me}. DJEMIL Randa (M.C.B) Univ. Abbès Laghrour - Khenchela

2018/2019

Remerciements

Nous tenons à remercier en premier temps Dieu le tout puissant qui nous a donné la Force, la santé et le pouvoir pour établir ce mémoire.

Un profond respect et remerciement à notre encadreur Dr. MAAMAR Hichem, maitre de conférences à l'université Abbes Laghrour-Khenchela, pour sa grande disponibilité, ses judicieux

Conseils, son écoute et son suivi tout au long de ce travail.

Ainsi que pour sa patience et sa compréhension des situations diverses et variées tout au long de l'élaboration de ce travail.

Nous remercions précisément notre très chers parents qui ont le droit de recevoir notre chaleureux remerciements pour le courage et le sacrifice qu'ils ont consentis pendant la durée de notre études en leurs souhaitant une longue vie pleine de joie et de santé.

Nous voudrions remercier aussi M^{me}. KRIM Meriem Maître de conférences à l'Université Abbes Laghrour de Khenchela, pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury de soutenance.

Nous adressons également nos sincères remerciements à M^{me}. DJEMIL Randa, Maître de conférences à l'Université Abbes Laghrour de Khenchela, d'avoir accepté de Faire partie de ce jury et d'examiner ce travail.

Nous adressons notre profond remerciement aussi à l'équipe du laboratoire pédagogique de biochimie de l'institut de biologie à l'université de Khenchela.

♥ Merci ♥

À ceux et à celles qui nous ont aidées d'une façon ou d'une autre, de près ou de loindans notre travail, nous les remercions du fond du cœur.



Dédicace

Merci Allah (mon Dieu) de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve et le bonheur de lever mes mains vers le ciel et de dire "Ya Kayoum".

Je dédie ce modeste travail :

A mes très chers parents :

Aucun terme et aucune langue ne pourra exprimer mon amour et mes sentiments envers vous. Dieu seul capable de vous récompenser pour tout ce que vous faites pour moi.

À mon frère et mes sœurs

À toute ma famille.

A mon binôme : Hana

Pour tous les bons moments que nous avons passés ensemble

A tous mes amis

A toute la promotion master II BIOCHIMIE 2018/2019

♥ NOUR ♥



Dédicace

Avec L'aide De DIEU, J'ai Pu Réaliser Ce Modeste Travail Que

Je dédie:

A ma très chère mère

Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.

A mon cœur et ma vie mon Père

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous.

À mon frère et mes sœurs

À toute ma famille.

A mon chère amie et ma collègue de travail: Nour

A Toutes mes amies

A tous mes enseignants depuis mes premières années d'étude et spécialement pour mon Encadreur Mr MAAMAR Hichem

A tous mes collègues de la promotion Master 2 Biochimie avec qui j'ai partagé les joies et les difficultés durant ces années.

A Toutes les personnes qui ont contribué, du près ou de loin à la réalisation de ce travail;

Je leurs dis «Merci»

♥ Hana ♥

Liste des abréviations

CMI	Concentration minimale inhibitrice
Da	Dalton
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DPPH	2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl
ERO	Espèces réactives oxygénées
GP_x	Glutathion peroxydases
GR	Glutathion réductase
GSHP_x	La glutathion peroxydase et réductase
GSH	Glutathion réduit
GSSG	Glutathion-disulfure
G6PD	Glucose-6-phosphate-déshydrogénase
mmhos/cm	Millimhos par centimètre (Unité de mesure de base de la conductivité électrique dans le sol et inverse de la transmissivité électrique à travers une solution. Se référer à la discussion dans la conductance spécifique).
OH	Radical libre hydroxyle
Rd	Rendement
RNS	Radicaux libres azotés
ROO	Radical libre peroxy
ROS	Réactive oxygène species
SOD	Les superoxy des dismutases
TRx	Thiorédoxines
TRxR	Thiorédoxine réductase

Liste des tableaux

Tableau 01. Répartition numérique des espèces d' <i>Atriplex</i> dans le monde.	10
Tableau 02. Teneur en matière sèche et composition chimique des familles vertes d' <i>Atriplex halimus L.</i>	14
Tableau 03 : Les souches utilisées dans la présente expérimentation.	60
Tableau 04 : Le rendement d'extrait méthanolique d' <i>Atriplex halimus L.</i>	66
Tableau 05 : Résultats des tests phytochimiques de l'extrait méthanolique de l' <i>Atriplex halimus L.</i>	67
Tableau 06 : Résultats d'analyse par CCM.	72
Tableau 07 : Répartition numérique des espèces d' <i>Atriplex</i> dans le monde.	74

Liste des figures

Figure 01 : Représentation <i>d'Atriplex halimus L.</i>	08
Figure 02 : Squelette de base des coumarines.	20
Figure 03 : Structure d'un stilbène.	21
Figure 04: Structure chimique de lignine.	22
Figure 05 : Structure de base des flavonoïdes.	23
Figure 06 : Les structures chimiques des principales familles des flavonoïdes.	24
Figure 07: structure de base de l'isoprène.	30
Figure 08 : des structures alcaloïdiques.	32
Figure 09 : La rupture d'équilibre a l'origine du stress oxydant.	38
Figure 10: Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie.	41
Figure 11 : Cibles biologiques et endommagement oxydatifs induits par les EOR.	42
Figure 12 : Principales étapes de la défense enzymatique contre les espèces réactives de l'oxygène.	44
Figure 13 : Mode opératoire de dosage des polyphénols.	56
Figure 14 : Mode opératoire de dosage des flavonoïdes.	57
Figure 15 : Teneurs en polyphénols pour les différentes concentrations.	69
Figure 16 : Teneurs en Flavonoïdes pour les différentes concentrations.	71
Figure 17 : Les résultats de plaque CCM.	73
Figure 18 : Les zones d'inhibitions de l'extrait méthanolique d' <i>Atriplex halimus L.</i>	75
Figure 19 : Pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait.	76

Liste des photographies

Photo 01 : Photo de filtration de l'extrait brut	51
Photo 02 : Photo d'un évaporateur rotatif utilisé pour sécher l'extrait méthanolique	51
Photo 03 : Préparation des milieux de culture	59
Photo 04 : Différentes étapes de l'activité antibactérienne	62
Photo 05 : La couleur de l'extrait méthanolique sec	66



Résumés



Résumé

Atriplex halimus L. est une plante médicinale appartenant à la famille des chénopodiacées, cette espèce connue sous le nom de « **G'taff** ». Ce travail porte sur l'étude phytochimique de l'espèce *Atriplex halimus L.* ainsi que l'évaluation de l'activité antibactérienne et l'activité antioxydante.

L'extraction méthanolique des parties aériennes de cette plante par macération permet à l'obtention d'un rendement égal à 6%.

Les tests phytochimiques basant sur l'utilisation des techniques physicochimiques et spectroscopiques, montrent la présence des tanins, des flavonoïdes, des coumarines, des quinones libres, des terpénoïdes, des saponines et des composés réducteurs.

Les résultats du dosage des polyphénols et des flavonoïdes montrent que l'extrait méthanolique a une teneur en phénols totaux égale à 16,86 µg EAG/mg, 3,61 µg EAG/mg et 1 µg EAG/mg et une teneur en Flavonoïdes égale à 29,8 µg EQ/mg, 22,9 µg EQ/mg, et 8,81 µg EQ/mg pour les dilutions 100%, 70% et 20 % respectivement.

Une investigation de l'activité antibactérienne, par la méthode de diffusion par disques, contre trois souches bactériennes, montre que l'extrait méthanolique n'a, cependant, produit aucun effet antibactérien face toute les souches testées.

L'évaluation quantitative du pouvoir piègeur des extraits vis-à-vis le DPPH confirme que notre extrait est plus actif, avec un IC₅₀ de l'ordre de 0,40 mg/ml.

On peut dire que la partie aérienne de *Atriplex halimus L.* est caractérisée par une activité antioxydante, vu de leur richesse en composés phénolique

Mots clés : *Atriplex halimus L.* flavonoïdes, polyphénols totaux, activité antibactérienne, activité antioxydante, DPPH.

Abstract

Atriplex halimus L. is a medicinal plant belonging to the goose foot family, species known as quot , “ G'taff “. This work focuses on the phytochemical study of the species *Atriplex halimus L.* as well as the evaluation of antibacterial activity and antioxidant activity. The methanolic extraction of the aerial parts of this plant by maceration allows to obtain a yield equal to 6%.

Phytochemical tests based on physicochemical and spectroscopic techniques, indicate the presence of: tannins, flavonoids, coumarins, free quinones, terpenoids, saponins, and reducing compounds.

The results of the polyphenol and flavonoid assays show that the methanolic extract has a total phenol content equal to 16,86 µg EAG/mg, 3,61 µg EAG/mg and 1 µg EAG/mg, while the flavonoid contents are 29,8 µg EQ/mg, 22,9 µg EQ/mg, and 8,81 µg EQ/mg for 100%, 70% and 20% dilutions respectively.

The investigation of the antibacterial activity, by disc diffusion method, against three bacterial strains, showed that the methanolic extract has, however, no effect on all the strains tested.

The quantitative evaluation of the scavenging capacity of the extracts with respect to DPPH confirms that the extract is active with IC_{50} in the order of 0,40 mg/ml.

We can say that the aerial part of *Atriplex halimus L.* is characterized by an antioxidant activity, given from the richness in phenolic compounds.

Key-words: *Atriplex halimus L.* flavonoids, total polyphenols, antibacterial activity, antioxidant activity, DPPH.

المخلص

Atriplex halimus L. هو نبات طبي ينتمي إلى عائلة Chenopodiaceae ، وهذه الأنواع

يركز هذا العمل على الدراسة الكيميائية النباتية للأنواع *Atriplex halimus* L. تقييم النشاط المضاد للبكتيريا ونشاط مضادات الأكسدة.

الاستخراج الميثانولي للأجزاء الهوائية من هذا النبات بواسطة النقع يجعل من الممكن الحصول على عائد يساوي 6 .

تعتمد الاختبارات الكيميائية النباتية على استخدام التقنيات الفيزيائية والكيميائية الطيفية ، لتسليط : التانينات، الفلافونويد ، الكوماريد ، الكينونات الحرة ، الالتيروبيد ، والسابونوسيدات ،

تظهر نتائج فحص البوليفينول والفلافونويد أن محتوى الفينول الكلي الميثانولي يساوي 16.86 ، 3.61 و 1 ميكروغرام / حين أن محتوى الفلافونويد 29.8 ؛ 22.9 و 8.81 ميكروغرام / وذلك في المحاليل 100% 70% 20% .

يظهر التحقيق في النشاط المضاد للبكتيريا ، بواسطة طريقة نشر القرص ، ضد ثلاث سلالات بكتيرية، أن المستخلص الميثانولي لم يكن له أي تأثير تجاه جميع السلالات التي تم اختبارها. يؤكد التقييم الكمي لقدرة الاستخلاص في المستخلصات بالنسبة لـ DPPH

حيث يكون IC_{50} 0.40 / . يمكن القول أن الجزء الهوائي *Atriplex halimus* L. يتميز إلى ثرائها المركبات الفينولية.

الكلمات المفتاحية : *Atriplex halimus* L. ، الفلافونويد ، البوليفينول الكلي ، نشاط مضاد

.DPPH

للجراثيم

Table de matières

Remerciements	
Dédicaces	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des photographies	
Résumé	
Abstract	
المقدمة	
Introduction	01
Première partie : Etudes bibliographiques	
Chapitre I: La plante médicinale <i>Atriplex halimus L.</i>	
I. Généralités	05
I.1. Les halophytes	05
I.1.1. Les chénopodiacées	06
I.1.1.1. Les <i>Atriplex</i>	06
I.1.1.1.a) L' <i>Atriplex halimus</i>	07
II. Présentation de l'espèce <i>Atriplex halimus L.</i>	09
1. Systématique de <i>Atriplex halimus L.</i>	09
1.1. Dans le monde	09
1.2. Dans l'Algérie	10
2. La morphologie	10
3. Le polymorphisme de <i>Atriplex halimus L.</i>	12
4. Les intérêts généraux de l'espèce	13
4.1. Les intérêts écologiques	13
4.2. Les intérêts fourragers	13
4.3. Les intérêts médicaux et pharmaceutiques	14
III. La sélection de la plante	15
Chapitre II : Métabolites secondaires	
I.1. Métabolites secondaire	17
II. Les composés phénoliques	18
Chapitre III : Les activités biologiques	
I. Activité antibactérienne	35

I.1. Généralités	35
I.2.Culture des bactéries	35
I.3. Les antibiotiques	36
II. Activité antioxydante	36
II.1. Stress oxydatif et les antioxydants	36
II.1.1. Généralité	36
II.1.2. Les radicaux libres	38
II.1.3. les principales formes des radicaux libres	39
II.1.3.1. Radicaux libres oxygénés (ROS)	39
II.1.3.2. Radicaux libres azotés (RNS)	40
II.1.3.3. Radicaux libres soufrés	41
II.1.4. Les sources des ERO	42
II.1.5. Les conséquences biologiques du stress oxydatif	42
II.2. Les antioxydants	42
II.2.1. Définition	43
II.2.2. Les types d'antioxydants	43
1. Antioxydants enzymatiques	43
2. Antioxydants non enzymatiques	45
3. Les antioxydants exogènes	45

Deuxième partie. Partie expérimental

Chapitre I : Matériels et Méthodes

I. Matériel	50
I.1. Matériel végétal	50
a. Récolte de la matière végétale	50
b. Séchage	50
I.2. Matériel de laboratoire	51
I.3. Réactifs	51
II. Méthodes	51
II. 1. Préparation de l'extrait méthanolique	51
II.2.Etudes phytochimique	53
II.2.1. Tests préliminaires de la composition chimique	53
II.2.2. Analyses quantitative de l'extrait	55
II.2.2.1. Dosages des polyphénols totaux	55
II.2.2.2. Dosage des flavonoïdes	56

II.2.2.3. Criblage phytochimiques par chromatographie sur couche mince (CCM)	57
II.3. Activités biologiques	59
II.3.1. Activité antibactérienne	59
II.3.2. Activité antioxydante	62
II.3.2.1. Test scavenger du radical libre DPPH	63
Chapitre II. Résultats et Discussion	
1. Détermination du rendement d'extraction	66
2. Tests phytochimiques	67
3. Dosage des polyphénols totaux	69
4. Dosage des flavonoïdes	70
5. Criblage phytochimiques par chromatographie sur couche mince (CCM)	71
6. Activités biologique	73
a. Activité Antibactérienne	73
b. Détermination de l'activité anti-radicalaire par la méthode de DPPH, (effet scavenger)	75
➤ Calcul d'IC50	76
➤ Calcul de la PAR	76
Conclusion	79
Référence	81

Introduction

Dès son existence, l'homme a utilisé les plantes à d'autres fins que de la nourriture. Que la plante soit comestible ou toxique, qu'elle serve à tuer le gibier et l'ennemi ou à soigner, l'homme a découvert par une suite d'échecs et de réussites, l'utilisation des plantes pour son mieux-être (**Girre, 1997**). Pendant longtemps, les plantes médicinales ont été une source inépuisable et bénéfique de médicaments pour guérir un grand nombre de pathologies, souvent mortelles, sans savoir à quoi étaient dues leurs actions, Elles sont d'abord d'un coût inférieur aux médicaments de synthèse, puis elles arrivent à un moment où le public est désillusionné devant la médecine moderne. Laquelle en effet n'a pu trouver remède à tous les maux, en plus de se buter à une résistance accrue des pathogènes et à une panoplie d'effets secondaires liés à l'usage des médicaments traditionnels. Donc, la valeur médicinale des plantes est de plus en plus démontrée scientifiquement, ce qui constitue un argument de taille pour leur utilisation en médecine. Ainsi, l'industrie des plantes médicinales est devenue, en peu de temps, le secteur de l'industrie pharmaceutique connaissant la plus forte croissance annuelle avec 15 à 20 % (**Cheriti, 2006**).

Comme les plantes médicinales sont des produits du monde biologique, leurs propriétés et leurs caractéristiques peuvent être étudiées à l'aide des compétences et des connaissances accumulées dans les sciences naturelles, en particulier la botanique, la chimie et la biochimie (**Andrew, 2004**). En fait, leurs propriétés thérapeutiques sont dues à la présence de centaines, voire des milliers de composés naturels bioactifs appelés: les métabolites secondaires. Ces derniers sont par la suite accumulés dans différents organes et parfois dans des cellules spécialisées de la plante (**Tabuti et al., 2003**).

Parmi les plantes médicinales bénéficiant de bonnes renommées thérapeutiques qui devront être mises à l'épreuve d'investigations sérieuses de décryptages phytochimiques et biologiques, ***Atriplex halimusL.*** qu'est l'espèce la plus répandue, de sa zone de diffusion s'entend des zones arides aux zones humides.

Les Atriplex, sont des plantes halophytes dotées d'une série de caractères écologiques et physiologiques permettant la croissance et la reproduction dans un environnement salin (Haddioui *et al.*, 2006), appartiennent à la famille des Chénopodiacées(Amarantacées), elle-même, fait partie de la classe des dicotylédones. Elle se caractérise par sa grande diversité (Kinet *et al.*, 1998). Selon l'index plant arum de Kew, le genre Atriplex renferme 417 espèces dans le monde (Houérou, 1992).

Dans ce contexte s'inscrit le présent travail de recherche, dont le but principal est de faire une investigation phytochimique, et étude des activités biologiques (antioxydante et antibactérienne) sur l'extrait méthanolique de *Atriplex halimusL.*

C'est pourquoi nous nous sommes intéressé à entreprendre ce travail qui est subdivisé en deux parties essentielles; initié par une synthèse bibliographique où nous apportons dans le premier chapitre expose la plante médicinale choisie «*Atriplex halimus L.*». Le deuxième chapitre montre les métabolites secondaires et leur intérêt et le dernier chapitre montre leurs activités biologiques (l'activité antioxydante et antibactérienne). La partie pratique est subdivisée en deux chapitres, le premier comporte les méthodes et les techniques utilisées pour la réalisation de ce travail, à savoir :

- La préparation de l'extrait méthanolique de la plante *Atriplex halimus L.*
 - La détermination des teneurs en composés phénoliques (Polyphénols totaux, Flavonoïdes).
L'évaluation de pouvoir antioxydant, et de pouvoir antibactérien de l'extrait de la plante.
- Dans le deuxième chapitre, nous avons rapporté les résultats obtenus entre les rendements, les teneurs des composés phénoliques et l'étude des activités biologiques.



Première partie:

Etude

Bibliographique





Chapitre I.

La plante médicinale

Atriplex halimus L.



I. Généralités

I.1. Les halophytes

L'Algérie est l'une des pays le plus marqué par la sécheresse due à de faible et irrégulière précipitation et par une pédogénèse halomorphe, cette halomorphie est toute indicatrice des sols de zones arides et semi arides (**Halitim, 1985**).

Les halophytes ont développé de nombreuses adaptation anatomique et physiologique, l'effet de la salinité est l'un des facteurs qui a été le plus étudié en raison de son importance, non seulement dans les milieux influencés par les marées mais également dans les régions arides et les terres cultivables (**Boubakri, 2007**).

Les halophytes constituent un facteur de protection de l'environnement, contre l'érosion, et permettent la conservation des eaux, la réhabilitations et la réadaptation des terres dégradés (**Franclet et le Houérou, 1971**), sa structure est adopté dans le sens d'une économie d'eau permettant à ces plantes de vivre dans des conditions d'alimentation hydrique difficile.

Les halophytes couvrent les sols salins, y compris les régions côtières, les marais et les sebkhas (bassin occupant le fond d'une dépression à forte salinité). La contrainte saline induit des changements au niveau du statut hydrique de la plante, réduit le contenu relatif en eau des feuilles, diminue la transpiration et l'absorption hydrique par les racines, d'où une convergence des mécanismes d'adaptation avec ceux des xérophytes. On retrouve donc des réponses au stress salin par la réduction des surfaces foliaires permettant la diminution des pertes d'eau, mais aussi des mécanismes de stockage de l'eau grâce à la succulence caulinaire et foliaire (parenchyme aquifère). Il existe aussi d'autres types de mécanisme, notamment par des glandes excrétrices de sel au niveau des feuilles (*Tamaris*, Tamaricacées) ou encore par un développement important du parenchyme palissadique (*Atriplex*, Chénopodiacées ; *Criste-marine*, Apiacées) (**Vartanian et al., 1984**).

I.1.1. Les chénopodiacées

Les chénopodiacées sont des plantes annuelles ou vivaces, rarement buissonnante, et souvent halophyte, caractérisées par un cycle végétatif lent avec une période de croissance qui s'étend de Mars à Juin (Yaakoub, 2006).

Du point de vue morphologique, les chénopodiacées sont caractérisées par des racines profondes et pénétrantes, destinées à absorber la plus grande quantité d'eau possible et des feuilles alternées, petites et farineuses ou recouvertes de poils, lobées, parfois épineuses, formées de manière à réduire les pertes en eau dues à la transpiration (Zagharia et Abbou arbia, 2018).

A cette famille appartiennent environ cent genres qui peuvent être divisés, suivant la forme de l'embryon, en deux tribus :

- *Spirolobae*, qui présente un embryon enroulé en spirale et l'endosperme est divisé en deux parties par l'embryon;
- *Cyclobae*, qui présente un embryon en forme de fer à cheval ou en demi-cercle comprenant l'endosperme en entier ou en partie.

A cette dernière tribu appartient le genre *Atriplex*, qui compte plus de quatre cent espèces réparties dans les différentes régions arides et semi-arides du monde (Rozema, 1996).

I.1.1.1. Les *Atriplex*

D'après Berger (1909) : *Atriplex* signifie : n'a pas trois angles, il est composé de préfix « a » grec et de « Triplex » en latin. Le genre d'*Atriplex* est le plus grand, et le plus diversifié de la famille des chénopodiacées et compte environ plus de 400 espèces, avec 40 à 50 espèces dans le bassin méditerranéen (Ortiz-Dorda *et al.*, 2005).

Les espèces *Atriplex* sont réparties dans de nombreuses régions côtières et désertiques intérieures du monde (Watson, 1990), et inclus 48 espèces et sous espèces dans le bassin méditerranéen dont cinq espèces parmi elles peuvent être fourragères (Houérou, 1992). Elles constituent l'exemple des êtres vivants résistant à une salinité très élevée, capables de rééquilibrer des milieux dégradés (Franclet et Houérou, 1971).

Elles se présentent également caractéristique des régions arides où le phénomène de désertification prend des dimensions alarmantes (Houérou, 1992). Ces espèces fourragères, supportent bien les conditions climatiques et pédologiques des régions arides et semi-arides, mais leur aire de répartition se réduit de plus en plus, par suite de surpâturage et de manque de stratégie de gestion de ces parcours.

Les Atriplexaies présente une des flores les plus remarquables du monde. Sa grande diversité climatique, géologique et géographique a permis l'apparition de nombreuses espèces endémiques. Elle constitue une zone à une haute biodiversité végétale. (Benchaàbane, 1997).

En Afrique de Nord, le genre *Atriplex* comprend 15 espèces spontanées et 12 espèces naturalisées, soit 7 espèces vivaces, 1 biannuelle et 9 annuelles (Francet et Houérou, 1971).

Par ailleurs, Maire, (1962), identifié une dizaine d'espèces en Algérie, les plus réponsus sont : *Atriplex Halimus L. et Atriplex Portucoide*.

I .1.1.1.a) L'*Atriplex Halimus*

Connu sous le nom de pourpier de mer, *'Atriplex halimus L.* est l'un des arbustes les plus courants sur le littoral atlantique et la côte méditerranéenne. Résistant aux embruns et à la sécheresse, il forme des haies protectrices dans les jardins de bord de mer, sa réponse aux conditions de salinité et de déficit hydrique en font une espèce particulièrement précieuse pour son utilisation dans la réhabilitation des terrains dégradés à risque de désertification (Rosas, 1989).

L'Atriplex halimus L. originaire d'Afrique de Nord, est l'espèce la plus répandue, de sa zone de diffusion s'entend des zones arides aux zones humides, facilement identifiable grâce à son habitus droit caractéristique aux branche fructifier très courtes 20 cm et recouverte de feuilles (Walker et al., 2014).

La plante adulte atteindre 2 m de hauteur, 1 à 3 m de diamètre, très rameux ayant un aspect blanc argenté à tige dressée, à racine blanchâtre s'orientant horizontalement, pivotante en surface, pouvant atteindre 3 à 5 fois la largeur de la tige , les feuilles sont alterne , mais

nettement pétiolées, le limbe foliaire est entièrement ou légèrement sécuré, par fois aigu ou sub-nécroné au sommet mesurant 0,5 à 1 cm de largeur et de 2 à 4 cm de longueur (Benrebiha, 1987). Cette espèce présente une palatabilité et une appétibilité très satisfaisantes (Abbd et al., 2004). Riche en protéines brutes, elle constitue une source importante pour le cheptel en matière azotée, essentiellement en période de disette (El-shatnawi, 2000).

L'espèce *Atriplex halimus* L. présente deux sous-espèces, *subsp. Halimus* et *subsp.*

schweinfurthii. La zone de répartition de la *subsp. halimus* s'étend des zones semi-arides aux zones humides; cette sous-espèce est facilement identifiable grâce à son port droit caractéristique et aux branches fructifères très courtes et recouvertes de feuilles.

En revanche, la sous-espèce *schweinfurthii*, très répandue dans les zones arides et désertiques, présente un port broussaillieux enchevêtré, avec des branches fructifères nues au sommet, fortement lignifiées et pointues. Les populations des deux sous-espèces présentent un grand polymorphisme lié à leur diversité d'habitat (Houérou, 1992).

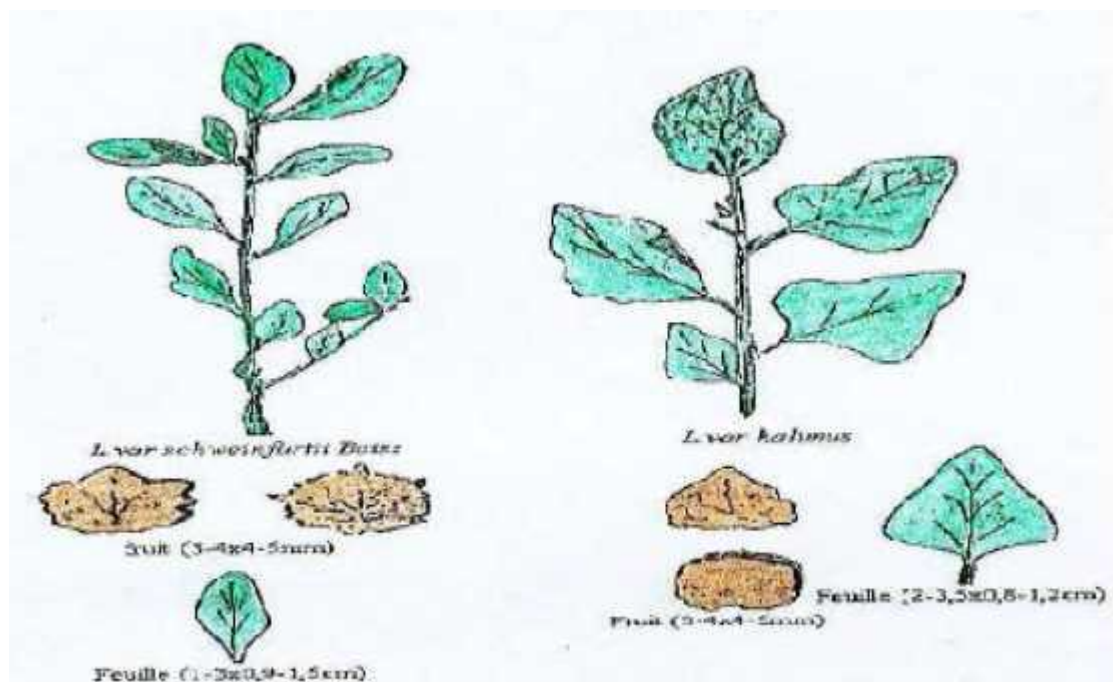


Figure 01: Représentation schématique de deux sous-espèces *d'Atriplex halimus* L. (Maalem, 2002).

II. Présentation de *Atriplex halimus* L.

1. Systématique de l'espèce *Atriplex halimus* L.

On peut représenter la systématique *d'Atriplex halimus* L. comme suit :

Règne : Végétal

Embranchement : Spermaphytes (Phanérogames)

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous-classe : Apétales

Ordre : Centrospermales

Famille : Amaranthaceae (Chénopodiacées)

Genre : *Atriplex*

Espèce : *Atriplex halimus* L.

Nom vernaculaire français : arroche halime ou pourpier de mer.

Nom arabe : G'ttaf

Nom commun : arroche halime, arroche maritime, pourpier de mer, Epinard de mer.

L'*Atriplex* est un genre difficile avec 200 espèces, se répartissent principalement dans les régions chaudes ,et des déserts froids, des terres salines ou par fois dans les décharges .

1.1. Dans le monde

Atriplex halimus spp. *halimus* se trouve dans les zones semi-arides, et les zones subhumides de la méditerranée occidentale et sur les côtes atlantiques de la France et de l'Espagne (Walker, 2005), Elle produit naturellement dans toute l'Eurasie, de Macaronésie, à travers le bassin méditerranéen et jus qu'à l'embouchure de la Moyen-Orient et Asie occidentale .y compris le Portugal, France, Espagne, Italie, Grèce, Turquie, Chypre, Syrie, Liban, Jordanie, Tunisie, Maroc, Algérie, Libye, Égypte et Arabie Saudi (Al- Turki, 2000).

Tableau 01 : Répartition numérique des espèces d'*Atriplex* dans le monde (Le Houérou, 1992).

Pays ou région	Nombre d'espèces	Pays ou région	Nombre d'espèces
Etats-Unis	110	Baja Californie(Mexique)	25
Australie	78	Afrique de nord	22
Bassin Méditerranéen	50	Texas	20
Europe	40	Afrique de sud	20
Ex. URSS	36	Iran	20
Proche- Orient	36	Syrie	18
Mexique	35	Palestine et Jordanie	17
Argentine	35	Algérie et Tunisie	17
Californie	32	Bolivie et Pérou	16
Chili	30		

1.2. Dans l'Algérie

En Algérie, *Atriplex* pousse spontanément dans les étages bioclimatique semi –arides et arides les plus grandes superficies, correspondent aux zone dite steppique : Batna, Biskra, Boussaâda, Djelfa, Saida, M'sila, Tébessa, Tiaret (Anonyme, 1974).

Dans les régions de M'sila et Batna, la disparition des puissantes formations *Atriplex* sont due à leur utilisation comme bois de chauffage (Kinet *et al.*, 1998).

2. La morphologie

La morphologie végétale est la partie de la botanique qui consiste à décrire les formes externes et les structures interne des plantes.

a. partie aérienne

➤ Les Tiges

Tige érigé dressée ligneuse et très rameuse .les rameux dressés, puis étalés, arrondis ou anguleux, blanchâtre, sont souvent plus ou moins effilés (Maire, 1962).

➤ Les Feuilles

Les feuilles sont très légèrement coriaces, alternes, entière, ovales, à pétiole court, un peu cendrées et en même temps blanches argentées sur les deux faces, peu aigues au sommet qui est terminé par une petite pointe .Le limbe est parcouru par une nervure principale d'où partent deux ou trois paires de nervures secondaires (Maire, 1962).

➤ Les Fleurs

Fleurs monoïque, glomérules, glomérule ordinairement multiflores, forment des épis denses et courts nues, groupées en panicules au moins feuillées. Les jaunâtres se montrent en Août et Septembre (Maire, 1962).

➤ Les graines

La graine est d'une teinte roussâtre. Elle est entourée du péricarpe membraneux de 2 mm de diamètre, aplatie en une disposée suivant les genres dans un plan vertical ou horizontal (Quezel et Santa, 1962). L'orientation de la disposition de la graine est importante à examiner pour séparer les genres. Les graines *d'Atriplex halimus L.* présentent une grande habilité à germer sous les conditions fortement salines, la germination semble être un stade de forte sensibilité au stress salin (Zid *et al.*, 1977).

Les valves fructifères sont blanchâtres, coriaces, libres, plus larges que hautes. Les graines sont rousses.

b. partie souterraine

➤ La racine

L'*Atriplex halimus L.* se caractérise par une grosse racine tout d'abord étalée oblique puis s'enfonçant verticalement jusqu'à une profondeur variable avec le sol et l'âge de la plante. Elle peut atteindre 3 à 5 fois la longueur de la tige. Elle est formée de radicelles blanchâtres (Maire, 1962).La croissance racinaire est souvent un indicateur de la capacité de la plante à s'adapter à la sécheresse (Johnson *et al.*, 1991).

3. Le polymorphisme d'*Atriplex halimus L.*

L'Atriplex halimus L. est une espèce largement répandue, très polymorphe, pérenne, monoïque ou polygame. Un polymorphisme inter- et intra-individuel pour plusieurs caractères morphologiques floraux concernant le style, les types d'ovules et l'orientation de la radicule.

A propos de la notion de développement hétéroblastique mise en valeur par (Goebel, 1898), hétéroblastique qualifier le développement d'un végétal dont les différentes feuilles montrent entre elles des différences de forme et de taille, sur un axe donné, de la première feuille mise en place à la dernière, des feuilles de type juvénile aux feuilles de type adulte.

Cette régularité particulière au plan morphologique du développement hétéroblastique se retrouve également au plan biochimique, tant quantitativement que qualitativement.

Les Atriplexes sont, tout particulièrement *L'Atriplex halimus L.* illustrent bien les problèmes que l'hétérophyllie. En effet, avant même de considérer différents individus, la lecture des flores laisse supposer que la morphologie foliaire est source de difficultés dans le genre.

L'Atriplex halimus L. présente un polymorphisme important qui se manifeste au niveau de la dimension et la forme des feuilles, des valves fructifères et des graines, ce polymorphisme est probablement en relation avec sa grande aptitude écologique (Aitmimoune, 2015).

L'étude de la caryologie a été réalisée par plusieurs chercheurs à l'aide d'utilisation de techniques classique de Feulgen (1924), les résultats montrent que le nombre de Chromosomes (l'haploïdie) chez les A triplex est 9, il existe des espèces diploïdes ($2n=18$) tandis que d'autres sont tétraploïdes ou hexaploïdes.

C'est pourquoi, une grande priorité a été accordée pour lutter contre phénomènes (sécheresse et salinité) dans le cadre des différents plans de développement en vue de sauvegarder les ressources naturelles, seules garantes de sa sécurité alimentaire.

4. Les intérêts généraux de l'espèce

4.1. Les intérêts écologiques

➤ Concernant la salinité les *Atriplex* présentent une bonne tolérance aux conditions défavorables du milieu (Glenn *et al.*, 1995) : en milieu synthétique liquide l'*Atriplex halimus L.* supporte des concentrations de Chlorure de Sodium (NaCl) voisine de celle de l'eau de mer (30g/l) (Zid et Boukhris, 1977).

➤ L'*Atriplex halimus L.* s'adapte beaucoup au climat méditerranéen. C'est une espèce robuste, tolérante à une variété des conditions environnementales dures, où les précipitations annuelles inférieures à 150 mm (Le Houérou, 1980), et des températures moyennes de 20 à 25°C du sable, elle se raidit contre la sécheresse, car elle peut survivre des années dans un milieu, dont la précipitation atteignant, le zéro ce qui explique sa propriété manifestée par sa bonne résistance au feu.

➤ L'*Atriplex halimus L.* résiste au froid au-delà de -10 °C, l'espèce est considérée comme halophyte et croit dans toutes les zones gypseuses salées (jusqu'à une conductivité de l'ordre de 55 mmhos/cm). Cette espèce résiste aussi aux gelées prolongées jusqu'à des moyennes des minima de janvier voisines de zéro °C (Franclet, 1971).

➤ L'emploi des *Atriplex* s'est révélé extrêmement efficace pour la fixation des dunes. En Algérie des essais réalisés sur le cordon dunaire de la région de Djalfa et Boussaâda (Benrebiha, 1987).

4.2. Les intérêts fourragers

➤ L'*Atriplex halimus L.* est un arbuste autochtone présent un grand intérêt comme plante fourragère dans les régions arides et semi-arides en raison de sa rusticité, sa bonne valeur fourragère, sa résistance élevée à la sécheresse et sa faculté de tolérer des taux de salinité importants.

➤ Les feuilles d'*Atriplex halimus L.* sont riches en protéines, vitamines C, A et D et en chrome, constituent une source importante en matière azotée pour le cheptel.

essentiellement en période de disette (El-Shatnawi et turuk, 2002). Sa culture pourrait être envisagée comme source de fourrage dans les zones de grande fragilité écologique.

Tableau 02. Teneur en matière sèche et composition chimique des feuilles vertes d'*Atriplex halimus L.* (Boussaid *etal*, 2001)

MS(%)	MAT (%MS)	CB (%MS)	Na (%MS)	Ca (%MS)	K (%MS)	P (%MS)	Mg (%MS)
34,2	15,1	15,4	4,41	1,77	2,59	0,21	0,32
*MS: matière sèche; *MAT: matière azoté totale; *CB: Cellulose brute							

➤ Le bois produit par l'*Atriplex halimus L.* a été utilisé pendant des siècles pour le chauffage et la cuisine, une pratique qui se poursuit aujourd'hui dans les zones rurales (Bouزيد et Benabdeli, 2011).

4.3. Les intérêts médicaux et Pharmaceutique

L'*Atriplex halimus L.* produit des polyphénols et d'autres substances bioactives potentiellement utiles pour les propriétés médicinales et tant que conservation naturelle des aliments. Il contient des tanins, flavonoïdes, saponines, alcaloïdes et résines. Ces molécules étaient connues pour montrer une activité médicale aussi bien que ayant une activité physiologique.

➤ Les scientifiques ont exploré la possibilité que l'*Atriplex halimus L.* à un effet antidiabétique. Les résultats des études sur l'animal ont confirmé que l'effet de l'*Atriplex halimus L.* est dû au chrome (Anonyme, 2000).

➤ Le supplément du chrome peut améliorer la tolérance du glucose chez les individus diabétiques traitement des malades, avec 200 mg/jour ils ont exigé des doses inférieures d'insuline. Des recherches portées sur des rats sable *Psammo mysobesus* rapporte que ces animaux ont développé un diabète de type 2 une fois privés d'*Atriplex* (Dutuit, 1999).

➤ Plusieurs espèces d'*Atriplex* ont été utilisées pour traiter les infections fongiques, la bronchite et le diabète, et sont également une source de vitamine A.

➤ Leur importance dans l'alimentation humaine est négligeable, l'*Atriplex* entrainé dans la préparation des bouillants destinés aux malades souffrant de l'estomac et de l'intestin. Associées à la mercuriale, elle procurait une décoction laxative dépourvue d'effet irritant. Le jus frais renferme une proportion notable de vitamine C, utilisé aussi pour les brûlures (cataplasme des feuilles cuites dans l'huile d'olive), pour la dartre (décoction des feuilles d'arroche dans l'eau bouillit) et pour la diarrhée (consommation de l'arroche en salade) (Decartes, 1987).

III. La sélection de la plante

La sélection de la plante s'est fondée sur des différents critères :

- Elle est parmi les plus populaires plantes utilisées dans le monde entier, leur utilisation fréquente par nos populations dans le domaine culinaire et celui du fait de la médecine traditionnelle.
- A coté du fait que leur efficacité de traitement des : infections fongiques, la bronchite, le diabète, les maladies des voies respiratoires, du système digestif et du système urinaire (Pelinkose ogluyilmaz *et al.*, 2016).

De plus, la sélection a été basée sur le faite que la recherche bibliographique montre l'absence des études phytochimiques ce qui le rend récemment un sujet de recherche scientifique très intéressant (El-Aase *et al.*, 2016).



Chapitre II.
Les métabolites
Secondaires



I. Métabolites secondaires

I.1.Généralités

Les plantes produisent un grand nombre de composés pour lesquels on ne sait pas toujours le rôle qu'ils jouent pour la plante, ces composés ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse mais résultants de réactions chimiques ultérieures, on les appelle donc métabolites secondaires (**Laurent, 2012**). En effet, à côté des métabolites primaires classiques (glucides, protéides et lipides), les végétaux accumulent fréquemment des métabolites dits secondaires dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais qui représente une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire (**Herbert, 1989**). Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes (**Amara et Melouk, 2016**). Ils sont produits en très faibles quantités, il existe plus de 200 000 métabolites secondaires classés selon leur appartenance chimique (**Merabet et Menaifi, 2015**). Ces métabolites secondaires végétaux peuvent être définis comme des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes. Ils participent de manière très efficace, à la tolérance des végétaux à des stress variés (attaques de pathogènes, prédateurs d'insectes, sécheresse, lumière UV, etc.) (**Tirichine, 2010**). Ils sont divisés principalement en trois grandes familles: Les polyphénols, les terpènes et les alcaloïdes (**Lutge et al., 2002; Marouf et Reynaud, 2007**).

Il s'agit majoritairement de molécules de tailles et de masses faibles comparées aux molécules du métabolisme primaire (glucides, lipides et acides aminés) (**Sylvain, 2010**). D'un point de vue appliqué, beaucoup de métabolites secondaires constituent la base des principes actifs que l'on retrouve chez les plantes médicinales (**Tirichine, 2010**).

II. Les composés phénoliques

II.1.Définition

Les composés phénoliques ou les polyphénols (PP) constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal (Fleuriet, 1982 ; Yusuf, 2006). Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux, ils sont présents dans les différentes parties de la plante : les racines et les feuilles, dans les fruits et l'écorce et surtout dans les fleurs (Richter, 1993). Les principales sources alimentaires sont les fruits et légumes, les boissons (thé, café, jus de fruits), les céréales, les graines oléagineuses et les légumes secs. Caractérisés par la présence d'au moins d'un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre, ou engagé dans une autre fonction tels que : éther, ester, hétéroside...etc. Sont solubles dans la solution de carbonate de sodium. (Lugasi *et al.*, 2003 ; Amara et Melouk., 2016). A l'heure actuelle, plus de 8000 molécules ont été isolés et identifiés (Mompon *et al.*, 1998). Selon leurs caractéristiques structurales, ils se répartissent en une dizaine de classes chimiques, qui présentent toutes un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH) (Hannebelle *et al.*, 2004). Ces espèces sont des monomères, des polymères ou des complexes dont la masse moléculaire peut atteindre 9000 (Harbone, 1993).

II.1.1.Propriétés biologiques

Les acides phénoliques constituent un groupe important de composés organiques naturels avec un large spectre d'activités pharmacologiques, ils possèdent des propriétés non seulement antioxydants, mais également des propriétés antivirales et antibactériennes (Cazes, 2005), anti-inflammatoires, antiseptiques urinaire, cholagogues, hépatoprotecteurs, cholérétiques, immunostimulants (Zakkad, 2017).

II.1.2. Activités et intérêts pharmacologiques des composés phénoliques

Les composés phénoliques sont dotés de certaines activités biologiques telles que l'activité antibactérienne, antifongique, anti-tumorale, anti-inflammatoire, et principalement antioxydant ainsi qu'ils présentent un effet protecteur vasculaire et capillaro-veineux (Kanoun., 2011). Vers la fin du 20^{ème} siècle, les études épidémiologiques et les méta-analyses associée sont fortement suggéré que la consommation à long terme des régimes alimentaires riches en polyphénoles végétaux offrait une certaine protection contre le développement des cancers, des maladies cardiovasculaires, du diabète, de l'ostéoporose et des maladies neuro dégénératives (Boutakiout, 2015).

II.2. Les coumarines

Les coumarines sont des substances naturelles connues, Il s'agit de composés à neuf atomes de carbone possédant le noyau benzo (2 H) -1 pyrannone- . (Hamimed, 2009). Et ce sont des composés aromatiques dérivant de l'acide O-hydroxy Zcinnamique, de même que la coumarine elle-même dérive de l'acide orthocoumarinique. (Mansour *et al.*, 2009) elles se trouvent dans toutes les parties de la plante et notamment dans les fruits et les huiles essentielles des graines, elles sont fréquemment à l'origine des hétérosides. (Benkiki, 2006). Les coumarines utilisées comme parfum dans les produits alimentaires et cosmétiques. (Borges *et al.*, 2005). Elle constituer trois types : les furanocoumarines, les pyranocoumarines et leshydroxycoumarines. Les familles les plus riches en coumarines sont : Légumineuse, Rutacées, Apiécées et Thymeleacées. Elles se trouvent dans toutes les parties de la plante et notamment dans les fruits et les huiles essentielles des graines (Guignard, 1998 ; Deina *et al.*, 2003). Ils sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes. (Belfadel, 2013).

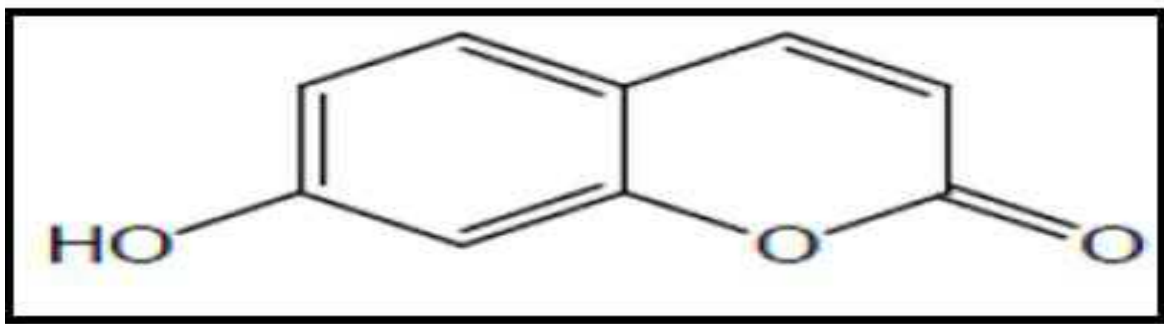


Figure 02 : Squelette de base des coumarines (Djemoui, 2012).

II.2.1. Propriétés biologiques

Les coumarines et leurs dérivées sont connues pour leurs nombreuses utilisations dans l'industrie des cosmétiques (comme additifs), l'industrie pharmaceutique et agro-chimique. Elles possèdent diverses propriétés biologiques, elles sont utilisées comme agents anticoagulants et sont très fluorescentes, elles sont employées aussi dans la préparation des insecticides. La majorité des coumarines et leurs dérivées ont été soumises à de profondes investigations dans le but d'évaluer leurs effets sur la santé humaine, les recherches ont montré qu'elles peuvent être des agents anti HIV, anti-tumoraux, anticancéreux, antimicrobiens et anti-inflammatoires (Dridi, 2015).

II.2.2. Activités biologiques et intérêts pharmacologiques des coumarines

Les coumarines sont des molécules biologiquement actives, elles manifestent diverses activités : anti-agrégation plaquettaire, anti-inflammatoire, anticoagulante, anti tumorale, Diurétiques, antimicrobienne, antivirale et analgésique (Ochockda *et al.*, 1995).

II.3. Les stilbènes

Les membres de cette famille possèdent la structure C6-C2-C6 comme les flavonoïdes, ce sont des phytoalexines, composés produits par les plantes en réponse à l'attaque par les microbes pathogènes fongiques, bactériens et viraux. Les sources principales des stilbènes sont les raisins, les vins, le soja et les arachides (Crozier *et al.*, 2006).

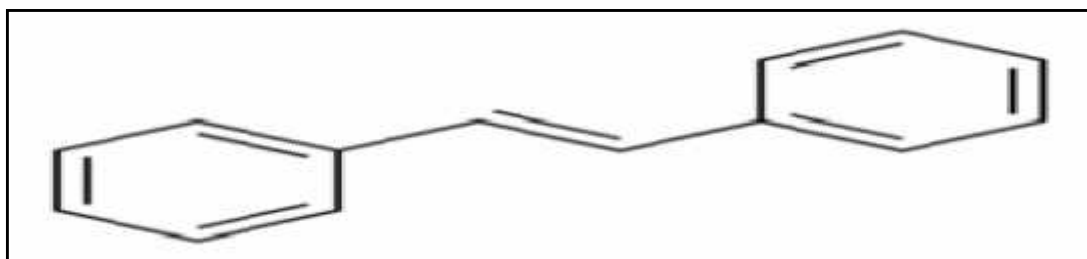


Figure 03: Structure d'un stilbène (Midoun, 2011).

a- Les stilbènes hydroxylés

Ces dérivés hydroxylés sont des composés formés de deux noyaux aromatiques liés par un groupe éthylénique (C6-C2-C6) (Lobstein, 2010). Ils sont rencontrés dans le raisin, le soja et les arachides (Crozier *et al.*, 2006).

b- Les phénanthrènes

Les phénanthrènes sont formés par trois cycles benzéniques. Ils existent sous forme, monomérique, dimérique et trimérique ; plus de 200 structures sont caractérisées. Ils sont surtout présents dans une cinquantaine d'espèces d'Orchidacées (Bruneton, 2008).

II.4. Les lignanes et les lignines et les subérines

Les lignanes sont des dimères ramifiés de phénylpropènes. Ils sont formés par dimerisation de trois types d'alcools : alcool p-coumarique, alcool coniférique et alcool synapique (Renault Roger *et al.*, 2002 ; Ghnimi, 2015). Ils sont formés par dimerisation de trois types d'alcools : alcool p-coumarique, alcool coniférique et alcool synapique. Ils sont connus pour avoir une activité anti-tumorale, antimitotique et antivirale. La toxicité pour les champignons, les insectes et les vertébrés est observée pour certaines lignanes et diverses activités physiologiques ont été documentées. Alors que les lignines sont des polymères d'alcools coniferiques, sinapyliques et p-coumarique (Renault Roger *et al.*, 2002 ; Ghnimi, 2015).

Les lignines constituent une classe importante de produits naturels dans le règne végétal et seraient formées par polymérisation oxydative de monolignols (monomères) qui sont les alcools coumarinique, coniférique et sinapique (Jutiviboonsuk, 2005).

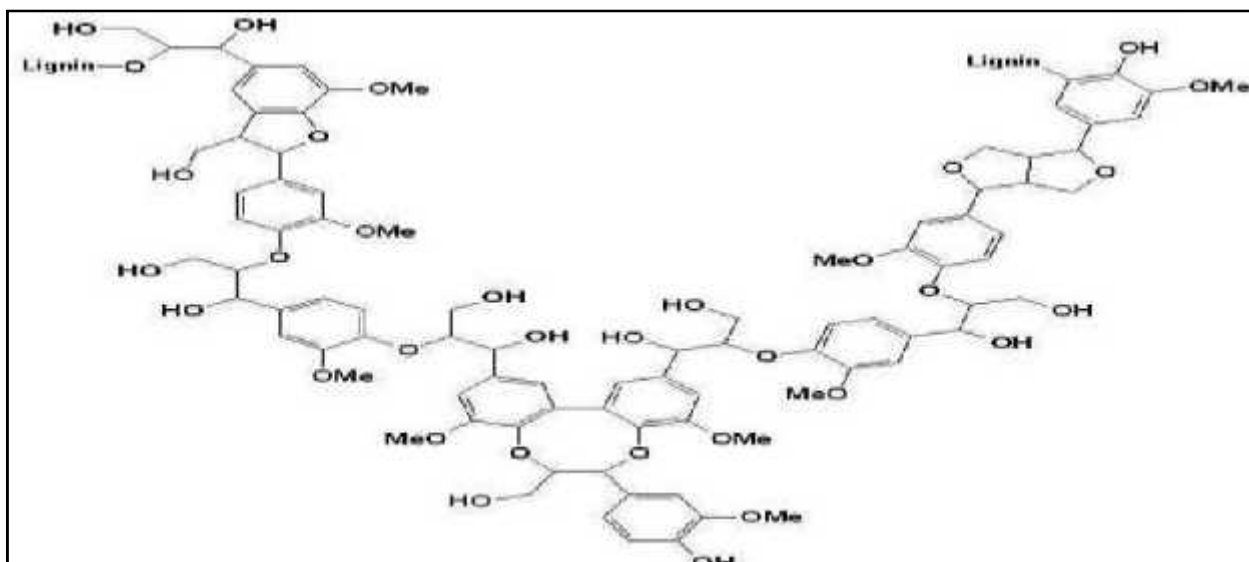


Figure 04. Structure chimique de lignine (Scalbert et williamson, 2000).

Par contre, les subérines sont des polyesters des acides férulique et coumarinique avec des acides aliphatiques (Renault Roger *et al.*, 2002 ; Ghnimi, 2015). Les membres de cette famille possèdent la structure C6-C2-C6 comme les flavonoïdes, ce sont des phytoalexines, composés produits par les plantes en réponse à l'attaque par les microbes pathogènes fongiques, bactériens et viraux. Les sources principales des stilbènes sont les raisins, les vins, le soja et les arachides (Crozier *et al.*, 2006).

II.5. Les flavonoïdes

II.5.1. Définition

Le nom flavonoïde proviendrait du terme flavedo, désignant la couche externe des écorces d'orange (Piquemal, 2008), cependant d'autres auteurs supposaient que le terme flavonoïde a été plutôt prêté du flavus (flavus=jaune) (Karaali *et al.*, 2004 ; Male et Kuntic, 2007).

Les flavonoïdes sont les composés les plus abondants parmi tous les composés phénoliques. Représentent une classe de métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal (Guignard, 1996). Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux (Havasteen, 2002). Presque toujours hydrosolubles (Ababsa, 2012). À l'état naturel les flavonoïdes se trouvent le plus souvent sous forme d'hétérosides (Bruneton, 1999 ; Ghestem *et al.*, 2001). Les flavonoïdes sont des

dérivés du noyau flavone ou 2-Phényl Chromone portant des fonctions phénols libres (aglycone) ou sous forme de glycosides. On les trouve, d'une manière générale, dans toutes les plantes vasculaires (Erlund, 2004), où ils peuvent être localisés dans divers organe : racine, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits. Et jouent un rôle important dans la protection des plantes (Bruneton, 1993).

Du point de vue structurale, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules, en effet plus de 6400 structures ont été identifiées (Harborne et Williams., 2000).

II.5.2. Structure des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des dérivés du noyau flavone ou 2-phényl chromone (Milane, 2004). à 15 atomes de carbone (C₆-C₃-C₆), constitué de deux noyaux aromatiques, que désignent les lettres A et B, reliés par un hétérocycle oxygéné, qui désigne la lettre C, de façon générale les flavonoïdes se trouvent soit à l'état libre, dans ce cas ils sont dits aglycones, soit sous forme de C- ou O glycosides, et dans ce cas ils sont liés à des sucres tels que le glucose, le rhamnose, l'arabinose, ils peuvent en outre être des monomères ou des oligomères (Bouakaz, 2006). Les atomes de carbone dans les cycles C et A sont numérotés de 2 à 8, et dans le cycle B de 2' à 6' (Bruneton, 1999). On signale que le noyau flavone est lui-même un dérivé du noyau flavane de base (Milane, 2004). La distinction des sous-classes se fait sur la conformation de la structure centrale (cycle C).

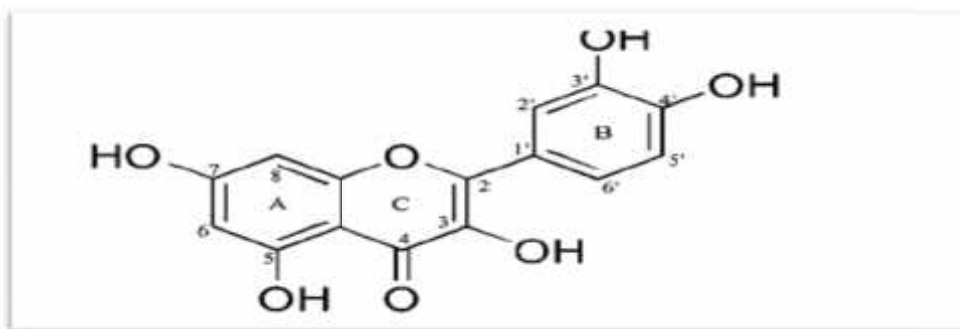


Figure 05 : Structure de base des flavonoïdes (Heim *et al.*, 2002).

Les flavonoïdes peuvent être subdivisés en plusieurs classes dont les plus importantes sont: flavones, isoflavandiol, flavanols, flavondiol, aurones, chalcones, anthocyanins (Effendi *et al.*, 2008).

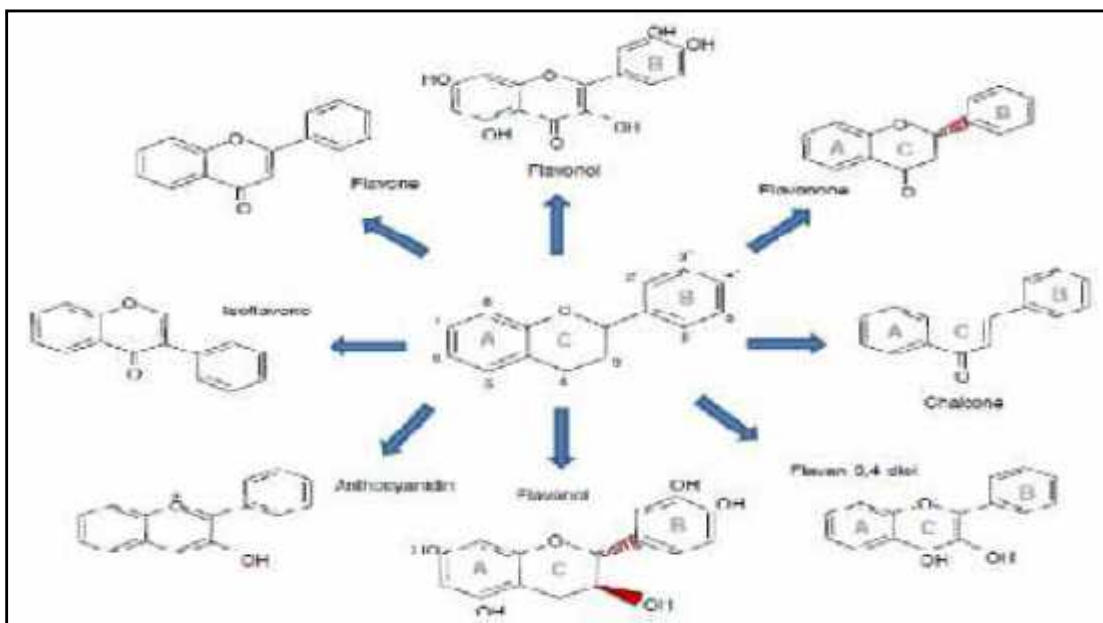


Figure 06. Les structures chimiques des principales familles des flavonoïdes (Fraga et Oteiza, 2011).

II.5.3. Propriétés biologique des flavonoïdes

- La principale activité attribuée aux flavonoïdes est une propriété «vitaminique P», ils diminuent la perméabilité des capillaires sanguins et renforcent leur résistance. Les flavones et flavonols sont deux classes de flavonoïdes protecteur de cellules végétales contre les effets nocifs des radiations ultraviolettes excessives, et contre les rayons Y et l'ozone.

- Les flavonoïdes sont des piègeurs efficaces des radicaux libres impliqués dans la Peroxydation lipidique.
- Ce sont des protecteurs vasculaires améliorant la résistance et la perméabilité des Vaisseaux aussi bien artériels que veineux. Ils augmentent aussi la résistance des vaisseaux en protégeant le tissu conjonctif péri vasculaire des dégradations enzymatiques (Harbone et Williams, 2000).

***Autre propriétés**

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

II.5.4. Intérêts et effets biologiques des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs : racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines, bois... (**Grotewold, 2006**). Certains flavonoïdes sont plus spécifiques de certains tissus. Les anthocyanes sont plutôt localisés dans les parties externes des fruits, fleurs et feuilles.

Les chalcones se retrouvent plus fréquemment dans les pétales des fleurs. Ce sont des pigments naturels au même titre que les chlorophylles (couleur verte) et les caroténoïdes (nuances jaunes et orangées). Leur fonction principale est la pigmentation des plantes (aspect esthétique). Quand ils ne sont pas directement visibles, ils contribuent à la coloration par leur rôle de Co-pigments (certaines flavones et flavonols) (**Grace *et al.*, 1996**). Les flavonoïdes, en particulier les anthocyanes, sont les seules molécules du règne végétal capables de produire une vaste gamme de couleurs, susceptibles de donner des teintes allant du jaune-orangé au bleu, en passant par le pourpre et le rouge (**Luigia et Giuseppe, 2006**).

Les flavones, auronnes et chalcones donnent plutôt des couleurs jaune, beiges voire blanche, ou participent aux nuances produites par les anthocyanes et les caroténoïdes (**Grotewold, 2006**). Un des rôles de la couleur chez les plantes est d'attirer les insectes et les oiseaux, qui

Jouent un rôle majeur dans la pollinisation et la dispersion assurant ainsi la reproduction de l'espèce (Jaime *et al.*, 2007). Les flavonoïdes, dissous dans les vacuoles à l'état d'hétérosides, s'accumulent dans les cellules épidermiques, assurant la protection des tissus contre les rayonnements solaires nocifs. On prête à certains flavonoïdes (phytoalexines), un rôle de défense contre les prédateurs et les pathogènes.

II.6. Les tanins

II.6.1. Définition

Les tanins sont des métabolites secondaires polyphénoliques très répandus dans le règne végétal, (Ghestem *et al.*, 2001, Khanbabae et Ree, 2001), ayant une masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 Da. Insolubles dans les solvants organiques apolaires et solubles dans l'eau (Aguilera-Carbo *et al.*, 2008). Ils s'intègrent dans la défense des végétaux contre les herbivores, en particulier pour les plantes se développant dans les zones difficiles (Zimmer et Cordesse, 1996).

Les tanins (ou tannins) représentent une classe très importante de polyphénols utilisés pour tanner les peaux, à côté des réactions classiques des phénols, la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines (Cowan, 1999 ; Haslam, 1996). Ils se combinent aux protéines, ces combinaisons varient d'une protéine à une autre selon les degrés d'affinités (Karama , 2009 ; Zakkad, 2017). Grâce à leurs fonctions phénoliques, qui ont un fort caractère nucléophile, les tannins sont d'excellents piègeurs de radicaux libres (Huang et Ferraro, 1991), ils possèdent d'autres propriétés telles que l'aptitude à la précipitation des alcaloïdes, de la gélatine et d'autres protéines (Dibong *et al.*, 2015). À la base de leur caractéristique structurale, ils sont divisés en deux groupes, les tanins hydrolysables et les tanins condensés. Les tanins hydrolysables sont à base d'acide gallique, tandis que les tanins condensés plus nombreux sont dérivés de monomères flavonoïdes (Amara et Melouk, 2016).

Le rôle biologique des tanins dans la plante est lié à sa propre protection contre les infections, les insectes et les animaux herbivores (**Khanbabae et Ree, 2001**). En plus de la protection contre les attaques fongiques et bactériennes. (**Peronny, 2005**). Les tanins montrent plusieurs activités biologiques ils ont un effet anti-diarrhéique, vasoconstricteurs, antiseptique, (**Okuda *et al.*, 1983**), antioxydants antiparasitaires, antimicrobienne

II.6.2. Propriétés biologiques

- La plupart des propriétés biologiques des tanins sont dues à leur pouvoir de se combiner avec les macromolécules en particulier les protéines.

- Les tanins exercent un effet antidiurétique et antiseptique.

- Ils favorisent la régénération des tissus en cas de blessures superficielles ou de brûlures.

Ils ont la propriété de coaguler les protéines de salive, ce qui rend les tissus riches en tanins peu consommables par les herbivores.

- De même, la teneur élevée en tanins rencontrée chez les plantes parasitées joue un rôle de défiance contre les bactéries et les champignons en précipitant les enzymes extracellulaires sécrétées par les microorganismes (**Guignard, 2000**).

II.7. Quinones

II.7. 1. Définition

Ce sont des composés oxygénés qui correspondent à l'oxydation de dérivés aromatiques avec deux substitutions cétoniques. Elles sont caractérisés par un motif 1,4-dicéto cyclohexa-2,5-diéniq (para-quinones) ou, éventuellement, par un motif 1,2-dicéto cyclohexa-3,5-diéniq (ortho-quinones) (**Bruneton, 1993**). Elles sont ubiquitaire dans la nature, principalement dans le règne végétal et sont fortement réactifs (**Cowan, 1999**).

II.8. Les anthraquinones

L'anthraquinone est une molécule dérivée de l'anthracène, elle appartient aux hydrocarbures aromatiques polycycliques. L'anthraquinone existe dans les plantes, les champignons et les insectes. On peut la trouver dans les racines, tiges vertes et les graines.

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

II.9. Les stérols

Les stérols, appelés phytostérols, sont des composés naturellement présents dans les membranes cellulaires des plantes et jouent un rôle très important dans la perméabilité de celles-ci et aussi dans la prolifération cellulaire (Kartal, 2005). Les principaux stérols dans les plantes, les champignons et les algues sont caractérisés par la présence, sur la chaîne latérale, d'un méthyle (ou éthyle) attaché au carbone C-24. Plusieurs études ont démontré que les phytostérols réduisent l'absorption du cholestérol dans l'intestin grêle.

II.10. Les Saponosides

II.10.1. Définition

Le nom saponine dérive du mot latin « sapo », qui signifie savon, parce que ces composés moussent une fois agités avec de l'eau. Ils sont des métabolites secondaires hétérosidiques présents dans de nombreuses plantes et quelques organismes marins (Belfadel, 2013). Ils se composent d'aglycones non polaires liés à un ou à plusieurs sucres. Cette combinaison d'éléments structuraux polaires et non polaires en leurs molécules explique leur comportement moussant en solution aqueuse (Vincken *et al.*, 2007). L'hydrolyse d'une saponine, par l'action d'un acide ou d'enzyme, produit un sucre ou plusieurs (dont souvent le glucose) et un aglycone nommé sapogénine selon que cette dernière étant, soit un triterpène, soit un stéroïde. On distingue les saponines triterpènes et les saponines stéroïdiques, certains auteurs distinguent une troisième catégorie de saponines ; celles des amines stéroïdiques qui sont traitées par d'autres comme des alcaloïdes stéroïdiques. (Saihi, 2007).

II.10.2. Propriétés biologiques

Les saponines ont des activités : antiallergique, antivirale, hypoglycémiantes, antifongique et anti-tumorale. Elles ont aussi une action sur le système cardiovasculaire, le système nerveux

centrale et le système endocrinien (Harborn, 1971). Ils manifestent des propriétés hémolytiques, antimicrobiennes, insecticides et molluscicides (Vincken *et al.*, 2007).

II.11. Les stéroïdes

Les stéroïdes sont des triterpènes tétracycliques, possèdent moins de 30 atomes de carbone, synthétisés à partir d'un triterpène acyclique. Chez toutes les plantes on trouve ces composés liés avec un groupement alcool qu'ils nommés les stérols ; prenant une forme plane, glycosylée, analogues du cholestérol qui ne diffèrent de celui-ci que par leur chaîne latérale comme : -Sitostérol, Stigmastérol (Hopkins, 2003).

II.12. Les Terpénoïdes

II.12.1. Définition

Le terme terpène inventé par Kekulé, vient de leur origine historique de l'arbre de terebinth : « *Pistacia Terebinthus* » (Ayad, 2008). Le terme de terpénoïde désigne un ensemble de substances présentant le squelette des terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone ...etc.); et attribué à tous les composés possédant une structure moléculaire construite d'un monomère à 5 carbones appelé isoprène, ces composés sont majoritairement d'origine végétale (Malecky, 2005). Synthétisés par les plantes, organismes marins, les champignons et même les animaux (Benaissa, 2011). Les terpénoïdes sont une vaste famille de composés naturels près de 15000 de molécules différentes et de caractère généralement lipophiles, leurs grandes diversités due au nombre de base qui constituent la chaîne principal de formule $(C_5H_8)_n$ selon la variation de nombre n, dont les composés monoterpènes, sesquiterpènes, diterpènes, triterpènes, (Wichtl et Anton, 2009). Ils sont les plus représentés dans la constitution chimique des huiles essentielles (Brunetton, 1999). Les terpénoïdes sont utilisés selon leurs qualités aromatiques. En thérapeutique, ils jouent le rôle d'antioxydant, d'antibactériens, d'antinéoplasique.

II.12.2. Structure des terpenoïdes

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure soit cyclique soit à chaîne ouverte : leur formule brute est $(C_5H_X)_n$ dont le x est variable en fonction du degré d'insaturation de la molécule et n peut prendre des valeurs (1-8) sauf dans les polyterpènes qui peuvent atteindre plus de 100 (le caoutchouc). La molécule de base est l'isoprène de formule C_5H_8 (Malecky, 2005 ; Benaïssa, 2011).

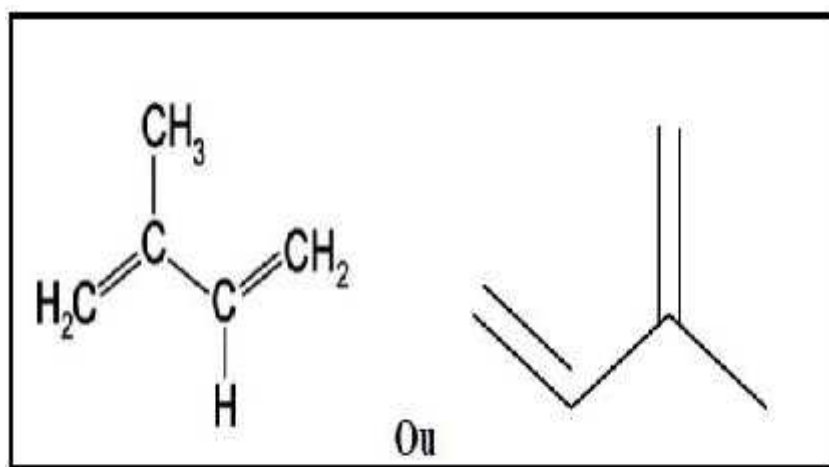


Figure 07 : structure de base de l'isoprène (Khenaka, 2011).

II.12.3. L'intérêt des triterpènes

L'utilisation industrielle et l'intérêt thérapeutique des triterpènes et stéroïdes représentent un enjeu capital dans le domaine de la recherche des substances naturelles. Les propriétés pharmacologiques diverses attribuées à ces composés ont permis leur classement en tant qu'un groupe de métabolites secondaires de grande importance.

Ces composés manifestent entre autres :

- Des potentialités thérapeutiques dans les différents domaines : cytostatiques, anti-inflammatoires, analgésiques, insecticides, molluscicides,Etc.

- Un intérêt considérable dans le secteur de l'industrie pharmaceutique particulièrement la production de médicaments stéroïdiques ayant des propriétés : contraceptifs, anabolisants, anti-inflammatoires,...etc.
- Un intérêt thérapeutique concernant l'extraction des molécules bioactives, pour l'obtention des formes galéniques simples ou pour celle de préparation phytothérapeutique.
- Une importance économique du fait de leur utilisation dans les industries Agroalimentaires (Bouzghaia, 2013).

II.12.4. Propriétés biologiques

L'utilité des terpènes a été démontrée pour la chimiothérapie de plusieurs maladies, comme le taxol et l'artémisinine (Jennwein et Croteau, 2001). Et aussi pour des propriétés antimicrobiennes, antifongiques, antiparasitaires, antivirales, antioxydants, antiallergènes, antispasmodiques, antihyperglycémiques, anti-inflammatoires et immunomodulatrices (Paduch *et al.*, 2007).

II.13. Les alcaloïdes

II.13.1. Généralités

Les alcaloïdes constituent un des groupes de métabolites secondaires d'origine végétale retrouvés dans environ 20% de toutes les espèces de plantes (Zhang et Björn, 2009). Les alcaloïdes sont des substances organiques azotées, à propriétés basiques ou amères, d'origine naturelle, avec une structure complexe et ayant des propriétés thérapeutiques ou toxiques (Dellile, 2007; Bruneton, 2009). Ils sont des composés organiques de faibles poids moléculaires et de structures complexes, plus ou moins basiques et hétérocycliques avec un atome d'azote comme hétéro atome (Bruneton, 1999 ; Zenket Juenger, 2007). On les trouve principalement chez les végétaux, mais aussi chez les animaux et chez certains micro-organismes. Selon leur composition chimique et surtout leur structure moléculaire, les alcaloïdes peuvent être divisés en plusieurs groupes tels que des phénylalanines, des alcaloïdes isoquinoléiques, des alcaloïdes quinoléiques, des alcaloïdes pyridiques et

pipéridiques, des alcaloïdes dérivés du tropane et des alcaloïdes stéroïdes (Mauro, 2006). Bien que beaucoup des alcaloïdes soient toxiques (comme la strychnine ou l'aconitine), certains sont employés dans la médecine pour leurs propriétés analgésiques (la morphine, la codéine), antipaludéens (quinine, chloroquinine), anticancéreux (taxol, vinblastine, vincristine) et antimicrobiennes.

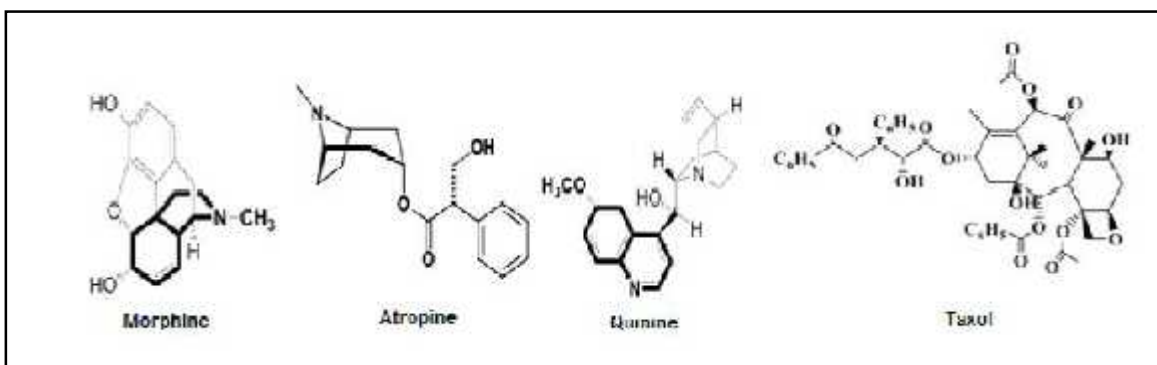


Figure 08 : Des structures alcaloïdiques (Badiaga, 2011).

II.13.2. Intérêts des alcaloïdes

Fonctions au niveau du producteur

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

Actions pharmacologiques

Leurs propriétés pharmacologiques concernent des domaines variés;

- Dépresseurs (morphine, scopolamine) ou stimulants (caféine, strychnine) au niveau du système nerveux central.
- Sympathomimétiques (éphédrine), parasympathomimétique (pilocarpine) au niveau de système nerveux autonome.

- Anesthésiques locaux (cocaïne), antipyrétique (quinidine), anti-tumoraux (ellipticine), antipaludiques (quinine)... etc. (**Bruneton, 2009**).

II.13.3. Propriétés biologiques

- Les alcaloïdes sont des substances particulièrement intéressantes pour leurs activités pharmacologiques qui s'exercent dans les domaines les plus variés :
- Au niveau du système nerveux central, qu'ils soient antidépresseurs (morphine, scopolamine) ou stimulants (strychnine, caféine);
- Au niveau du système nerveux autonome : sympathomimétiques (éphédrine) ou sympatholytiques, parasympathomimétiques, anticholinergiques et ganglioplégiques.
- On note aussi l'existence de curarisants, d'anesthésiques locaux, d'antifibrillants, d'anti tumoraux, et d'antipaludiques (**Bruneton, 1999**).



Chapitre III.
Les activités
Biologiques



I .Activité antibactérienne

I.1. Généralités

Un microorganisme ne peut se trouver que dans deux états : la vie ou la mort (incapacité de se reproduire), sa destruction est donc un phénomène de tout ou rien. En revanche, une population de microorganismes mise en contact d'un agent antimicrobien comporte, au début uniquement, des microorganismes vivants puis un mélange de microorganismes vivants (survivants) et de microorganismes tués. Leur destruction ne sera en aucun cas instantanée (Meyer *et al.*, 2004).

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

Les bactéries ont généralement un diamètre inférieur à 1µm. On peut les voir au microscope optique, à l'état frais ou après coloration. Leur forme peut être sphérique (cocci), en bâtonnet (bacilles), incurvée (vibrions) ou spiralée (spirochètes). Les détails de leur structure ne sont visibles qu'en microscopie électronique (Nauciel et Vildé, 2000). L'activité antibactérienne est réalisée par la méthode de l'aromatogramme (Hammoudi, 2009 ; Benkherara *et al.*, 2011).

I.2.Culture des bactéries

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

En milieu liquide, les bactéries se dispersent librement et leur multiplication se traduit par un trouble, le plus souvent homogène. Sur un milieu solide, lorsque la quantité de bactéries est faible, chaque bactérie va pouvoir se multiplier sur place jusqu'à former un amas de bactéries visible à l'œil nu, que l'on appelle colonie (Si la densité bactérienne est trop élevée dans l'échantillon ensemencé, les colonies sont confluentes et forment une nappe.). L'emploi de milieux solides permet ainsi le dénombrement des bactéries viables dans un échantillon (Nauciel et Vildé, 2000).

I.3. Les antibiotiques

L'élimination des microorganismes pathogènes fait appel à des substances dites : antibiotiques. Ces derniers sont synthétisés par des microorganismes (le plus souvent des champignons). Ils ont la capacité soit de détruire les bactéries (effet bactéricide), ou d'inhiber leur croissance (effet bactériostatique).

*** Classification des antibiotiques**

Il existe plusieurs classifications des antibiotiques, elles sont basées sur le spectre d'action, la cible, ou la famille chimique. Cette dernière celle-ci est la plus fréquemment rencontrée. Les principales familles chimiques des antibiotiques sont: Bêta lactamines: pénicilline et céphalosporines; Aminosides: streptomycine, gentamycine; Chloramphénicol et thiamphénicol; Cyclines: tétracyclines, doxycycline. Macrolides et apparentés, érythromycine, oléandomycine. (Cohen et Jacquot, 2001).

II. Activité antioxydante

II.1. Stress oxydatif et les antioxydants

II.1.1. Généralité

L'oxydation de divers substrats endogènes : les phospholipides des membranes cellulaires, les protéines et l'ADN, conduit à la formation des radicaux libres ou des espèces réactives oxygénées (ERO). La formation des ERO est un processus tout à fait naturel et joue un rôle

essentiel dans l'organisme : efficacité de l'apoptose, prolifération cellulaire normale, régulation de la pression sanguine, état redox normal pour l'expression des gènes, etc....

(Rousseau, 2004).

Dans l'ensemble des tissus sains, la balance antioxydants/pro-oxydants est en équilibre, cet équilibre est important pour l'homéostasie de la cellule, le stress oxydant résulte d'un déséquilibre entre les systèmes de défense antioxydants et la production des radicaux libres qui peuvent engendrer des dommages importants sur la structure et le métabolisme cellulaire en dégradant de nombreuses cibles: protéines, lipides et acides nucléiques **(Wolin, 1996 ; Wolin *et al.*, 2005).**

Ce déséquilibre peut être dû à un déficit nutritionnel en antioxydants, à une surproduction endogène ou à une exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants **(Collard, 2014).**

La recherche fondamentale du stress oxydant s'efforce à déchiffrer les bases moléculaires des agressions oxydatives provoquées par les ERO, ainsi que les systèmes physiologiques de protection et de réparation des lésions d'origine oxydatives **(Enoiu, 2001).**

Les antioxydants sont classés selon leur mode d'action : éliminateurs de radicaux libres, chélateurs d'ions métalliques, piègeurs d'oxygène dans des systèmes fermés.

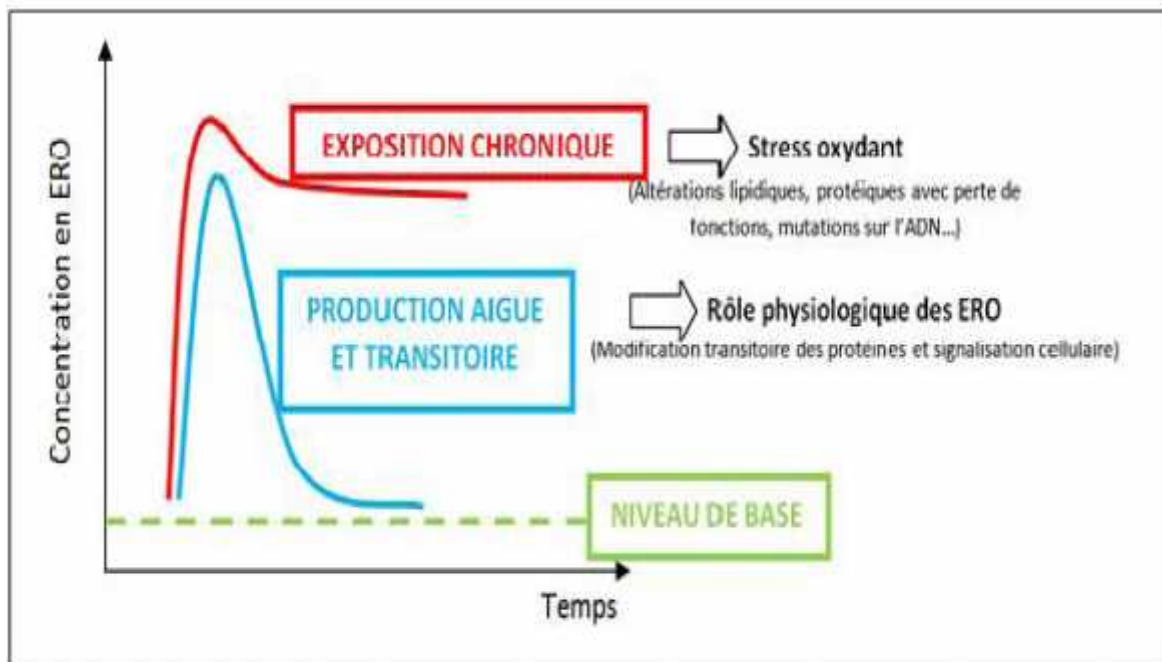


Figure 09 . La rupture d'équilibre a l'origine du stress oxydant (Delattre *et al.*, 2005).

II.1.2. Les radicaux libres

Les radicaux libres sont des espèces chimiques neutres ou chargées présentant dans leur orbite électronique externe un électron non apparié dit célibataire. Le radical libre est instable et très réactif et pour devenir stable il doit appairer son électron ou bien céder le sien à une autre molécule. Chacune de ces réactions aboutit à la formation de nouveaux radicaux libres.

Les radicaux peuvent réagir avec des composants cellulaires (ADN, lipides, protéines...) aboutissant à des lésions cellulaires irréversibles, mais dans des conditions physiologiques agissent comme des substances de signal importantes en plus de l'utilité dans la défense chez les bactéries (Chahine, 2014).

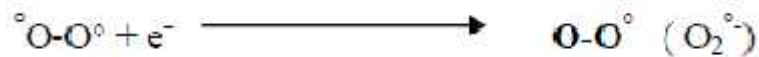
Il peut être formé par la perte ou le gain d'électrons à partir d'un composé non radical. Il peut aussi apparaître au moment de la rupture symétrique d'une liaison covalente après laquelle chaque atome conserve un électron et devient un radical libre. Lorsque cet électron célibataire est situé sur un atome d'oxygène, on parle alors « d'espèces réactives de l'oxygène » (ERO) ou « réactive oxygen species » (ROS) (Halliwell et Gutteridge, 1989 ; Tessier et Marconnet, 1995).

II.1.3. les principales formes des radicaux libres

II.1.3.1. Radicaux libres oxygénés (ROS)

- Ion superoxyde : $O_2^{\circ-}$

L'ion superoxyde ($O_2^{\circ-}$) est un dérivé très réactif de l'oxygène. Il est produit au cours du métabolisme mitochondrial à la suite de la réaction suivante.



Relativement stable, il n'est pas très toxique pour l'organisme. Mais il est à l'origine de cascades de réactions conduisant à la production de molécules très nocives.

- Radical libre hydroxyle : OH°

Le radical libre hydroxyle (OH°) est très réactif. Son temps de demi-vie en milieu aqueux est de 10^{-6} secondes. Il peut réagir avec de nombreuses molécules comme l'ADN, les glucides, les nucléotides, les protéines et être à l'origine de lésions de nécrose. C'est un dérivé de l'ion superoxyde. Il peut être produit à la suite de diverses réactions. Nous en citerons deux à titre d'exemple, comme :

- la réaction **d'Haber-Weiss**

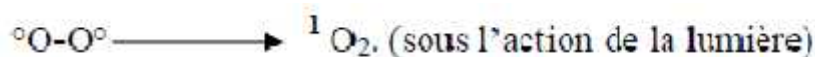


- la réaction de **Fenton** :



- L'oxygène singulet : 1O_2

Lorsque de l'énergie est apportée à l'oxygène, celui-ci passe à l'état singulet qui représente la forme activée. C'est une forme très énergétique de grande réactivité qui peut oxyder de nombreuses molécules. Il est formé à partir de l'ion superoxyde selon la réaction suivante :



Le radical peroxyde est considéré comme une espèce réactive dérivée de l'oxygène (ROS) même s'il n'a pas une structure radicalaire car il est capable d'initier ou de propager des dommages oxydatifs. Il peut être produit au cours des mécanismes illustrés par les équations suivantes :



- **Le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)**

Le peroxyde d'hydrogène est produit à partir du radical superoxyde en solution aqueuse. Cet ion provoque la dismutation de l'eau pour former du peroxyde d'hydrogène et du dioxygène (Halliwell *et al.*, 1984) catalysée par le superoxyde dismutase (SOD).



Le peroxyde d'hydrogène est moins réactif que l'anion superoxyde, mais il possède une capacité de diffusion importante (Jacques et André, 2004).

II.1.3.2. Radicaux libres azotés (RNS)

L'oxyde azotique NO[•] est principalement produit par un système enzymatique, la NO synthase, qui transforme l'arginine en citrulline en présence de la NADPH (1.5 équivalent). (Radi, 2004).



Il est aussi possible de le produire par réduction des nitrites en nitrates sans l'aide d'enzyme. Le NO[•] peut réagir avec les fonctions thiols en donnant naissance aux S-nitroso thiols (RSNO), avec les métaux de transition (fer, cuivre) et avec l'anion superoxyde pour former le peroxyde nitrite. La forme acide du peroxyde nitrite (ONOOH) est un oxydant fort, dont la rupture produit deux oxydants puissants (NO₂[•], OH[•]). Il peut également s'ajouter au

CO₂ pour donner un adduit instable, qui donne par la suite les radicaux NO₂[°] et CO₃^{°-}. (Eiserich *et al.*, 1998).

II.1.3.3. Radicaux libres soufrés

Ils ont comme origine l'oxydoréduction à un électron du couple disulfure/ di thiol de protéines ou de petits peptides. Le principal disulfure cellulaire est le glutathion, qui est un tripeptide dont la concentration dans le cytosol peut aller jusqu'au mM. Dans le milieu intracellulaire réducteur, il est présent à l'état réduit thiol (GSH). Lors d'une attaque oxydante, il se dimérise pour donner GSSG, tout en passant par le radical thiyle (GS[°]) qui est un oxydant fort, puis un disulfure (GSSG^{°-}). (Houée Levin, 2005).

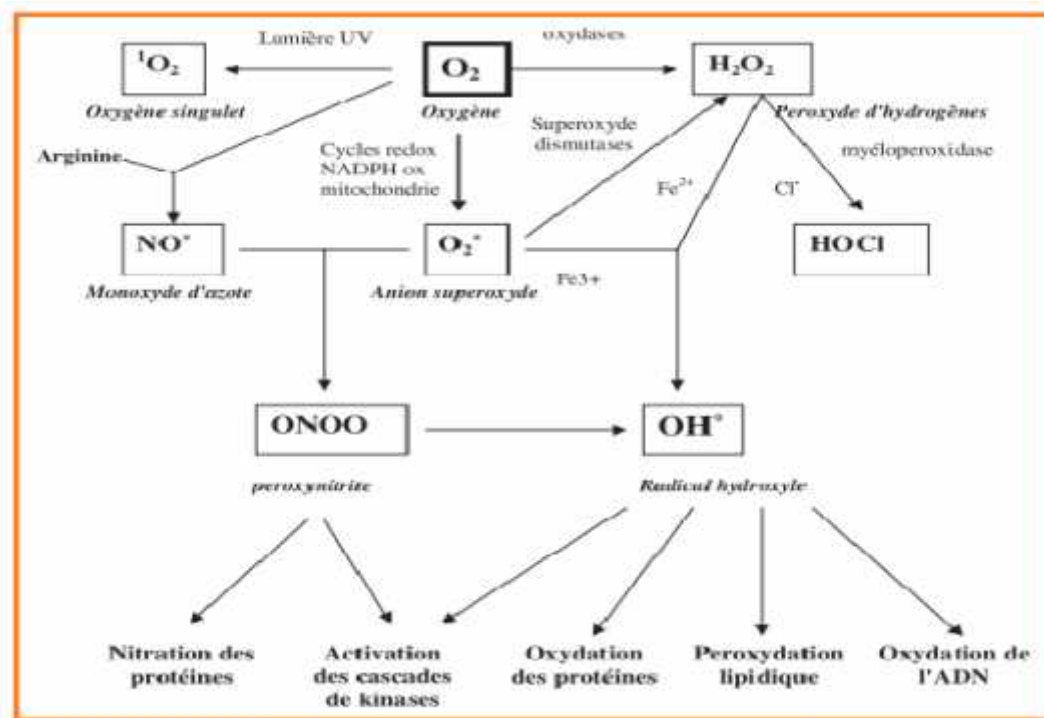


Figure 10 : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie (Favier, 2003).

II.1.4. Les sources des ERO

Les principales sources des radicaux libres sont soit endogènes ou exogènes

II.1.5. Les conséquences biologiques du stress oxydatif

L'accumulation des EOR a pour conséquence l'apparition de dégâts cellulaires et tissulaires souvent irréversibles dont les cibles biologiques les plus vulnérables sont les protéines les lipides et l'acide désoxyribonucléique (Valko *et al.*, 2006).

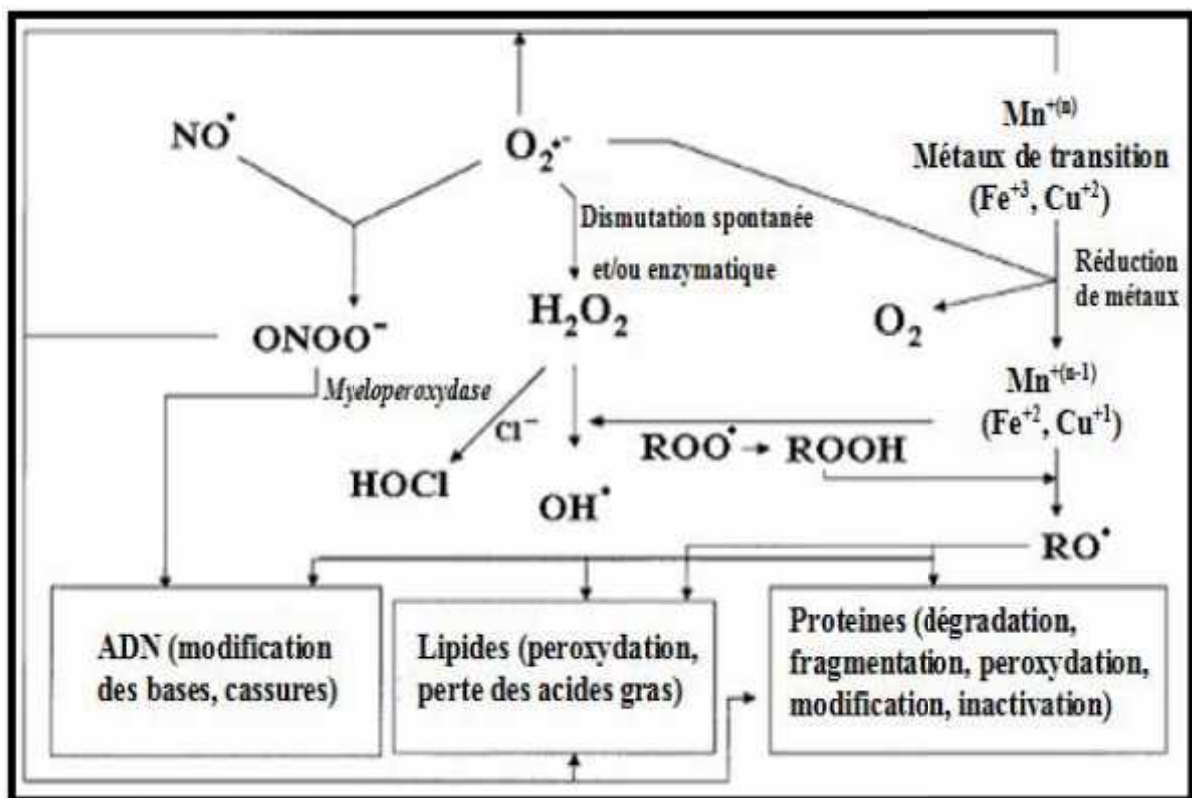


Figure 11 : Cibles biologiques et endommagement oxydatifs induits par les EOR

(Kohen et Nyska, 2002).

II.2. Les antioxydants

L'équilibre entre les effets positifs et négatifs des EOR est particulièrement fragile. Le maintien d'un niveau non cytotoxique de ces derniers est assuré par des systèmes d'antioxydants. (Boyd *et al.*, 2003 ; Berger, 2006).

II.2.1. Définition

Les antioxydants sont l'ensemble des molécules susceptibles d'inhiber directement la production, de limiter la propagation ou de détruire les espèces réactives de l'oxygène. Ils peuvent agir en réduisant ou en dismutant ces espèces, en les piégeant pour former un composé stable, en séquestrant le fer libre ou en générant du glutathion (Favier, 2003). Les antioxydants servent à contrôler le niveau des espèces réactives pour minimiser le dommage oxydatif.

II.2.2. Les types d'antioxydants

1. Antioxydants enzymatiques

a- Les superoxydes dismutases (SOD)

La famille des superoxydes dismutases comporte trois isoformes (SOD₁, SOD₂, SOD₃) dont le rôle est la dismutation de deux anions superoxyde en espèces oxygénées moins réactives que sont H₂O₂ et O₂ (Antwerpen, 2006).



b- Les catalases

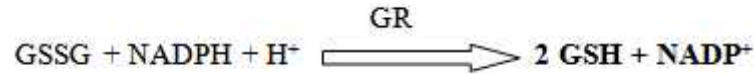
La catalase est une enzyme intracellulaire, localisée principalement dans les peroxysomes. Elle catalyse la réaction de détoxification du H₂O₂ (généralement produit par la SOD). Elle est surtout présente au niveau des globules rouges et du foie. (Soulère *et al.*, 2002).



c- La glutathion peroxydase et réductase (GSHP_x)

Ces deux enzymes sont localisées dans le cytosol et dans les mitochondries. Le rôle de glutathion peroxydases (GP_x) est de déduire d'une part le peroxyde d'hydrogène en molécule d'eau, et d'autre part les hydroperoxydes organiques (ROOH) en alcools. Lors de cette réaction, qui demande l'intervention de deux molécules de glutathion (GSH), Celles-ci se

transforment en glutathion-dissulfure (GSSG) (Marfak, 2003). La glutathion réductase (GR), quant à elle, a pour rôle de régénérer le GSH à partir du GSSG au cours de cette réaction, la glutathion réductase utilise un cofacteur, le NADPH :



Cette réaction produit du NADP⁺ qui sera régénéré en NADPH pour une utilisation ultérieure, par une autre enzyme ; le G6PD (glucose-6-phosphate-déshydrogénase), (Curtay et Robin, 2000).

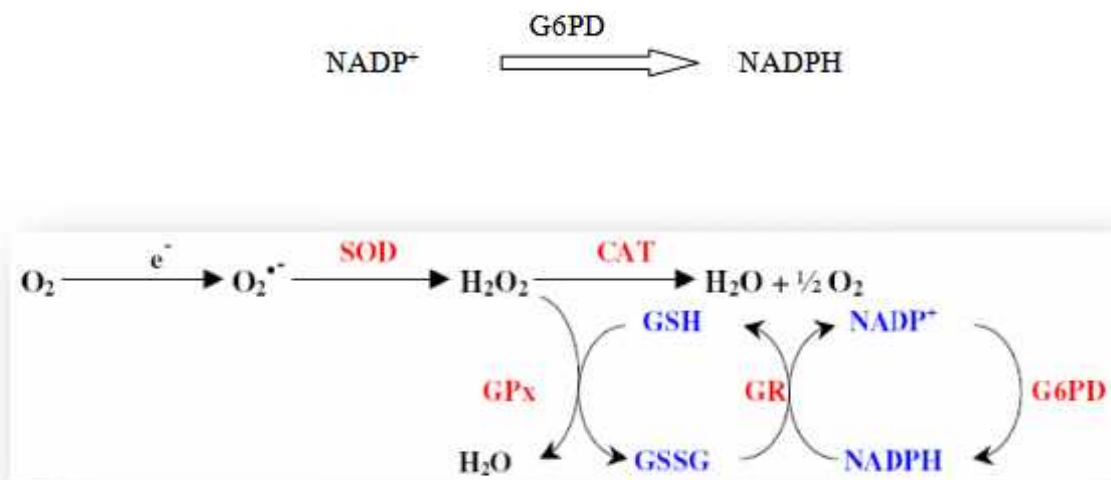


Figure 12 : Principales étapes de la défense enzymatique contre les espèces réactives de l'oxygène.

d) Les thiorédoxines (TRx) et la thiorédoxine réductase (TRxR)

Les thiorédoxines sont des enzymes à activité antioxydant intrinsèque comme toutes les protéines à groupement thiol (-SH). Elles jouent aussi un rôle important dans la régulation du système immunitaire. Une fois oxydée, la thiorédoxine est réduite par la thiorédoxine réductase (TRxR) qui est une enzyme possédant un groupement sélénocystéine dans son site actif. La TRxR intervient aussi dans la dégradation des peroxydes lipidiques et du peroxyde d'hydrogène et dans la régénération du radical ascorbyl en acide ascorbique (Hattori *et al.*, 2003).

2. Antioxydants non enzymatiques

Les antioxydants non enzymatiques se divisent en deux principales catégories, les endogènes (molécules issues de la biosynthèse), et les exogènes (vitamine, oligoéléments) La glutathion réduit (GSH), l'ubiquinone, le cytochrome c et les vitamines E et C (Blandine, 2006).

a- Glutathion

Le glutathion réduit (GSH), réduit le peroxyde d'hydrogène et/ou les peroxydes organiques grâce à la réaction catalysée par la glutathion peroxydase (GPx). Il peut aussi réduire les radicaux formés par l'oxydation des vitamines E et C, baissant ainsi les niveaux de peroxydation lipidique. Le rapport glutathion réduit/glutathion oxydé (GSH/GSSG) est souvent utilisé comme un marqueur du stress oxydant car plus le flux d'H₂O₂ est important, plus le glutathion réduit est consommé et le glutathion oxydé augmenté.

b-Acide Urique

Il s'agit d'un produit issu du catabolisme des bases puriques. Comme pour tout couple acido-basique l'une ou l'autre des formes est prépondérante selon le pH du milieu : au pH physiologique la forme ionisée, l'urate, est prépondérant. Il agit comme un donneur d'électrons capable ainsi de stabiliser les radicaux hydroxyl HO°, peroxy ROO°, et l'oxygène singulet (Powers et Jackson, 2008).

3. Les antioxydants exogènes

a- Vitamine E ou -tocophérol

Elle prévient la peroxydation des lipides membranaires *in vivo* en capturant les radicaux peroxydes. Elle est présente dans les huiles végétales, les noix, les amandes, les graines, le lait, les œufs et les légumes à feuilles vertes (Ahmet, 2003).

b-Vitamine C ou acide ascorbique

L'acide ascorbique et ses dérivés; Il peut être d'origine naturelle (fruits et légumes) ou synthétique. L'acide L-ascorbique (vitamine C) et son dérivé le palmitate d'ascorbyle, ils sont des antioxydants utilisés en synergie. Il possède un caractère acide et intervient dans les échanges d'oxydoréduction grâce à sa fonction ène-diol. L'acide ascorbique s'oxyde en acide déshydro ascorbique, prévenant ainsi l'oxydation d'autres substances moins réactives (Portes, 2008).



La vitamine C est l'un des principaux antioxydants hydrosolubles présents dans les fluides intra- et extracellulaires (compartiments hydrophiles). (Vertuani *et al.*, 2004).

c- Les caroténoïdes

Se sont des pigments issus des plantes et microorganismes, et sont regroupés en deux grandes familles : les carotènes et les xanthophylles. L'activité antioxydant de ceux-ci est liée à leur longue chaîne polyénique qui leur permet de réagir avec les radicaux ROO° , HO° , O_2° , R° par simple addition électrophile et transfert d'électron. Ils permettent, en particulier, de neutraliser l'oxygène singlet (Valko *et al.*, 2006).

d-Les oligoéléments

Le cuivre, le zinc, le manganèse, le sélénium et le fer sont des métaux essentiels dans la défense contre le stress oxydant. Ces oligoéléments jouent le rôle de cofacteur pour maintenir l'activité catalytique des enzymes antioxydants.

e- Les antioxydants exogènes phénoliques

Une grande partie de ces molécules est présente dans les plantes. Les plus connus sont les acides phénoliques (benzoïque ou cinnamique), les flavonoïdes, et les tanins. Les stilbènes et le lignan sont moins connus (Dai et Mumper, 2010) ; ils sont capable de piéger des ROS, d'inhiber le peroxyde lipidique en réduisant le radical hydroxyle, superoxydes et

peroxydes ; capable aussi de piéger les ions métallique, car ils ont des propriétés chélatrices.

f-Les flavonoïdes

Les effets protecteurs des flavonoïdes contre les oxydants dans les systèmes biologiques peuvent être attribués à différents procédés soit par transfert direct d'électrons du radical libre aux flavonoïdes, soit par voie indirecte par la chélation des ions métalliques, l'activation des enzymes antioxydants, ou l'inhibition des oxydases (**Procházková *et al.*, 2011**).



Deuxième partie:

Partie expérimentale





Matériels et Méthodes



Matériel et Méthodes

L'étude expérimentale a été effectuée au sein du laboratoire de pédagogie, Université Abbès laghrour-Khenchela- à partir le 28 avril 2018 jusqu'à 29 Mai 2018.Elle comporte deux parties :

La 1^{ère} partie

- Préparation de l'extrait méthanolique de la partie aérienne de la plante médicinale *Atriplex halimus.L*, analyse phytochimique qualitative et dosages des polyphénols totaux, et des flavonoïdes.

La 2^{ème} partie

- L'évaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion des disques sur un milieu solide et la détermination des concentrations minimales inhibitrices.
- Etude de l'activité antioxydante de cet extrait par la technique de piégeage du radical libre DPPH.

I. Matériels

I.1. Matériel végétal

a. Récolte de la matière végétale

La partie aérienne d'*Atriplex halimus L*. a été récoltée avant les périodes de floraison, la récolte de la plante a été réalisée entre 04 à 18 Avril,2019, de la région de M[°]Toussa(une commune de la wilaya de Khenchela en Algérie (les coordonnées: 35° 35' 58" Nord, 7° 14' 42" Est).

b. Séchage

Après la récolte, le matériel végétal est débarrassé des débris. Pour s'assurer de la bonne conservation de notre plante, un séchage à l'air libre et à l'obscurité pendant une dizaine de jours a été réalisé. Elle est, ensuite, broyée par un broyeur électrique, et conservée dans des fioles en verre.

I.2. Matériel de laboratoire

L'appareillage utilisé est le suivant :

- Spectrophotomètre UV-visible (SP-UV 2005 Spectrum).
- Rota vapeur (Hahapeur : KIT / LAB) HS- 2005-N).
- Balance de précision.
- Agitateur (SCILOGEX MS7-H550-Pro).
- Bain-marie (Memmert C).
- pH mètre (pH 211 microprocessor).
- Vortex
- Chambre UV (254/365)

I.3. Réactifs

Plusieurs réactifs chimiques et solvants ont été utilisés dans nos expériences, parmi ces produits : Eau distillée, eau physiologie, folin-ciocalteu, trichlorure de fer (FeCl_3), trichlorure d'aluminium (AlCl_3), Méthanol (MeOH), butanol (BuOH), chloroforme (CHCl_3), Acide sulfurique (H_2SO_4), Anhydride acétique, Liqueur de Fehling A, Liqueur de Fehling B, Hydroxyde d'ammonium (NH_4OH), soude (NaOH), Acide chlorique, Wagner, Mayer (Chlorure de mercure (HgCl_2) 1, 36 g + 5g de Iodure de potassium + 100ml eau distillé), DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl), Na_2HPO_4 (Hydrogène phosphate de sodium), KH_2PO_4 (dihydrogène phosphate de potassium), NaCl , KCl , acétone.

II. Méthodes

II. 1. Préparation de l'extrait méthanolique

La préparation d'extrait méthanolique est réalisée par épuisement à froid de 20 g de la poudre végétale, dans 100 ml d'une solution hydro-alcoolique, méthanol/eau distillée (8/2, v/v) pendant 24h avec agitation continue à température ambiante et à l'abri de la lumière (le bécher doit être couvert par papier Aluminium). Après filtration à l'aide papier filtre, l'extrait brut obtenu est soumis à une évaporation de solvant à sec sous pression

réduit à 40°C à l'aide d'un évaporateur rotatif, l'extrait sec obtenu est en suite stocké à une température de +4° C.

On a fait une deuxième macération avec la même quantité et le même volume.



Photo 01 : Photo de filtration de l'extrait brut



Photo 02: Photo d'un évaporateur rotatif utilisé pour sécher l'extrait méthanolique.

0

❖ **Calcul de rendement d'extraction**

Le rendement d'extraction de l'extrait méthanolique est déterminé par le rapport du poids de l'extrait sec après évaporation sur le poids de la matière végétale sèche utilisé pour l'extraction, multiplié par 100%

$$R \% = (m1 \times 100) / m0$$

m1= masse en gramme de l'extrait sec

m0 = masse en gramme de la matière végétale sèche

Rd= rendement

❖ **Les dilutions**

Pour réaliser ce travail, nous avons utilisé trois (03) concentrations de l'extrait méthanolique : la première c'est la solution mère à 100% (1mg/1ml), la deuxième est égale à 70 % (0,7mg/1ml) et la dernière concentration est égale à 20% (0,2 mg/1ml).

II.2.Etudes phytochimique

II.2.1. Tests préliminaires de la composition chimique

Les recherches ont porté sur la recherche des principaux groupes chimiques (alcaloïdes, tanins, flavonoïdes, saponines,) par des réactions en tubes.

a. Tanins

Dans un tube à essai, nous avons introduit 2 ml de l'extrait à analyser avec 0,5 ml d'une solution aqueuse de chlorure de fer (FeCl₃) à 1%. La présence des tanins est dévoilée par une coloration verdâtre ou bleu-noirâtre.

b. Flavonoïdes : test de Shinoda

Macérer 10 g de la poudre sèche dans 150 ml d'HCl dilué à 1% pendant 24h, filtrer et procéder au test suivant : prendre 10 ml du filtrat, le rendre basique par l'ajout du NH₄OH .Un test positif est révélé par l'apparition d'une couleur jaune dans la partie supérieure de tube à essai.

c. Coumarines : Fluorescence UV

Dans un tube à essai, nous avons introduit 1 ml d'extrait avec 0,5 ml de l'hydroxyde d'ammonium (NH₄OH) à 10%. Un deuxième tube non traité par NH₄OH a été préparé pour servir comme témoin. Après dépôt d'une goutte sur un papier filtre, l'apparition d'une fluorescence intense, sous lumière ultra-violet (366 nm) indique la présence des coumarines.

d. Quinones libres

Dans un tube à essai, nous avons ajouté 5 ml de l'extrait à 0,5 ml de soude (NaOH) à 1%. L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet révèle la présence des quinones libres.

e. Anthraquinones

Dans un tube à essai, nous avons introduit 5 ml de l'hydroxyde d'ammonium (NH₄OH 10%) avec 5 ml d'extrait. Après agitation, la présence des anthraquinones est indiquée par une coloration violette.

f. Alcaloïdes

La mise en évidence des alcaloïdes a été effectuée par une réaction de précipitation en présence des réactifs des alcaloïdes (Mayer et Wagner). À 1 ml d'extrait, nous avons ajouté quelques gouttes d'acide chlorhydrique (HCl 1%), puis la solution est divisée en deux volumes égaux. Nous avons introduit 0.5 ml de réactif de **Mayer** dans le premier tube, et 0.5 ml de réactif de **Wagner** dans le deuxième tube. La formation d'un précipité blanc ou brun respectivement dans les deux tubes révèle la présence des alcaloïdes.

g. Stérols et triterpènes : Test de Liebermann-Burchard

À 5 ml d'extrait, nous avons ajouté 0,5 ml d'anhydride acétique et 0,5 ml d'acide sulfurique. Après incubation de 15 min, l'apparition d'une couleur mauve, verte ou violette indique un test positif.

h. Terpénoïdes : Test de Salkowski

Dans un tube à essai nous avons introduit 5 ml d'extrait, 2 ml de chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique concentré. La formation de deux phases et une couleur marron à l'interphase, indique la présence des terpénoïdes.

i. Saponosides. Test de mousse

Dans un tube à essai, ml d'extrait ont été agité énergétiquement pendant 15 secondes puis laissé au repos pendant 15 min. Une hauteur de mousse persistante, supérieur à 1 cm indique la présence de saponosides.

j. Composés réducteurs

Un volume de 1 ml d'extrait a été mélangé avec 2 ml de la solution de Fehling (1 ml de la liqueur de Fehling A et 1 ml de la liqueur de Fehling B), puis incubé au bain marie bouillant pendant 8 minutes. Un test positif est indiqué par l'apparition d'un précipité rouge-brique.

II.2.2. Analyses quantitative de l'extrait

II.2.2.1. Dosages des polyphénols totaux

a. Principe

Le dosage des composés phénoliques totaux a été effectué par une méthode adaptée de **singleton et Ross en (1965)**, avec le réactif de folin-Ciocalteu. En milieu alcalin, le réactif de Folin-Ciocalteu, oxyde les phénols en ions phénolates et réduit partiellement ses hétéropolyacides, d'où la formation d'un complexe bleu. (**Daels-rakotoarison, 1999**).

b. Mode opératoire

Ce dosage a été réalisé selon la méthode décrite par **Wong C (2006)**. Le taux de polyphénols totaux dans nos extraits, a été calculé à partir d'une courbe d'étalonnage linéaire, établie avec des concentrations précises d'acide gallique comme standard de référence, dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait $\mu\text{gE AG/mg}$.

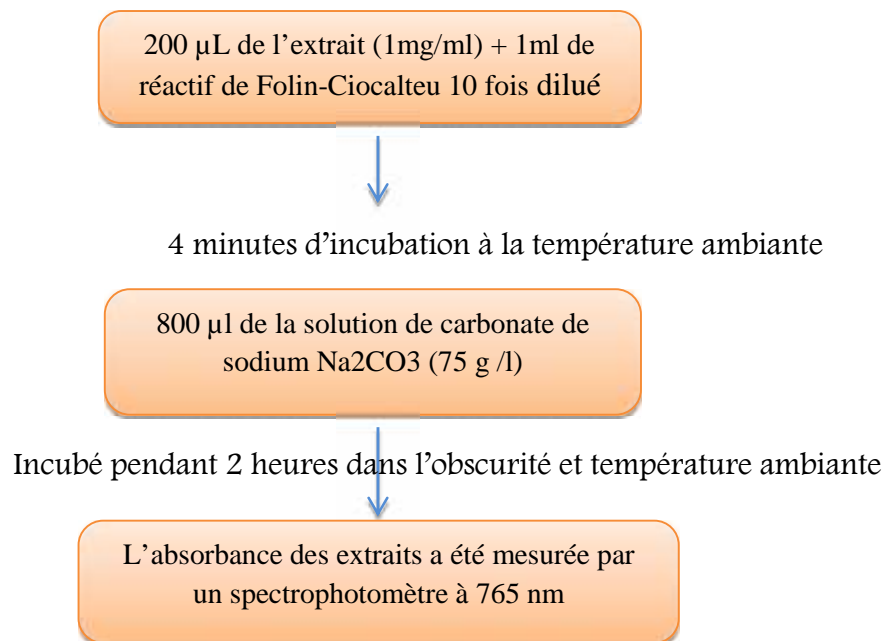


Figure 13 : Mode opératoire de dosage des polyphénols

II.2.2.2. Dosage des flavonoïdes

La détermination quantitative des flavonoïdes d'extrait méthanolique des est élaborée par la méthode colorimétrique de trichlorure d'aluminium. (Dejdanne et *al.*, 2006).

a. Le principe

La méthode colorimétrique de dosage des flavonoïdes repose sur la capacité de ces composés à former des complexes chromogènes avec le chlorure d'aluminium (AlCl₃), qui donne à la solution une coloration jaunâtre dans l'absorption maximal et la longueur d'onde à 448 nm, contre un témoin préparé dans les mêmes conditions et ne contenant pas l'extrait de *Atriplex Halimus L.*

b. Mode opératoire

Le protocole de dosage est présenté dans la figure suivante :

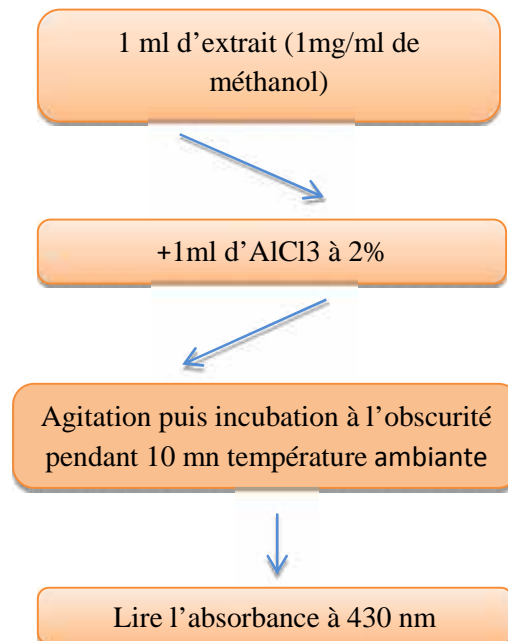


Figure 14 : Mode opératoire de dosage des flavonoïdes (Dejdanne *et al.*, 2006).

- **Expression des résultats**

La quantification des flavonoïdes a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y=a x+b$) réalisée par un standard étalon "la quercétine" à différentes concentrations dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait (mg EQ/mg).

II.2.2.3. Criblage phytochimiques par chromatographie sur couche mince (CCM)

Cette méthode se repose sur la séparation des différents constituants d'un extrait selon leur force de migration dans la phase mobile qui est en générale un mélange de solvant, adapté au type de séparation rechercher, et leur affinité vis-à-vis la phase stationnaire qui peut être un gel de silice ou de polyamide. Les techniques chromatographiques ne sont pas suffisantes pour identifier un produit mais elles apportent des renseignements (Rapport frontal- R_f - et coloration) susceptibles d'orienter vers une hypothèse de structures. Les analyses par CCM ont été effectuées avec des plaques à gel de silice, sur support rigide en aluminium. L'échantillon à séparer est solubilisé dans le méthanol (0,1g/ml), il est déposé sur la plaque à l'aide d'une micropipette (10 μ l) d'une façon perpendiculaire et linéairement, on peut

effectuer plusieurs dépôts successifs du même analyse en même endroit, cette pratique permet de concentrer l'analyse (Sine, 2003).

1. Phase mobile

Six systèmes de solvants organiques à polarités différentes ont été essayés.

- **Système 1** : Acétate d'éthyle/ Acide formique/Acide acétique /eau (100:11:11:26)
- **Système 2** : Butanol/ Acide acétique/eau (4:5:5)
- **Système 3** : Acétone/eau (1:1)
- **Système 4** : Butanol/ Acide acétique/H₂O (2: 3:5)
- **Système 5** : Acétate d'éthyle/Acide acétique glacial/Acide formique/H₂O
(100:3:11:25)
- **Système 6** : Chloroforme/Acide acétique glacial/ Méthanol/ H₂O (16:8:3:2)

2. Développement des plaques

Dans la cuve recouverte et préalablement saturée par les vapeurs du système solvant approprié ; Chaque plaque est déposée en position verticale ou légèrement inclinée. La phase mobile entraîne par capillarité les échantillons à étudier vers le haut de la plaque (Sine, 2003).

3. Expression des résultats

Après développement, les plaques sont séchées, puis visualisées séparément par une révélation physique sous lampe UV à 254 nm et 365 nm. Pour chaque spot on a calculé le facteur de rétention qui est égal à la distance parcourue par le constituant sur la distance parcourue par le solvant et les rapports frontaux des spots, ainsi l'identification des constituants de différents extraits (Vuorela *et al.*, 2005).

$$R_f = d/D$$

Dont : **d**, Distance parcourue par le constituant. **D**, Distance parcourue par le solvant.

II.3. Activités biologiques

II.3.1. Activité antibactérienne

L'étude du pouvoir antibactérien par cette technique a été identique à celui de l'antibiogramme, nous avons utilisé la technique de diffusion en milieux gélosés sur boîtes de pétri en adaptant la méthode de disques.

II.3.1.1. Préparation de milieu de culture

a. Gélose Muller Hinton

suspendre de 19g du milieu dans 500 ml d'eau distillée, bien mélanger et dissoudre par chauffage avec agitation fréquente, porter à ébullition pendant une minute jusqu'à dissolution complète. verser dans un récipient approprié et stériliser en autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

b. Gélose nutritive

Suspendre 14,5 g dans 500 ml d'eau distillé, chauffer jusqu'à la dissolution totale. Autoclaver à 121°C pour 15 minutes.



Photo 03 , Préparation des milieux de culture

II.3.1.2. Les souches bactériennes utilisées

Afin de tester le potentiel antibactérien d'extrait méthanolique, trois souches ont été utilisées :

Tableau 03 : Les souches utilisées dans la présente expérimentation

Espèce bactérienne	Caractéristiques	Maladies provoquées
<i>Escherichia coli</i>	Bacille, mobile, Gram négatif, pathogène.	Diarrhées, infection urinaire, méningite, septicémies.....
<i>Staphylococcus Aureus</i>	Cocci, immobile, Gram positif, disposés en amas ou en grappe de raisin.	Infections cutanées suppurées (furoncles, abcès à localisation variés.....) toxi- infection alimentaire.
<i>Listeria monocytogenes</i>	Gram positif, pathogène pour l'homme, bacille de petite taille, mobile	Listeria peut causer la listériose, une maladie grave, mais rare qui peut entraîner dans certains cas une infection du cerveau et même la mort.

II.3.1.3.Repiquage

Couler 20 ml de la gélose nutritive dans chaque boîte de pétri et laisser solidifier. Prendre une goutte de la suspension bactérienne étaler la goutte de suspension à la surface du milieu de culture sur boîte de pétri à l'aide d'une anse de platine stérile et incubé à 37 °C pendant 24 heures.

II.3.1.4.Préparation de la suspension bactérienne

Après le repiquage racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies, décharger l'anse dans 10 ml d'eau physiologique, prendre avec une pipette 1ml de la suspension bactérienne et ajouter 9 ml d'eau physiologique stérile, cette dilution est effectuée pour chaque type de la suspension bactérienne.

II.3.1.5. Ensemencement

L'ensemencement a été faite sur un milieu Géloses Muller Hinton (MH), coulées en boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4 mm (Les géloses sont séchées avant emploi), les étapes de l'ensemencement sont résumées comme suivant :

- ✓ Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne ;
- ✓ L'essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum ;
- ✓ Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées ;
- ✓ Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose ;
- ✓ Une série de dilutions (1/1,1/2,1/4 et 1/8) de l'extrait méthanolique dans le diméthylsulfoxyde (DMSO) est réalisée à partir d'une solution mère 200mg d'extrait méthanolique préalablement dissouts dans un ml DMSO.

II.3.1.6. Dépôt des disques et des extraits

L'opération d'application des disques au niveau de boites de Pétrie est résumée dans les étapes suivant :

- ✓ Des disques de papier filtre de 6,0 mm de diamètre (Wattman n° 1) sont imprégnés individuellement avec 15 µl d'extrait à différentes concentrations ;
- ✓ A l'aide d'une pince stérile on applique les disques à la surface des milieux déjà ensemencés ;
- ✓ Un disque de l'antibiotique (Gentamicine 30µl) est placé dans la boîte de Pétri comme contrôle positif ;
- ✓ Un disque imprégné de 5 µl de DMSO est utilisé comme témoin négatif ;
- ✓ Chaque test est réalisé en trois répétitions ;

✓ Les boîtes sont fermées et incubées à température ambiante pendant 20 min, ensuite dans une étuve à 37 °C /24 h.

II.3.1.7. Lecture

La lecture se fait après 18 à 24 h d'incubation à 37°C, l'obtention d'un halo clair autour du disque indique l'inhibition de la croissance microbienne. Le diamètre de la zone d'inhibition est mesuré en mm incluant le diamètre du disque.

Cette sensibilité est classée selon (Ponce *et al.*, 2003) comme suit :

- Non sensible pour un diamètre inférieur à 8 mm ;
- Sensible pour un diamètre de 9-14 mm ;
- Très sensible pour un diamètre de 15-19 mm ;
- Extrêmement sensible pour diamètre supérieur à 20 mm.



Photo 06 : Les différentes étapes de l'activité antibactérienne.

II.3.2. Activité antioxydante

L'activité antioxydante ne doit pas être conclue sur la base d'un seul modèle de test antioxydant et en pratique, plusieurs essais *in vitro* sont menés pour évaluer l'activité antioxydant avec les échantillons d'intérêt. Un test a été utilisé pour évaluer l'activité antioxydants des extraits: le test de DPPH (2,2-diphényl-1 -picrylhydrazyl).

II.3.2.1. Test scavenger du radical libre DPPH

Dans cette analyse la capacité antioxydante est déterminée par l'activité du balayage des radicaux libres en employant le radical libre stable DPPH ($C_{18}H_{12}N_5O_6$) qui est l'un des essais principaux employés pour explorer l'utilisation des extraits d'herbes comme antioxydants.

a. Protocole

Le DPPH• (1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl) est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe à 517nm. En présence de composés anti-radicalaires, le radical DPPH• est réduit et change de couleur en virant au jaune. Les absorbances mesurées à 517 nm servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH•, qui est proportionnel au pouvoir anti radicalaire de l'échantillon.

b. Mode opératoire

Cette méthode spectrophotométrique utilise le radical DPPH (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette comme réactif, qui vire au jaune, en présence de capteurs de radicaux libres, et se réduit en 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazine. Ceci permet de suivre la cinétique de décoloration à 517 nm. Pour cela l'effet de chaque extrait sur le DPPH est mesuré par la procédure décrite par (Benariba *et al.* 2013) avec quelques modifications. Cent microlitres (100 μ l) de chaque dilution de l'extrait ont été mélangés avec 900 μ l de la solution de méthanol de DPPH• à 0.004%. Après 30 min d'incubation à la température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance a été mesurée à 517 nm. Le contrôle négatif est composé de 100 μ l de méthanol et de 900 μ l de la solution de DPPH•. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standar; l'absorbance de l'acide ascorbique est mesurée dans les mêmes conditions que celles de l'extrait.

c. Expression des résultats

Le pourcentage d'inhibition (I %) du radical DPPH par les extraits a été calculé comme suit :

Abs_{Blanc}: absorbance du control négatif lue à 517 nm

$$I \% = ((Abs_{Blanc} - Abs_{test}) / Abs_{Blanc}) \times 100$$

Abs_{test}: absorbance de l'échantillon lue à 517 nm

La concentration inhibitrice de 50 % de l'activité du DPPH (IC₅₀) de chaque extrait a été par la suite calculée à partir de l'équation qui détermine le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'inhibiteur. Elle a été exprimée en mg / ml et comparée avec celle du acide ascorbique.

d. Calcul de l'activité anti radicalaire

PAR ou activité anti radicalaire qui est inversement proportionnel à la concentration d'inhibition médiane (IC₅₀).

$$PAR = 1 / IC_{50}$$



Résultats

et

Discussion

]



Résultats et Discussion

Notre travail porte sur l'étude phytochimique et l'évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne de l'extrait méthanolique de la partie aérienne d'*Atriplex halimus L.*

1. Détermination du rendement d'extraction

Le tableau 04 montre le rendement de l'extraction méthanolique de la plante étudiée.

Tableau 04 : Le rendement de l'extrait méthanolique d'*Atriplex Halimus L.*

La plante	Le poids du matériel Végétal en (g)	Couleur et Aspect de l'extrait	Poids d'extraction en (g)	Rendement en (%)
<i>Atriplex halimus l.</i>	40 g	Vert foncée	2,4g	6%

Le rendement a été déterminé par rapport au poids du matériel végétal sec rendu en poudre, les résultats ont été exprimés en pourcentage (P/P).

$$R\% = 2,4g / 40g \times 100 = 6\%$$



Photo 05 : La couleur de l'extrait méthanoïque sec.

Le rendement n'est pas relatif ; il varie en fonction de l'espèce végétale, l'organe utilisé dans l'extraction, les conditions de séchage, le contenu de chaque espèce en métabolites (de son métabolisme) et de la nature du solvant utilisé dans l'extraction. En outre, le rendement

varie d'une plante à une autre, semble être liée aux différents facteurs, propriétés génétiques de la plante ainsi qu'à l'origine géographique.

2. Tests phytochimiques

L'analyse phytochimique de l'extrait d'une plante médicinale est une étape préliminaire et d'une grande importance, puisqu'elle révèle la présence des constituants bioactives responsables des vertus thérapeutiques. Elle permet de déterminer les différentes familles de composés qui existent dans l'extrait méthanolique de *Atriplex halimus L.* par des réactions qualitatives de caractérisation, la mise en évidence de ces derniers nous permet d'avoir une bonne idée sur les activités pharmacologiques que possède la plante. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque famille de composés, les résultats obtenus sont consignés dans le tableau :

Tableau 05 : Résultats des tests phytochimiques de l'extrait méthanolique *Atriplex halimus L.*

Phytoconstituants	Réactifs	Observation	Résultat
Tanins	FeCl ₃ 1%	Coloration verdâtre	+
Flavonoïdes	HCl dilué à 1%	Apparition de couleur	++
	NH ₄ OH	jaune	
Coumarines	NH ₄ OH	L'apparition de fluorescence	+
Quinones libres	NaOH à 1%	Couleur jaune, rouge ou violette	+
Anthraquinones	NH ₄ OH à 10%	Coloration violette	-
Alcaloïdes	Mayer (+HCl)	Précipité blanc	-
	Wagner	Précipité brun	-
Stérols et triterpènes	Anhydride acétique Acide sulfurique	Couleur mauve, vert ou violette	-
Terpénoides	Chloroforme	2 phases (couleur marron à l'interphase)	+
	Acide sulfurique		
Saponosides	Agitation	Mousse persistante	++
Composés réducteurs	Liquueur de Fehling	Précipité rouge brique	++
	A+Liquueur de Fehling B		

(++) : Présence forte, (+) : présence faible, (-) : absence

Un screening phytochimique de la plante nous a permis de connaître les composants majoritaires présents : tanins, flavonoïdes, coumarines, quinones libres, terpénoïdes, saponines et des composés réducteurs.

En revanche, on note l'absence des anthraquinones, alcaloïdes, stérols et les triterpènes. Plusieurs recherches ont été effectuées sur l'analyse chimique des extraits et des huiles essentielles de l'*Atriplex halimus L.* par mieux ceux de (Benhamou et al., 2009), et de (Belhadj-Tahar, 2018), dont les résultats de cette dernière révèlent que l'évaluation préliminaire de la composition chimique des différentes parties traitées met en évidence la présence de quelques groupes chimiques : Saponines, Tanins, Flavonoïdes, Alcaloïdes, Stérols et triterpènes. Ce qui est comparable à nos résultats, à l'exception des alcaloïdes.

La composition chimique d'un végétal varie selon les espèces et au sein même d'une espèce. Elle dépend des conditions de culture (qualité du sol, climat, irrigation, traitements phytosanitaires) et de la période de récolte (précoce ou tardive).

La nature des principes chimiques mis en évidence par le criblage phytochimique laisse prévoir des activités pharmacologiques intéressantes de la plante étudiée. Il s'agit essentiellement des :

Flavonoïdes : souvent présentés comme antiallergiques, antiarthrogéniques, anti-inflammatoires, hépato-protecteurs, antimicrobiens, antivirale, antibactériens, anticarcinogénique, antithrombotique, cardioprotecteurs et vasodilatateur.

Tanins : considérés comme des anti-nutriments grâce aux divers effets nuisibles à savoir la digestion réduite des aliments, la faible biodisponibilité des micronutriments et les dommages du foie. Ils sont dotés d'un certain pouvoir astringent, par lequel on explique leurs propriétés vasculoprotectrices, cicatrisantes et anti-diarrhéiques.

Saponosides : Les saponosides possèdent des propriétés anti-inflammatoires et antioedémateuses.

3. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux est fait par la méthode de Folin-Ciocalteu. La quantification des composés phénoliques a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y=ax+b$) réalisé par une solution étalon (l'acide gallique) à différentes concentrations. La teneur en polyphénols totaux est exprimée en microgramme d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EAG}/\text{mg}$ d'extrait).

La figure 15 représente les résultats obtenus de la variation concentrations des polyphénols par rapport aux différentes concentrations de l'extrait.

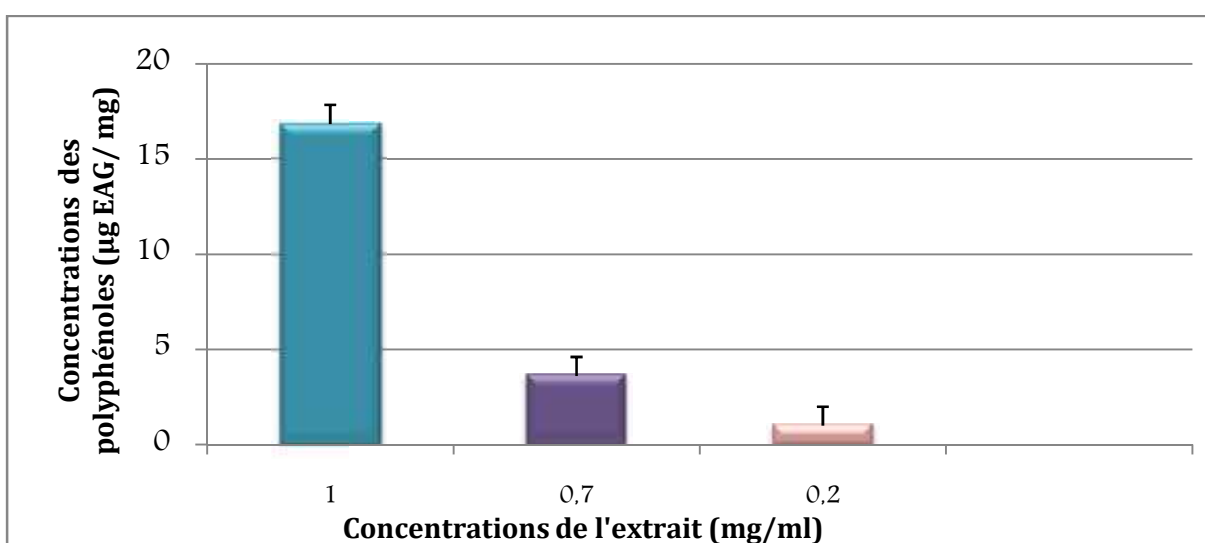


Figure15 : Teneurs en polyphénols pour les différentes concentrations.

Les résultats obtenus indiquent que l'extrait méthanolique d'*Atriplex halimus L.* possède une teneur en polyphénols totaux égale à $16,86 \mu\text{g EAG}/\text{mg}$ pour la première concentration, et $3,61 \mu\text{g EAG}/\text{mg}$ pour une concentration égale à $0,7 \text{ mg/ml}$, et pour la troisième concentration ($0,2 \text{ mg/ml}$) une teneur égale à $1 \mu\text{g EAG}/\text{mg}$.

Les teneurs en polyphénols totaux, trouvées par Benhammou, (2009), chez l'extrait des tiges d'*Atriplex halimus L.* sont ($3,77 \text{ mg EAG}/\text{g}$) et ($10,12 \text{ mg EAG}/\text{g}$) chez l'extrait des feuilles de la même plante.

La variabilité des résultats est due à la faible spécificité du réactif de Folin-Ciocalteu qui est l'inconvénient principal du dosage colorimétrique. Le réactif est extrêmement sensible à la réduction de tout les groupes hydroxyles non seulement celles des composés phénoliques,

mais également de certains sucres et de protéines ... etc. (Gomez-Caravaca *et al.*, 2006).

Le solvant d'extraction emporte des substances non phénoliques comme les sucres, les protéines et les colorants qui peuvent interférer pendant toute évaluation phénolique (Djeridane *et al.*, 2006). Le dosage par ce réactif donne donc une évaluation brute de tous les composés phénoliques d'un extrait. Il n'est pas spécifique aux polyphénols, mais beaucoup de composés peuvent réagir avec le réactif, donnant un taux phénolique apparent élevé (Tawaha *et al.*, 2007). Aussi, la variabilité des teneurs en polyphénols chez les espèces végétales est influencée par la composition phénolique de l'extrait, les facteurs génotypiques, les conditions biotiques, espèce, organe et l'étape physiologique et abiotiques (facteurs édaphiques), la nature du sol et le type du microclimat et aussi les étages bioclimatiques où pousse la plante.

4. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes comme 63 composés les plus intéressants des polyphénols sont aussi déterminés dans ce travail par la méthode du trichlorure d'aluminium. La teneur en flavonoïdes de l'extrait méthanolique d'*Atriplex halimus L.* est exprimée en μg équivalent de quercétine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EQ/mg}$).

L'histogramme suivant montre les résultats obtenus de teneur en Flavonoïdes.

La figure 16 représente les résultats obtenus de la variation concentrations des Flavonoïdes par rapport aux différentes concentrations de l'extrait.

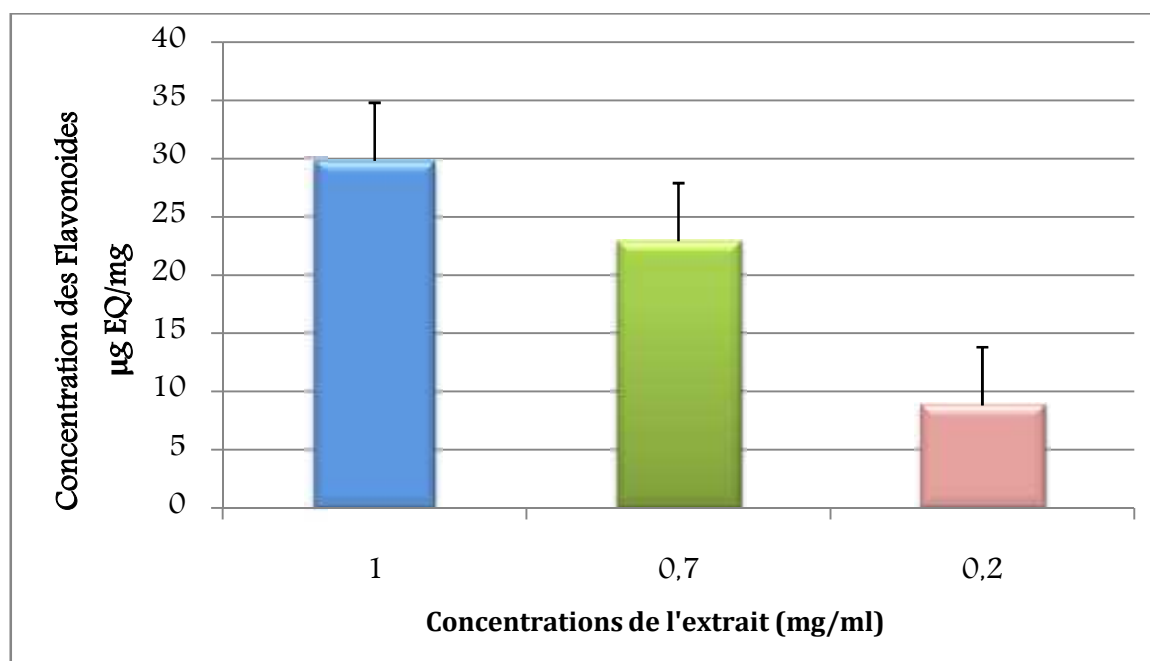


Figure 16 : Teneurs en Flavonoïdes pour les différentes concentrations.

D'après les résultats illustrés ci-dessus, nous avons observé la teneur en flavonoïdes dans l'extrait méthanolique, égale à 29,8 µg EQ/mg, 22,9 µg EQ/mg, et 8,81 µg EQ/mg, pour des concentrations respectivement égale à 1mg/ml, 0,7mg/ml, et 0,2mg/ml.

L'étude faite par **Belhadj-Tahar, (2018)**, a montré que l'extrait méthanolique a une teneur en Flavonoïdes égale à $0,120 \pm 0,003$ mg EQ/g MS. Ces faibles valeurs qui n'est pas similaire à notre résultats, peuvent être liées aux récolte, qui est effectuée en mois de Juin qui correspond au commencement de la chaleur dans la région du Sahara, donc la plante soumise à différents types de stress comme la sécheresse, la chaleur, les rayons ultraviolet, la pollution de l'air et les attaques des agents pathogènes.

5. Criblage phytochimiques par chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince est une technique permettant d'identifier les différents phyto composés de l'extrait méthanolique.

Tableau 06. Résultats d'analyse par CCM

Éluants	Spots: R _f (Couleur) (UV à 365nm)	Suggestion des classes des flavonoïdes (Markham, 1982)
Acétate d'éthyle/Acide formique/Acide acétique /eau	Sp1:0,8 (couleur rouge)	Anthocyanidine-3-glucoside
	Sp1:0,3 (jaune-vert)	Flavonols
	Sp2:0,7 (violet)	Flavonols, ou Flavonones, ou Isoflavones, ou Flavones
Butanol/Acide acétique/eau	Sp3: 0,9 (rouge)	Anthocyanidine-3-glucoside
	Sp1: 0,3 (rouge)	Anthocyanidine-3-glucoside
	Sp2: 0,4 (violet)	Flavonols, ou Flavonones, ou Isoflavones, ou Flavones
Acétone/eau	Sp1: 0,13 (bleu)	Acide phénol
	Sp2:0,2 (violet)	Flavonols, ou Flavonones, ou Isoflavones,ou Flavones
	Sp3: 0,9 (rouge)	Anthocyanidine-3-glucoside
Butanol/ Acide acétique/H2O	Sp1: 0,2 (jaune)	Flavonols
	Sp2:0,4 (bleu)	Acide phénol
	Sp3: 0,9 (rouge)	Anthocyanidine-3-glucoside
Acétate d'éthyle/Acide acétique glacial/Acide formique/	Sp3: 0,9 (rouge)	Anthocyanidine-3-glucoside
	Sp1: 0,6 (rouge)	Anthocyanidine-3-glucoside
Chloroform/Acide acétique glacial/ Méthanol/H2O		

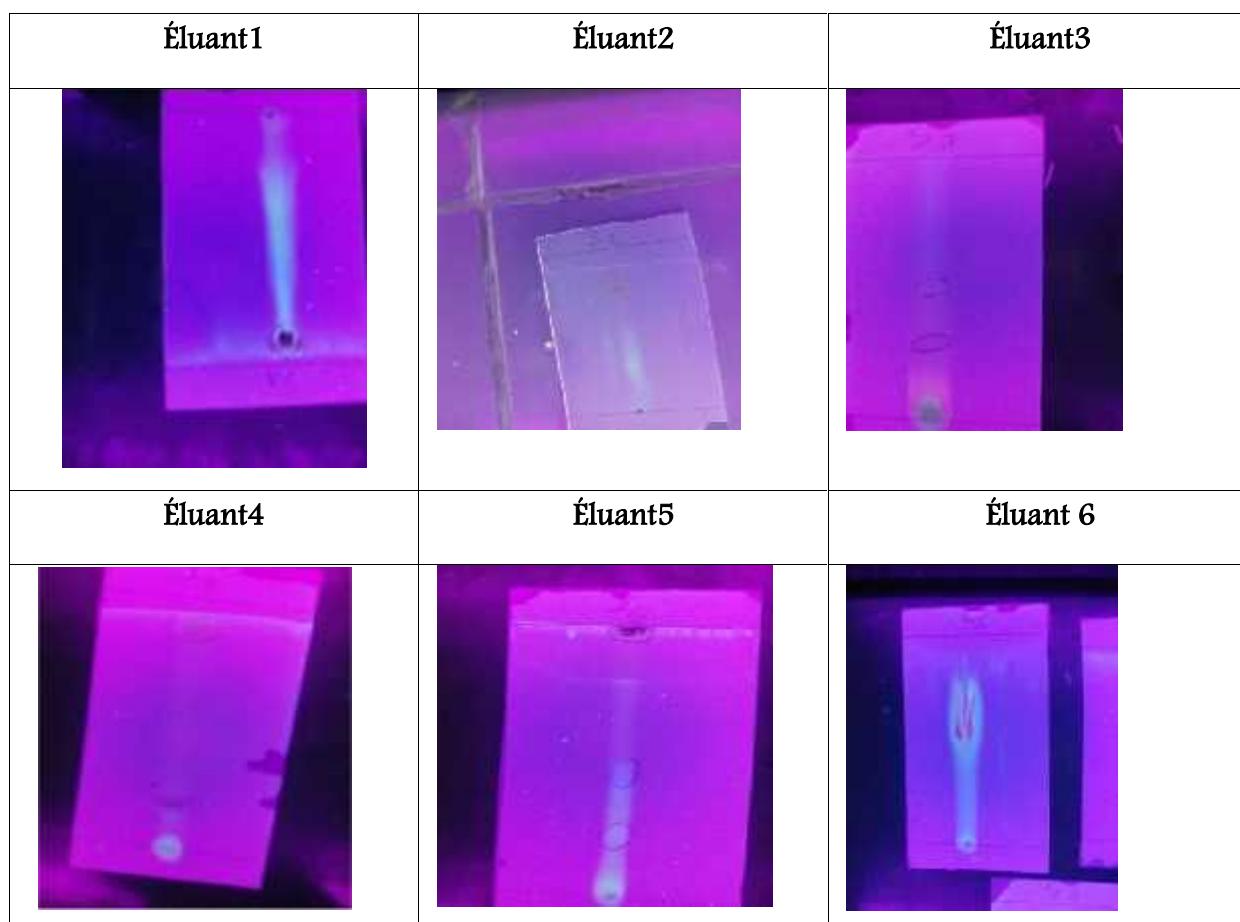


Figure 17 : Les résultats de plaque CCM.

D'après les suggestions des classes des flavonoïdes proposées par **Markham (1982)**, l'identification des composés phénoliques de notre plante nous a permis de mettre en évidence la présence de composants; flavones, flavonones ou les isoflavones en plus des flavonols, et l'anthocyanidine -3-glucoside dans l'extraits méthanolique d'*Atriplex halimus L.* Nous avons remarqué en particulier que certains flavonoïdes étaient très répandus chez la plante étudiée comme Anthocyanidine-3- glucoside. L'extraits méthanolique de l'*Atriplex halimusL.* est plus riche en composés phénoliques, ces résultat sont été confirmés en par le dosage des polyphénols.

6. Activités biologiques

a. Activité Antibactérienne

Les résultats de l'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait sont présentés ci-dessous dans le tableau 07:

Tableau 07 : valeurs de diamètres des zones d'inhibition (mm)

Souches	Dilutions					Témoin	
	Sm	1/1	1/2	1/4	1/8	Témoin positif	Témoin négatif
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25923)	-	7mm	-	-	-	30mm	-
<i>Staphylococcus Aureus</i>	-	7mm	8mm	-	-	32mm	-
<i>Listeria monocytogenes</i> (ATCC 7644)	8mm	9mm	-	-	-	30mm	-

*Sm: Solution mère (200 mg E-MOH/ 1ml DMSO)

Les résultats obtenus montrent une faible activité antimicrobienne de l'extrait de *Atriplex halimus L.* par rapport à celui de la gentamicine utilisée comme antibiotique de référence.

L'extrait méthanolique n'a, cependant, produit aucun effet vis-à-vis toutes les souches testées. Alors que, et selon **Shani (1972)**, l'*Atriplex halimus L.* renferme des substances polyphénoliques qui ont un effet antibactérien, notamment sur les bactéries Gram négatif. De plus, les travaux de **Bennejma (2017)**, sur *Atriplex inflata F.Muell* (Chenopodiaceae), décrivent que l'extrait de n-BuOH et du les composés isolés, présentaient une activité inhibitrice contre le *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*.

Le résultat négatif pour ces espèces bactériennes, peut signifier la résistance de ces dernières vis-à-vis l'extrait méthanolique d'*Atriplex halimusL.* Sachant que certains microorganismes peuvent d'ailleurs dégrader les composés phénoliques qui leur servent alors des substrats carbonés et favorisent ainsi leur croissance.

La figure 18 suivante montre les zones d'inhibitions d'extrait méthanolique

d'*Atriplex halimus L.*

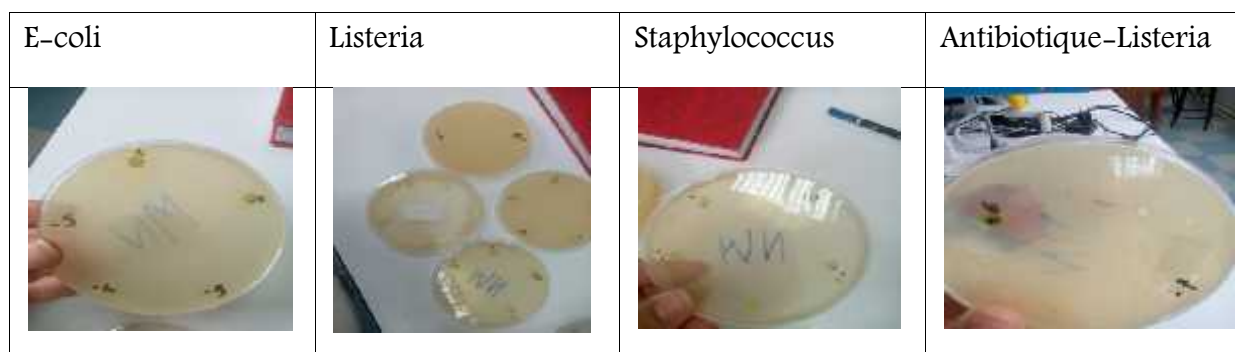


Figure18 : Les zones d'inhibitions de l'extrait méthanolique d'*Atriplex halimus L.*

b. Détermination de l'activité anti-radicalaire par la méthode de DPPH. (Effet scavenger)

Le radical DPPH est l'un des substrats les plus utilisés généralement pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicalaire et la simplicité de l'analyse (Bozin *et al.*, 2008). L'activité antioxydante est déterminée par la diminution de l'absorbance d'une solution alcoolique de DPPH• à 515nm, qui est due à sa réduction à une forme non radicalaire DPPH-H par les antioxydants (AH) donneurs d'hydrogènes présent dans l'extrait végétal ou par une autre espèce radicalaire (Maisuthisakul *et al.*, 2007 ; Da Silva Pinto *et al.*, 2008).

Les résultats de l'activité antioxydante exercée sur le radical libre DPPH sont exprimés par le paramètre IC₅₀. Ce paramètre a été employé par plusieurs groupes de chercheurs pour présenter leurs résultats, il définit la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH• (IC₅₀). Plus cette concentration est faible plus l'effet antioxydant est très élevé (Brand-Williams *et al.*, 1995; Atoui *et al.*, 2005)

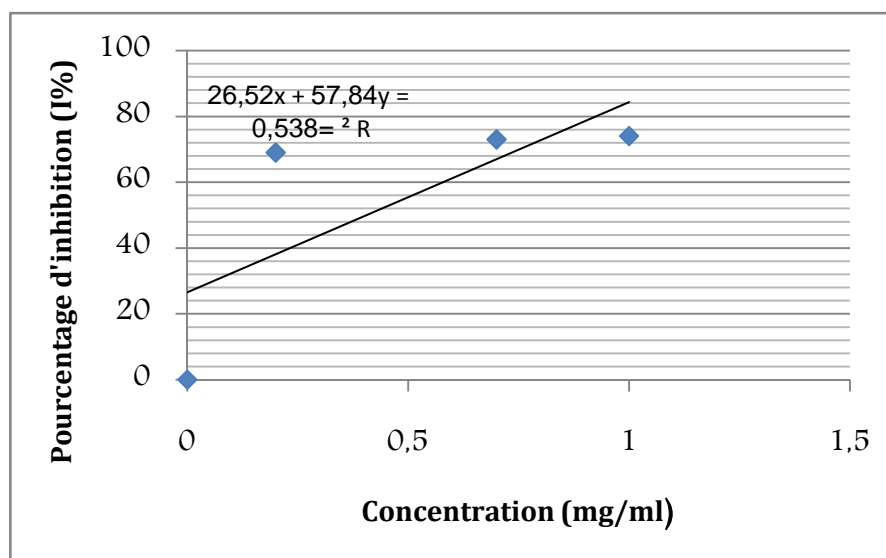


Figure 19 : Pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction des différentes

Concentrations de l'extrait.

D'après les résultats ci-dessus, on remarque que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente significativement avec l'augmentation de la concentration.

➤ **Calcul d'IC₅₀**

La concentration inhibitrice médiane (IC₅₀) est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé, car elle exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre à 50%. Plus la valeur d'IC₅₀ est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est élevée (Pokorny *et al.*, 2001).

La concentration d'échantillon nécessaire pour inhiber 50% du DPPH radicalaire, a été calculée par régression linéaire des pourcentages d'inhibition calculés en fonction de différentes concentrations d'extraits.

$$IC_{50} = 0,40 \text{ mg/ml}$$

➤ **Calcul de la PAR**

Un autre paramètre calculé à partir de la concentration efficace, c'est l'activité anti radicalaire. Plus ces valeurs ne tendent pas et s'éloignent du zéro, plus la puissance antioxydante augmente.

$$PAR = 1/ IC_{50}$$

$$PAR = 2,5$$

Les valeurs de l'IC₅₀ trouvées dans Les travaux de **BELHADJ-TAHAR (2018)**, pour *Atriplex halimus L.* sont inférieures à nos résultats. Selon les études, les polyphénols sont des supports majeurs de l'activité antioxydante. Le profil antioxydant in vitro et in vivo d'un grand nombre de polyphénols est déjà largement étudié. Cette activité est directement liée à la structure phénolique qui confère à la molécule la capacité de générer des radicaux libres stabilisés par résonance. En effet, la formation des radicaux peut modifier les réactions oxydatives radicalaires générées chez les humains. Les polyphénols empêchent la formation de telles molécules oxydantes très réactives et provoquent leur élimination avant d'endommager les constituants de la cellule.



]

Conclusion

et

Perspectives



Conclusion

Notre travail, est focalisé sur l'étude phytochimique et biologique à partir du fractionnement de l'extrait méthanolique brut de la plante médicinale *Atriplex halimus L.* de la famille des chénopodiacées, choisies sur la base de leurs usages traditionnels. L'objectif de notre travail est l'étude de quelques caractéristiques de l'*Atriplex halimus L.* par l'étude phytochimique, l'évaluation de sa teneur en flavonoïdes et polyphénols, la chromatographie sur couche mince ainsi que l'estimation *in vitro* des activités antioxydante et antibactérienne de cette plante. Les analyses ont été réalisées sur l'extrait méthanolique.

L'extraction des composés phénoliques des feuilles de la plante a permis d'obtenir des rendements (6 %). Suite au criblage préliminaire des différentes familles des métabolites secondaires contenues dans la plante investie : tanins, flavonoïdes, coumarines, quinones libres, terpénoides, saponosides, composés réducteurs ont été mis en évidence. Cependant les anthraquinones, les alcaloïdes, les triterpènes et les stérols sont absents dans l'extrait. Ainsi, le criblage par la CCM de l'extrait méthanolique a révélé la présence des différentes classes flavonoïques susceptibles d'exprimer les différentes activités recherchées.

L'extrait obtenu a été analysé quantitativement par spectrophotomètre UV-visible, ce qui nous a permis de déterminer les teneurs en phénols totaux, et en flavonoïdes.

L'évaluation de l'activité antibactérienne selon la méthode de diffusion en milieu gélosé (antibiogramme) a révélé que l'extrait méthanolique n'a, cependant, produit aucun effet vis-à-vis les trois souches bactérienne testées.

L'activité antioxydante de l'extrait méthanolique d' *Atriplex halimus L.* a été évaluée *in vitro* par la méthode de réduction de radical libre DPPH. Nos résultats montrent que l'effet de l'activité antioxydante est très élevé avec un $IC_{50}=0.40$ mg/ml et une activité antiradicalaire (PAR) égale à 2.5.

Perspectives

Nos perspectives d'avenir sont :

- L'étude de plusieurs extraits séparément puis l'isolement et l'identification des différents composés qui sont responsables des différentes activités biologiques de la plante.
- L'étude quantitative pour déterminer les quantités de chaque métabolite secondaire existé dans la plante.
- L'utilisation de divers techniques notamment la chromatographie et les méthodes spectrales pour l'élucidation structurale des métabolites qui sont responsables de ces activités biologiques.

Références bibliographiques

A

- Ababsa Z-A. 2012.** Etude d'activités biologiques des deux espèces : *Ammoides atlantica* et *Ranunculus bulbosus*, Mémoire de Magister En Biochimie appliquée Université Hadj Lakhder-Batna, pp.01-45.
- Abbad A, Cherkaoui M, Wahid N, El Hadrami A, Benchâabane A. 2004.** *Atriplex halimus* (Chenopodiaceae), A Halophytic species for restoration and rehabilitation of saline degraded lands. *Pakistan journal of biological Sciences* 7 (6):1085-1093.
- Antwerpen P-V. 2006.** Contribution à l'étude du pouvoir antioxydant de divers agents d'intérêt thérapeutique: Ciblage du système Myeloperoxydase/ Peroxyde d'hydrogène/Chlorure. Thèse de doctorat. Université libre de Bruxelles, pp.3-5.
- Ansari .K. N. 1997.** The free radicals-the hidden culprits-an update. *Indian Journal of Medical Sciences*, 51 ; p : 319-336.
- Achat S. 2013.** Polyphénols de l'alimentation : extraction, pouvoir antioxydant et Interaction avec des ions métalliques, thèse de doctorat, Université d'Abderrahmane Mira, Bejaia, p 211.
- Akroum, S. 2011.** Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels. Thèse Doct, Université de Constantine. 125p.
- Amara N., Melouk F.Z., 2016.** Activité Antimicrobienne des Extraits des Feuilles de la Vigne Sauvage (*Vitis vinifera sylvestris*). *Algerian journal of Natural Products*, 4(3): 358-366.
- Ayad R., 2008.** Recherche et détermination structurale des métabolites secondaires de l'espèce *zygophyllum cornutum*, Mémoire magister En Chimie Organique, université Mentouri Constantine. p 35-39, 40, 47.
- Ahmet, I., Anis, I., Malik, A., Nawaz, S.A., Choudhary, M.I. 2003.** Cholinesterase inhibitory constituents from *On osmahispidum*. *Chem. Pharmaceut. Bull.* 51(4):412-414.
- Ait Mimoun D. 2015.** Mémoire de fin d'étude, Variabilité phénotypique de deux populations naturelles d'*Atriplex halimus* L. Cas de Mostaganem, Tiout (Ain sefra – Naâma).
- AL-Turki T. A, Omer S, A. Ghqfoor. 2000.** A synopsis. Of the genus *Atriplex* L. (Chenopodiaceae) in Saudi Arabia; *Feddes Repertorium* 111 (2000). 5-6. 261 -293.
- Andrew P.2 004.** Les constituants des plantes médicinales, une introduction à la chimie et thérapeutique de plante médicinale. Allen & Unwin, Australia, p171.
- Anonyme. 1974.** La steppe Algérienne. *Rev. Statistique agricole* 14 ; 131p. Ministère de la révolution agraire. Algérie.
- Aguilera-Carbo, A., Augur, C., Prado-Barragan, L. A., Favela-Torres, E., Aguilar, C.N. 2008.** Microbial production of ellagic acid and biodegradation of ellagitannins. *Applied microbiology and biotechnology*.78(2):189-199.

B

- Benhammou N, Atik Bekkara F, Kadifkova Panovska T. 2009.**Antioxidant activity of methanolic extracts and some bioactive compound of *Atriplex halimus*. C. R. Chimie 12 1259–1266.
- Ben Nejma A, Znati M, Ngair A, Daich A, Othma, Lawson A.M, Ben Jannet H. 2016.** Phytochemical and biological studies of *Atriplex inflata*, F. Muell.: isolation of secondary bioactive metabolites. Journal of pharmacy and pharmacology.
- Bruneton, J. 2009.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4ème édition. Lavoisier Tec et Doc., Paris, 1240 p4.
- Bruneton J. 1999.** Pharmacognosie et phytochimie des plants médicinaux. 3eme édition. Lavoisier. Paris.
- Badiaga, M. 2011.** Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea Latifolia* Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali, thèse de doctorat, Université de Bamako.10 p.
- Blandine, Garait. 2006.** Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la glisodin R, biologie cellulaire. Université Joseph-Fourier – Grenoble I. Français.
- Benchâabane A. 1997.** Biotechnologie et sécurité alimentaire. Cas de l’*Atriplexhalimus* dans la production de viande de camelins et caprins dans la vallée du drâa (Maroc). Dans : Actualité scientifique : Biotechnologies, Amélioration des Plantes et Sécurité Alimentaire. Collection Universités Francophones. Ed. ESTEM, Paris, p. 169.
- Benrebikha F Z. 1987.** Contribution à l'étude de la germination de quelques espèce d'*Atriplex* locales et introduites. Thèse Magister. Université, Annaba. p119.
- Boubakri N.2007.**Etude phytoécologique des peuplements halophytes de deux espèces *Atriplex halimus* et *Lygeum spartum* dans le Nord de l'Algérie(Ouest-Sud Oranais).Thèse Doct, Université d'Oran, ES SENIA;p 231.
- Boussaid M., Ben fadhel N., zaouali Y., Ben salah A., Abdelhanafi A. 2001.** “Plantes pastorales en milieux arides de l’Afrique du Nord”, Options Médit., 46,55–59.
- Bouزيد, A., Benabdeli, K., 2011.** Contribution to the assessment of green biomass of *Atriplex halimus* plantation in arid western Algeria (region of Naaama). Rev. D Ecol.-La Terre et la Vie 66, 303–308.
- Bozin B, Mimica-Dukic N, Bogavac M, Suvajdzic L, Simin N, Samojlik I, Couladis M. 2008.** Chemical composition, antioxidant and antibacterial properties of *Achillea collina* Becker ex Heimerl s.l. and *A. pannonica* Scheele essential oils.13(9):2058–68.
- Belfadel A. 2013.** Etude phytochimique et évaluation in vitro de l’activité antibactérienne de la partie aérienne de la plante médicinale «*Rutamontana*». Mémoire de Master en Microbiologie. Univ. Abbès Laghrour, Khenchela.1–5.
- Benkiki N. 2006.** Etude phytochimique des plantes médicinales algériennes :

- Rutamontana, Matricariapubescens et Hypericumperfoliatum. Thèse de Doct d'Etat en chimie. Université. El-Hadj Lakhdar, Batna : 12-75.
- Bartosz G. 2003.** Generation of reactive oxygen species in biological systems. Comments on Toxicology, pp.9-21.
- Bouakaz I. 2006.** Etude phytochimique de la plante *Genista Microcephala*. Mémoire de magister, Batna. pp.100-1107.
- Boudet A-M. 2000.** L'usine chimique. 9^{ème} conférence de l'université de tous les savoirs. France. pp.116-120.
- Boyd B ; Ford C ; Koepke M-C ; Gary K ;Horn E ; McAnalley S. et McAnalley B. 2003.** Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé. *GlycoScience & Nutrition*. 4(6), pp.17-20.
- Bruneton. J. 1993.** Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales 2^{ème} Ed Tec et Doct. Paris.
- Benaissa O, 2011.** Etude des métabolismes terpénique et flavonique d'espèces de la famille des composées, genres *Chrysanthemum* et *Rhantherium*. ActivitéBiologique. Thèse Doct, université Mentouri Constantine. 63p.
- Boutakiout, A. 2015.** Etude physico-chimique, biochimique et stabilité d'un nouveau produit: jus de cladode du figuier de Barbarie marocain (*Opuntia ficusindica* et *Opuntia megacantha*). Ingénierie des aliments. Université d'Angers; Université Sultan Moulay Slimane (Maroc).
- Berger M.M. 2006.** Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 20 : 48-53.
- Bahorun, T. 1997.** Substances naturelles actives: la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle Food and agricultural resarch council, Réduit, Mauritius. Pp 83-94.
- Boullard, B. 1997** Dictionnaire: Plantes et Champignons, Edition ESTEM, p 55.
- Brunet S., 2008 ;** Analyse des mecanismes d'action antiparasitaire de plantes riches en Substances polyphénoliques sur les nématodes du tube digestifs des ruminants. Thèse (Dr. Pathologie et Nutrition), Toulouse : Université Paul Sabatier, 246 p.
- Benkherara S., Bordjiba O., Boutlelis Djahra A., 2011.** Etude de l'activite antibacterienne Des huiles essentielles de la *Sauge officinale* sur quelques entérobactéries pathogènes. Université Badji Mokhtar, BP12, Annaba 23000, *Revue Synthèse* (23). 107p.
- Bouzghaia B., 2013.** Etude phytochimique de la plante *Bassia muricata*, mémoire de Magister, Université Hadj Lakhdar, Batna, 95p.
- Brooker, N., Windorski, J., and Bluml, E. 2008.** Halogenated coumarin derivatives as novel seed protectants. *Commun AgricAppl Biol Sci*.73(2) :81-9.
- BELHADJ-TAHAR ,2018.** Caractérisation structurale de quelques métabolites secondaires issus de quelques plantes de la famille 'Amarantaceae' du Sahara septentrional. Thèse de Doct. Université. K.M. Ouargla .p 45.

C

- Curtay J.P, Robin J.M. 2000.** Intéret des complexes antioxydants centre d'étude et développement de la nutri thérapie. pp.60-63.
- Chahine, N. 2014.** Effet protecteur du safran contre la cardiotoxicité de la doxorubicine en condition ischémique. Thèse en cotutelle de Docteur en Physiopathologie, Université de Reims Champagne-Ardenne et l'Université Libanaise.
- Crozier A, Clifford M.N, Ashihara H. 2006.** Plant Secondary Metabolites. Occurrence, Structure and Role in the Human Diet. EdtBlack well Publishing Ltd. Thèse Présentée Par Mme Belyagoubi Née Benhammou Nabila, vol : 1.
- Collingborn F.M.B, Gowen S.R, Mueller-Harvey I. 2000.** Investigations into the biochemical basis for nematode resistance in roots of three *Musa* cultivars in response to *Radopholus similis* infection. *J. Agric. Food Chem*, P: 48, 5297-5301.
- Cowan. M. 1999.** Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin Microbiol Rev*, 12(4) ; p : 564-582.
- Chira K, Suh J.H, Saucier C, Teissèdre P.L. 2008.** Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*, 6: 75-82.
- Cheurfafa, M., Allem, R. 2015.** Study of hypocholesterolemic activity of Algerian *Pistacialentiscus* leaves extracts in vivo. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 25(2): 142-144.
- Collard J. 2014.** Stress oxydant. (WWW. Labocollard .be J. Collard: Stress oxydant.
- Cazes J, 2005,** Encyclopedia of chromatograph. Second Edition. Edition Taylor & Francis, p 1250.
- Cohen Y, Jacquot C. 2001.** Pharmacologie. 5 ème Ed. Masson. Paris. 350p.
- Cheriti A, Belboukhari N, Hacini S. 2000.** Plantes médicinales de la région de Bechar, Sud-ouest Algérien, Rapport CRSTRA, Algerie : 1-12.

D

- Dai J, Mumper R J. 2010.** Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules*. 15:7313-7352,
- Deina M, Rosa A, Casu V, Cottiglia F, Bonsignore L. 2003.** Natural product: their chemistry and biological significance. *Journal of the American Oil Chemistry Society*, vol. 80, p: 65-70.
- Delattre J, Beaudeau JL, Bonnefont D, Rousselot T, 2005,** Radicaux libres et stress oxydant. Disease. Edition Academic Press is an Imprint of Elsevier ; p 643.
- Dridi F, 2015,** Synthèse et caractérisation des dérivés quinoniques. Application du tannageet test biologiques. Thèse Doc en Sciences et génie des matériaux, Université M'hamed Bougara De Boumerdès, Algérie. p 7.

Djemoui D; 2012. Contribution à l'étude de l'activité antioxydante et antibactérienne de quelques coumarines synthétisées. Mémoire Master Academique, Spécialité : Chimie Appliquée, p : 53.

Delille L, 2007, Les plantes médicinales d'Algérie. Édition BERTI. Alger, 122.

Dibong S.D, Ottou P. B. M, Vandi D, Ndjib R. C, Tchamaha F. M, Mpondo E. M. 2015. Ethnobotanique des plantes médicinales anti hémorroïdaires des marchés et villages du Centre et du Littoral Cameroun. Journal of Applied Biosciences, 96, 9072-9093.

Djeridane A, Yousf M., Nadjemi B, Boutassouna D, Stocker P, Vidal N. 2006. Antioxydant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. Food Chemistry. 97, p. 645.

Descartes G.1987. Secret et vertus des plantes médicinales. Selection du Reader's Digest. S.A.O. Paris, ISBN.2-9.

F

Eiserich J P, Patel R P, O'Donnel V B. 1998. Pathophysiology of nitric oxide and related species: free radical reactions and modification of biomolecules. Molec. Aspects. Med, 19:222.

Erlund I. 2004. Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. Nutrition research, vol. 24(10), p: 851-874.

Enoiu M. 2001. Rôle pro-oxydant de la gamma-glutamyltransférase et de la gammaglutamyl transférase « related » dans la peroxydation lipidique.2.Thèse Université Henri Poincaré Nancy.

EFFENDI L, YAJUN Y. 2008. Functional expression of a P450 flavonoid hydroxylase for the biosynthesis of plant-specific hydroxylated flavonols in Escherichia coli. Metab. Eng. ; 8: 172-181.

El-Aasr M, Kabbash A, A. Abo El-Seoud K, Al-Madboly L, Tsuyoshi Ikeda. 2016. Antimicrobial and Immunomodulatory Activities of Flavonol Glycosides Isolated From *Atriplex halimus* L. Herb. J. Pharm. Sci. & Res. Vol. 8(10), 2016, 1159-1168.

El-Shatnawi, M.K.J., Turuk, M., 2002. Dry matter accumulation and chemical content of saltbush (*Atriplex halimus*) grown in Mediterranean desert shrublands. N. Z. J. Agric. Res. 45, 139-144.

F

Favier, A. 2003. Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. Mécanismes biochimiques. L'actualité Chimique, 108-115.

- Fleuriet A ; 1982. Aspects histochimiques et biochimiques de la cicatrisation des fruits de Tomate blessés. Zeitschrift für Pflanzenphysiologie, vol : 107, p : 259–268.
- Fraga.C. J., et Oteiza,P. I. 2011. Dietary flavonoides: Role of (-)-epicatechin and related procyanidins in cell signaling. Free Radical Biology & Medicine, : 51 ;p :813–823.
- Franclet A, Houérou H.N. 1971. The Atriplex in Tunisia and in North Africa, FAO, Rome, Document no. B 0020, 189– 246. Open journal of ecology vol 4, July, 29, 2014.
- Feras Q. Alali . TawahaK. 2009. Dereplication of bioactive constituents of the genus *Hypericum* using LC-(+, -)-ESI-MS and LC-PDA techniques. *Hypericum triqueterifolium* as a case study Saudi Pharm J. 2009 Oct; 17(4): 269–274.

G

- Gomez-Caravaca A.M, Gomez-Romero M, Arraez-Roman D, Segura-Carretero A, Fernandez-Gutiérrez A. 2006. Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 41 1220–1234.
- Ghnimi, W. 2015. Etude phytochimique des extraits de deux Euphorbiacées: *Ricinus communis* et *Jatropha curcas*. Evaluation de leur propriété anti-oxydante et de leur action inhibitrice sur l'activité de l'acetyl cholin estérase. Université de Lorraine.
- Guignard J.L.; 1998. Abrégé de botanique. Masson (Ed). Paris, p: 212.
- Guignard J.L., 2000, Biochimie végétale. Eddition Masson, PARIS .255 p.
- Ghestem A., Segun E., Paris M., Orecchioni A-M. 2001. Le préparateur en Pharmacie : Botanique-Pharmacognosie Phytothérapie - Homéopathie. Lavoisier Tec Et Doc, Paris ,273p.
- Grotewold E. 2006. The genetics and biochemistry of floral pigments. Annu Rev Plant Biol. Review. Pub Med PMID:166697. 57:761–80.
- Grace K, Pereira Paulo, M Donate, Sergio E, Galembeck. 1996. Electronic structure of hydroxylated derivatives of the flavylum cation, Journal of Molecular Structure (Theochem).
- Guignard J.L. 1996. Abrégé de biochimie végétale, Ed. Masson, Paris, 160.
- Girre A. 2006. Traditions et propriétés des plantes médicinales : Histoire des pharmacopées. Private Ed, SAS.Toulouse, p39.
- Glenn E.P, Hicks N, Riply J, Swingle S. 1995. Sea water irrigation of halophytes for animal feed. In ; Choukr-Allah R, Malcolm CV, Hamdi A; eds halophytes and biosaline agriculture. New York, Basel, Hong kong, p221–36.

H

- Hennebelle, T., Sahpaz, S., Bailleul, F. 2004. Polyphénols végétaux, sources, Utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 2(1), 3–6.
- Haslam E. 1994. Natural polyphenols (vegetable tannins): Gallic Acid metabolism. Nat. Prod, p 11: 41–66.

Halliwell B, Gutteridge JMC. 1989. Free radicals in biology and medicine. Oxford: Clarendon Press; p. 543.

Hattori I, Nakamura H, Masutai H et al. 2003. Thioedoxin-dependent redox regulation – implication in aging and neurological diseases. Critical review of oxidative stress and aging. RG Cutler and H Rodriguez Eds. World Scientific. Vol II pp 87 – 101.

Heim E.K, Tagliaferro A.R, Bobilya D.J. 2002. Flavonoid antioxidants:chemistry, métabolism and structure-activity relationships. The Journal of Nutritional Biochemistry. 13: 572-584.

Houée L, evin C, Sicard Roselli C, Bergès J. 2005. Chimie et Biochimie Radicalaires”, Belin edition.

Havsteen B.H. 2002. The biochemistry and medical significance of the flavonoids .Pharmacol. Therapeut, P : 96, 67– 202.

Harborn,J.,B. 1971. In the biology and chemistry of the umbel life rae, Heyweed. V, H. Ed academic Press. London.

Harborne J, Williams C. 2000. Advances in flavonoid research since 1992, Phytochimistry. 55: 481-504.

Hammoudi R., 2009. Contribution à la mise en évidence de principes actifs de plante *Teucrium polium geyrii* provenant de la région Tamanrasset. Diplôme de magister. Université d’Ouargla. 130 p.

Herbert R.B. 1989. The Biosynthesis of secondary metabolites. 2ème edition Chapman and Halle p 2, 11-115.

Hopkins, W.G. 2003. Physiologie végétale. Ed. De Boeck université. Paris. 514p.

Hamimed S., 2009. Caractérisation chimique des principes à effet anti dermatophyte des racines d’*Anacyclus pyrethrum L*, mémoire de magister, Université de Mentouri, Constantine, 138p.

Halliwell B, Gutteridge J.M. 1984. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. Biochem. J. 219: 1-14.

Halitim.1985. Contribution à l'étude des sols sales des zones arides (hautes plaines steppique de l'Algerie). Morphologie, distribution et rôle des sels dans la genèse et le comportement des sols. Thèse Doct. Es.Sci. Université. Renne. p164

Houérou H H. 1992. The role of salt bushes (*Atriplex* spp) in arid land réhabilitation in the Mediterranean basin: A review Agroforestry Systems. 18p.107-148.

J

Jacques B, André R. 2004. Biochimie métabolique Ed ellipses .Paris. pp. 217-223.

Jaime A, Yanez , Preston K. Andrews, Neal M, Davies B. 2007 . Methods of analysis and separation of chiral flavonoids, Journal of Chromatography. 848:p159-181.

Johnson J.W. 1991. Breeding for improved rooting potential under stress Condition I.N: Physiological environnement Montpellier, France 6Juil. 1989, Colloque INRA N°55: pp 307-317.

K

- Karaali A ; Boyacioalu D ; G nez G, Ozçelik B. 2004.** Flavonoids in fruit and vegetables : their impact on food quality, nutrition and health–STREP or CA. European commission's the 6 frame work programme for research. Istanbul technical university. Turkey. pp.90–99.
- Kohen R, Nyska A. 2002.** Oxidation of biological systems : oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions and methods for their quantification. *Toxicologic Pathology*. 30, pp. 120–150.
- Kanoun, K. 2011.** Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante Des extraits de *Myrtus communis* L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine).
- Krief S, 2003.** Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, thèse Doctorat, muséum national d'histoire naturelle. 32p.
- Khenaka S.S. 2011.** Effect of integral yoga on psychological and health variables and their correlations. *International journal of yoga*, vol : 4 (2), p : 93.
- Karama , M., Pegg, R.B, 2009,** Limitations of the tetramethylurexide assay for investigating The Fe (II) chelation activity of phenolic compound. *Journal of Agric. And Food Chem.* 57(14): 6425–6431.
- Khanbabae K and Ree T.R., 2000.** Tannins: Classification and Defenition. *Journal of Royal Society of Chemistry.* 18: 641–649.
- Kinet J.M., Benrebilha F ., Bouzid S., Lailhacer S ., Dutuit P.1998.** Les réseaux Atriplex Allier biotechnologies et écologie pour une sécurité alimentaire accrue en régions arides Et semi-aride cahier Agriculture, volume 7, n° 6,505–9.

L

- Lobstein, A. 2010.** Substances naturelles et pharmacognosie, les alcaloïdes, pp 3–25.
- Lugasi A., Hovari J., Sagi K and Biro L., 2003.** The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta. biologica. zegediensis.* 47 (1–4):119–125
- Laurinet.B, 2012.** initiation à la botanique et découverte des petits secrets du monde vert Interactions végétales conservation du jardin botanique de la ville paris science végétales.
- Luigia Longo, Giuseppe Vand Asapollo. 2006.** Extraction and identification of anthocyanins from *Smilax aspera* L. berries, *Food Chemistry*.; p226–231.
- Lutge U, Kluge M, Bauer G. 2002.** Botanique 3ème Ed : Technique et Documentation. Lavoisier .Paris. ; 211.

M

- Mansour A., 2009,** investigation phytochimique de l'extrait n-butanol de l'espèce *centaurea africana*, mémoire de magister, Université Mentouri Constantine, 103p.

Marfak A. 2003. Radiolyse Gamma des flavonoïdes, étude de leur réactivité avec les radicaux libres issus des alcools: formation des depsides, Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'université de Limoges.p330-333.

Marfak A. 2003. Thèse de doctorat Radiolyse Gamma des flavonoïdes ; Etude de leur réactivité avec des radicaux issus des alcools.pp.6-10.

Markham, K. R. 1982. Techniques of flavonoid identification. London: Academic Press.

Milane H. 2004. La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat.pp.100-110.

Mauro N, 2006. Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs: la (+)-anatoxine-a et La (±)- camptothécine. Thèse de docteur en chimie, université Joseph Fourier Grenoble I. 15-16.

Merabet, C., Menaifi, H. 2015. Etude phytochimique et évaluation des activités antioxydante et anti-inflammatoire de l'espèce: *Myrtus communis* L.

Malecky M. 2005. Métabolisme des terpenoïdes chez les caprins. Thèse Pour obtenir le grade de docteur de l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Agro Paris Tech, p : 9, 13-19, 20, 27.

Midoun T. 2011. Extraction Des Composés Phénoliques Etude Leurs Activités Antioxydant Par La Voltamètre Cyclique. Mémoire Présenté pour l'obtention du diplôme de Master, Spécialité chimie appliquée. Université Kasdi Merbah Ouargla, p: 53.

Mompon. B., Lemaire. B., Mengal. P., Surbled, M. 1998. Extraction des polyphénols : du laboratoire à la production industrielle. Ed. INRA, Paris (les Colloques, N° 87).

Marouf A, Reynaud J, 2007, La botanique de A à Z, Ed, Dunod, Paris, p177.

Mayer A.M. 2004. Resistance to herbivores and fungal pathogens: Variations on a common theme. A review comparing the effect of secondary metabolites, induced and constitutive, on Herbivores and fungal pathogens. Isrel Journal of Plant Sciences. Vol. (52): 279-292.

Milane, H., 2004. La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou Capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat. Strasbourg.

Maalem, S. 2002. Etude écophysiological de trois espèces halophytes du genre *Atriplex* (*A.canescens*, *A. halimus* et *A. nummularia*) soumises à l'enrichissement Phosphaté. Thèse de magistère en physiologie végétale et applications Biotechnologiques. Université Baji Mokhtar, Annaba, Algérie, 76p.

Maire R., 1962. Carte phyto géologique de l'Algérie et de la Tunisie. Baconnier. Alger.78p

N

Nauciel C. 2000. Bactériologie médicale. Masson (Ed).Paris : 276.

O

Ochocka R.J; Rajzer D; Kowalski ;Lamparczyk H; 1995. Determination of coumarins from *Chrysanthemum segetum*L. By capillary electrophoresis. Journal of Chromatography A, p: 709, 197-202.

Okuda T, Kimura Y, Yoshida T and Hatanv T 1983. Studies on the activities of tannins And Related coumpounds from medicinal plant and drugs. Inhibition effects of lipid peroxidation in mithchordria and microsome of liver. Chem pharm Bull, 31, 1625-1631.

Ortiz-Dorda J, Martinez-Mora C, Correal E, Simon B, Cenis J.L. 2005. Genetic structure of *Atriplex halimus* population in the Mediteranean bassin. Ann. Bot. 95.827-834.

P

Portes E. 2008. Synthèse et Etudes d Tétrahydrocurcuminoïdes : Propriétés Photochimiques et Antioxydants, Applications à la préservation de Matériaux d'Origine Naturelle .Université de bordeaux 1.pp.244-250.

Peronny, S. 2005. La perception gustative et la consommation des tannins chez le maki (*Lemur catta*).Thèse de Doctorat. Museum national d'histoire naturelle. PARIS.

Proch.zkov., D., & Boušov., I., & Wilhelmová, N. 2011. Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. Fitoterapia 82, 513-523.

Piquemal .G. 2008. Les flavonoïdes (en ligne) : http://www.detoursante.com/index.php?Option=com_content&view=article&id=166&Itemid=215'.

Powers, S.K., Jackson, M.J. 2008. Exercise-Induced Oxidative Stress: Cellular Mechanisms and Impact on Muscle Force Production/ Physiological Reviews.88 (4) :1243-1276.

Powers, S. and M. Jackson. 2008. "Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production." Physiol Rev 88: 1243-1276.

Paduch R., Kandefer-Szerszen K., Trytek M. et Fiedurek J., 2007, Terpenes: substances useful in human healthcare. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*. 55(5) : 315-327.

Q

Quezel P. Santa S. 1962. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. C.N.R.S. Paris.

R

Radi R. 2004. Nitric oxide, oxidants, and protein tyrosine nitration. Proc. Natl. Acad. USA. 101:4003-4008,

Renault-Roger, C., Philogene, B.J.R., Vincent, C. 2002. Biopesticides D'origine végétale. Edition Tec & doc, p.337.

Rousseau D, 2004, Psychological Contracts in the Workplace: Understanding the Ties that Motivate. The Academy of Management Executive. 18(1).120-127.

Richer, C.L., Chakrabarti, L., Senecal-Quevillon, M., Duhr, L.A., Zhang, X.X. et Tardif,

T. 1993. Cytogenetic effects of low-level exposure to toluene, xylene, and their mixture on human blood lymphocytes. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 64 : 581-585.

Rozema J, Schat H. 2012. Salt tolerance of halophytes, research questions reviewed in the perspective of saline agriculture, p13.

S

Soulère L, Viodé C, Périé J. and Hoffmann P. 2002. Selective Inhibition of Fe-versus Cu/Zn-Superoxide Dismutases by 2, 3-Dihydroxybenzoic Acid Derivatives. *Chem. Pharm. Bull.* 50:578-582.

Scalbert A., Williamson G., 2000, Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *Journal Of Nutrition*; 130: 2073-2085.

Shani J. Ahronson Z, Sulman FG. 1972. Insulin potentiating effects of salt bush (*Atriplex halimus*) ashes. *Isr J, Med, Sci* ; 8 :757_58 .

Saihi R., 2011, étude phytochimique, extraction des produits actifs de la plante *Artemisia campestris* de la région de Djelfa. Mise en évidence de l'activité biologique, Mémoire de magister, Université d'Oran, Oran, 76p.

T

Tessier F., Marconnet P. 1995. Radicaux libres, système antioxydant et exercice. *Science et sport.* 10 : 1-13.

Tang S. Y., Halliwell B, 2010. Medicinal plants and antioxidants: What do we learn from cell culture and *Caenorhabditis elegans* studies. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 394:1-5.

Tirichine H ., 2010. Etude ethnobotanique, activité antioxydant et analyse phytochimique de Quelques cultivars de palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*) du Sud-Est algérien. Mémoire De master en Ecophysiologie végétale, Université d'Oran, p : 14.

Tabuti J.R.S, Lye K.A, Dhillon S.S. 2003. Traditional herbal drugs of Bulamogi, Uganda: plants, use and administration. *J. Ethnopharmacology* 88: 19-44.

V

Vertuani S, Angusti A, and Manfredini S. 2004. The Antioxidants and Pro-Antioxidants Network: An Overview. *Curr. Pharm. Des.* 10:1677-1694.

Valko M ; Rhodes C- J ; Moncol J ; Izakovic M ; Mazur M. 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions.* 16, pp.30.40.

Vincken, J.P., Heng, L., De Groot, A., Gruppen, H., 2007, Review Saponins, classification And occurrence in the plant kingdom. *Phytochemistry*, 68 : 275-297.

Vartanian N, Lemée G .1984. La notion d'adaptation à la sécheresse, Bulletin de la Société Botanique de France – Actualités Botaniques, 131:1, 7-15.

W

Wolin, M.S. 1996. Reactive oxygen species and vascular signal transduction mechanisms. Microcirculation. 3(1):1-17.

Wolin, M.S., Ahmad, M., Gupte, S.A. 2005. Oxidant and redox signaling in vascular oxygen sensing mechanisms: basic concepts, current controversies, and potential importance of cytosolic NADPH. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 289(2):159-173.

Wichtl M, Anton R. 2009. Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Édition LAVOISIR, Paris. ; p 38- 41.

Watson, M.C.1990. *Atriplex* species as irrigated forage crops. Agric. Ecosystems Environ., 32: 107-118.

Walker D, Lutts S, Sanchez-Garcia M, Correal E. 2004. *Atriplex halimus* L; Uts biology and uses. Journal of Arid Env. 100-101; 111-121.

W. Brand-Williams, M. E. Cuvelier and C. Berse.1995. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. bensm.-Wiss. u.-Technol., 28.25-30.

Y

Yusuf Y; 2006. Implementation of enterprisere source planning in China. Technovation, vol : 26, p : 17,64-71.

Yang. R. Y., Lin S. et Kuo .G. 2008. Content and distribution of flavonoids among 91 edibles plant species. Asia of pacific journal of clinical nutrition. 17 (S1) ; p: 275-279.

YAAKOUB.2006. Evaluation "in vitro" de la dégradation des principaux fourrages des zones arides. Thèse de magister, Université de Batna, p160.

Z

Zakkad F, 2017, Etude phytochimique et évaluation de quelques propriétés biologiques de Trois espèces de l'Euphorbia thèse de Doct en Synthèse et développement des molécules bioactives, Universié Badji Mokhtar- Annaba. P 10, 10, 46,

Zimmer N et CordesseR. ,1996. Influence des tannins sur la valeur nutritive des aliments Des ruminants Ed INRA Prod Anim, 9 :167-179. Annual Review of Nutrition, 25, 151-175. nutrition.Spanish Journal of Agricultural Research, 2 (2), 191-202. Zoueglache S.

Zhang Wen Jing ., Lars Olof B., 2009. The effect of ultraviolet radiation on the accumulation of medicinal compounds in plants Fitoterapia FITOTE-01795; No of Pages 12.Extraction and analysis. Journal of pharmaceutical and biomédical analysis. (41).1523-1542.

Zagharia F, Abbou arbia A. 2018. Variabilité des caractères morphologiques des populations naturelles d'*Atriplex sup sp halimus* et *sub Schwinfruthii* cas Mostaganem,

Référence bibliographiques

oran, mémoire de Master agronomie; Université; Abd el hamid Iben badis, Mostaganem, p112.

Zid , Boukhris M .1977. Quelques aspects de la tolérance de l'Atriplex halimus auChlorure de sodium, multiplication, composition minéral. Oécol plant 12, p : 355 – 362.

Résumé

Atriplex halimus L. est une plante médicinale appartenant à la famille des chénopodiacées, cette espèce connue sous le nom de « **G'taff** ». Ce travail porte sur l'étude phytochimique de l'espèce *Atriplex halimus L.* ainsi que l'évaluation de l'activité antibactérienne et l'activité antioxydante.

L'extraction méthanolique des parties aériennes de cette plante par macération permet à l'obtention d'un rendement égal à 6%.

Les tests phytochimiques basant sur l'utilisation des techniques physicochimiques et spectroscopiques, montrent la présence des tanins, des flavonoïdes, des coumarines, des quinones libres, des terpénoïdes, des saponines et des composés réducteurs.

Les résultats du dosage des polyphénols et des flavonoïdes montrent que l'extrait méthanolique a une teneur en phénols totaux égale à 16, 86 µg EAG/ mg, 3,61 µg EAG/mg et 1 µg EAG/mg et une teneur en Flavonoïdes égale à 29, 8 µg EQ/mg, 22,9 µg EQ/mg, et 8,81 µg EQ/mg pour les dilutions 100%, 70% et 20 % respectivement.

Une investigation de l'activité antibactérienne, par la méthode de diffusion par disques, contre trois souches bactériennes, montre que L'extrait méthanolique n'a, cependant, produit aucun effet antibactérien face toute les souches testées.

L'évaluation quantitative du pouvoir piégeur des extraits vis-à-vis le DPPH confirme que notre extrait est plus actif, avec un IC₅₀ de l'ordre de 0,40 mg/ml.

On peut dire que la partie aérienne de *Atriplex halimus L.* est caractérisée par une activité antioxydante, vu de leur richesse en composés phénolique

Mots clés : *Atriplex halimus L.* flavonoïdes, polyphénols totaux, activité antibactérienne, activité antioxydante, DPPH.

Présidente : M ^{me} . KRIM Meriem	(M.C.B)	Univ. Abbès Laghrour- Khenchela
Promoteur : Mr. MAAMAR Hichem	(M.C.B)	Univ. Abbès Laghrour- Khenchela
Examinatrice : M ^{me} . DJEMIL Randa	(M.C.B)	Univ. Abbès Laghrour - Khenchela