

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
REPUBLICQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE
ET DE L'UNIVERS
DEPARTEMENT DE SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité/Option : Biologie moléculaire et cellulaire: Biologie moléculaire des procaryotes

**Thème : Etude de l'activité antioxydante et antibactérienne
de l'extrait méthanolique et butanolique d'une plante
médicinale «*Zygophyllum cornutum coss* »**

Présenté par :

Gasmi Amira

Kedjedja Naïma

Medjeldi Wahiba

Soutenu devant le jury composé de :

Président : Professeur M. BENOURETH, D.E

Examineurs : Docteur Zitouni

M^{elle} khenaka k (M.A.B)

Encadreur : M^{elle}. BOUMAZA A. (M.A.B)

Université 08 mai 1945 Guelma

Université 08 mai 1945 Guelma

Université 08 mai 1945 Guelma

Université 08 mai 1945 Guelma

Année Universitaire : 2011-2012

Remerciements

Nous exprimons tout d'abord notre profond remerciement à DIEU qui nous a donné le courage pour achever ce travail.

Nous exprimons nos profonds remerciements et notre vive reconnaissance à M^{elle}. Boumaza A, maître assistant B, faculté des SNV et STU - université Guelma, pour avoir accepté nous encadrer. Quelle trouve ici nos sentiments de gratitude et de déférence.

Nous remercions professeur Benouareth D.E pour avoir accepté d'assurer la présidence de jury de notre mémoire.

Nous tenons à exprimer notre très grande considération et notre vive connaissance à docteur Zitouni d'avoir faire partie de notre jury de mémoire.

Nous tenons à exprimer notre très grande considération et notre vive connaissance M^{elle} Khenaka Karima (M.A.B) d'avoir faire partie de notre jury de mémoire.

Nos sentiments de reconnaissance et nos remerciements vont également à l'encontre de toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.

Nous remercions nos collègues et nos amis pour les sympathiques moments qu'on a passé ensemble.

Dédicace

Je dédie ce travail à mes grands père « Hassan et Amar » et mes grands mère « Rabiha et Tafaha »

A Mon Père « Djamel »

Tes sacrifices et tes Prières m'ont permis de vivre ce jour. Rien ne pourrait exprimer la fierté, la reconnaissance et l'Amour que je te porte. Que Dieu le Tout Puissant te procure, santé et longue Vie.

A Ma Mère « Farida »

Avec tout mon amour pour ton soutien et tes encouragements. J'espère rester à la hauteur de tes espoirs. Ta bonté n'a d'égal que ta sagesse. Que Dieu te protège et t'accorde santé et longue Vie.

A Mes frères « Tarek, Seyf et Zaki »

Avec toute ma reconnaissance pour votre soutien moral et vos encouragements.

A Ma Soeur « Lamia »

Merci de ton aide précieuse. Avec toute mon affection.

Zui m'est très chère. A tous mes collègues et mes amies: Amira, Hiba, Abba, Hanene, Mira, Wafa, Soumia, Halouma...

A toute la famille Kedjedja et Merani

à tous ceux que j'aime et

Zui m'ont témoigné leur affection et leur soutien durant ces longues années.

Naima

Dédicace

Au terme de ce travail nous tenons à remercier avant tous mon Dieu

Aucune dédicace ne saurait exprimer tout ce que je ressens pour vous mes chers parents (Djamel et Aicha). Je vous remercie pour tout le soutien exemplaire et l'amour exceptionnel que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagnera toujours.

Je dédie mon modeste travail à mes frères Hamza, Sofiane, Nedjme Eldine et mes sœurs LINA, Chahrazed et son fils Nabil à qui je ne peux exprimer à travers ses lignes tous mes sentiments de gratitude et de tendresse envers vous Puis Dieu et la fraternité nous unissent à jamais.

A mon époux Tarek qui a m'encouragé à réaliser ce travail.

A mes chères tantes Fadda, Wassila et leurs petits enfants : Bizou et Tchrek et à toute la famille Gasmi et Merrouche.

A toute mes collègues et mes amies : Hiba, Naïma, Wafa, Lamya, Assia, Hanene, Amani, Hanadi, Douaa, Nassmine,

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Amira

SOMMAIRE

-Liste des abréviations.....	i
-Liste des figures.....	iii
-Liste des tableaux.....	iv
-Introduction.....	1
Chapitre I : Synthèse Bibliographique	
Introduction.....	3
I-1-La découverte des plantes médicinales.....	3
I-2- Domaine d'application des plantes médicinales.....	4
I-3-les plantes médicinales et la recherche pharmaceutique.....	5
I-4LaPhytothérapie.....	5
I-5-Les produits naturels des plantes et leurs activités biologiques.....	6
I-5-1-Types et origine des métabolites secondaires.....	6
I-6-La plante étudiée.....	9
I-6-1- Présentation et taxonomie.....	9
I-6-2- Description botanique.....	10
I-6-3- Usage thérapeutique.....	10
I-6-4-Etudes ultérieurs.....	10
I-6-5-composition chimique.....	11
II-Le stress oxydatif.....	11
II-1-Définition.....	11
II-2-Les radicaux libres.....	12
II-3-Balances oxydants-antioxydants.....	14
II-3-1-L'activité antioxydante.....	14
II-3-1-1- définition des antioxydants.....	15
II-3-1-2- Mécanisme d'action des antioxydants.....	15
II-3-1-3- Les antioxydants endogènes.....	16
II-3-1-4- Les antioxydants naturels.....	16
II-3-1-5- Quelques types d'antioxydants.....	17
II-4- Méthodes de détermination de l'activité antioxydante.....	19
II-5-La peroxydation lipidique.....	22
II-5-1-Conséquences des peroxydations lipidiques.....	24
III-Activité antibactérienne.....	24
III-1-Les bactéries étudiées et leurs rôles pathologiques.....	24
III-1-1- bactéries à gram négatif.....	24
III-1-2- bactéries à gram positif.....	26
III-2-Mécanismes de défense contre les bactéries.....	26
III-3- Actions des antibiotiques sur les bactéries.....	27
III-4- Principales familles d'antibiotiques et leur mode d'action.....	27
III-5- Mécanismes de résistances aux antibiotiques.....	27
III-6-Méthodes de détermination de l'activité.....	28
III-6-1- Aromatogramme.....	28
III-6-2-Microatmosphère.....	29
III-6-3-Technique par contact direct.....	30

Chapitre II : Matériel et méthodes

I-Matériel

I-1-Matériel végétal.....	33
I-2-Les animaux	33
I-3-Les souches bactériennes	33
I-4-Réactifs et produits chimiques.....	33

II-Méthodes de travail

II-1-Préparation du matériel végétal.....	33
II-2- Etude de l'activité antioxydante.....	34
II-2-1-Test de DPPH(<i>effet scavenger</i>).....	34
II-2- 2-Test d'inhibition de la peroxydation lipidique.....	34
II-2-2-1-Méthode du foie.....	35
II-2-2-2- Méthode du jaune d'œuf.....	35
II-3 - Etude de l'activité antibactérienne.....	36
II-3-1-L'Aromatogramme ou Méthode des Disques.....	36
II-3-2- Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI).....	37
II-4- L'analyse statistique.....	37

Chapitre III : Résultats et Discussion.....39

Conclusion et perspectives.....50

Références bibliographiques.....52

Résumés.....62

Annexel.....66

Annexe 2.....67

Produced with Scantopdf

LISTE DES ABREVIATIONS

AGPI	Acides Gras Polyinsaturés
BHT	Butyl-hydroxy-toluène
CE ₅₀	Concentration Effective
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
DL50	Dose Létale 50
DPPH	2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl.
EAR	L'indice de l'efficacité anti-radicalaire
EBZC	Extrait Butanolique de <i>Zygophyllum cornutum</i> .
EMZC	Extrait méthanolique de <i>Zygophyllum cornutum</i> .
ERO	Espèces Réactives de l'oxygène
GPx	Glutathion Peroxydase
GSH	Glutathion réduit
HHDP	Acides Héxahydroxydiphénique
H ₂ O ₂	peroxyde d'hydrogène
I %	Pourcentage d'inhibition
IC50	Concentration inhibitrice de 50 %
LDL	Lipoprotéine de basse densité
MDA	Malonyl di aldéhyde
NADP	Nicotineamideadeninedinucléotide phosphate
OH	Hydroxyle
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
RL	radicale libreERO
RSA	Radical Scavenger Activity
SDS	Sodium DodecylSulphate
SOD	superoxyde dismutase
TBA	Acide thiobarbiturique

TBARS	Espèces réactives de l'acide thiobarbiturique
TCA	Acide trichloroacétique
T_{EC50}	le temps nécessaire pour atteindre l'équilibre à CE_{50}
tgm	Tour par minute.
Φ -OH :	composés phénoliques

Produced with ScanTOPDF



LISTE DES FIGURE

Figure 1: structures de quelques Alcaloïdes.....	7
Figure 2. structures de quelques acides phénols.....	8
Figure 3 : structures de quelques classes des flavonoïdes.....	9
Figure 4: <i>Zygophyllum cornutum</i> Coss.....	9
Figure 5 : formation des radicaux libres.....	12
Figure 6 : Principales sources d'ERO (endogènes et exogènes).....	13
Figure 7 : Balances oxydants-antioxydants.....	14
Figure 8 : Exemple d'action des antioxydants.....	16
Figure 9 : La formation des antioxydants.....	18
Figure 10 : Structure chimique du radical libre DPPH* (2,2 DiPhenyle-1-Pikryl-Hydrazyle).....	19
Figure 11 : lésions cellulaires induites par les radicaux libres.....	23
Figure 12 : Mécanismes en chaine de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés.....	23
Figure 13 : Illustration de la méthode des aromatoigrammes sur boîte de Pétri.....	29
Figure 14 : Illustration de la méthode des microatmosphères.....	30
Figure 15: Schéma représentant la technique de contact direct.....	31
Figure 16 : Procédure de test de la sensibilité aux antimicrobiens avec diffusion en gélose par la méthode des disques.....	38
Figure 17 : Effet scavenger de l'EMZC et l'EBZC sur le radical DPPH.....	43
Figure 18 : Photo montrant l'effet antibactérien de l'EBZC (EB) et de l'EMZC (EM) Contre <i>Staphylococcus aureus</i>	46
Figure 19: Photo montrant l'effet antibactérien de l'EBZC (EB) et de l'EMZC (EM) contre <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	46
Figure 20 : Photo montrant l'effet antibactérien de l'EBZC (EB) et de l'EMZC (EM)Contre <i>klebsiellapneumoniae</i>	47
Figure 21: Photo montrant la détermination de la CMB de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (C0.75, C0.5, C1, C2, C3 et C4): les concentrations qui n'ont pas une croissance visible.....	48
Figure 22: Photo montrant la détermination de la CMB de <i>klebsiellapneumoniae</i> (C0.75, C1, C2, C3 et C4): les concentrations qui n'ont pas une croissance visible.....	48

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Principaux radicaux libres rencontrés en biologie.....	12
Tableau II : récapitulatif des résultats de l'activité antioxydante.....	40
Tableau III : Diamètre (mm) des zones d'inhibition des extraits végétaux actifs.....	41
Tableau IV : Diamètre (mm) des zones d'inhibition des extraits végétaux actifs.....	44
Tableau V : Concentration minimale inhibitrice de l'EBZC.....	45
Tableau VI: Valeurs de CMI, CMB et rapport CMB/CMI pour l'EBZC.....	49

Produced with ScanTopdf

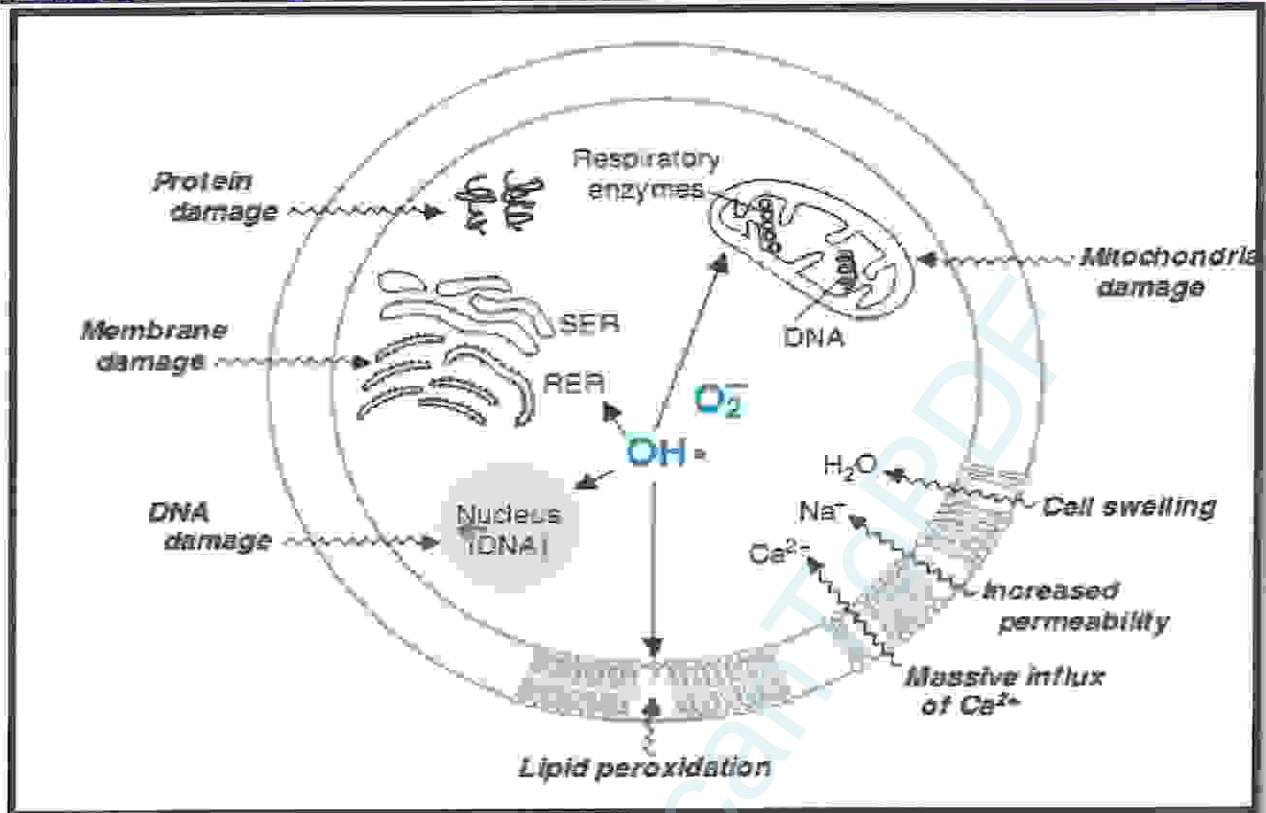


Figure 11 : Lésions cellulaires induites par les radicaux libres (Amzal Hassane., 2010)

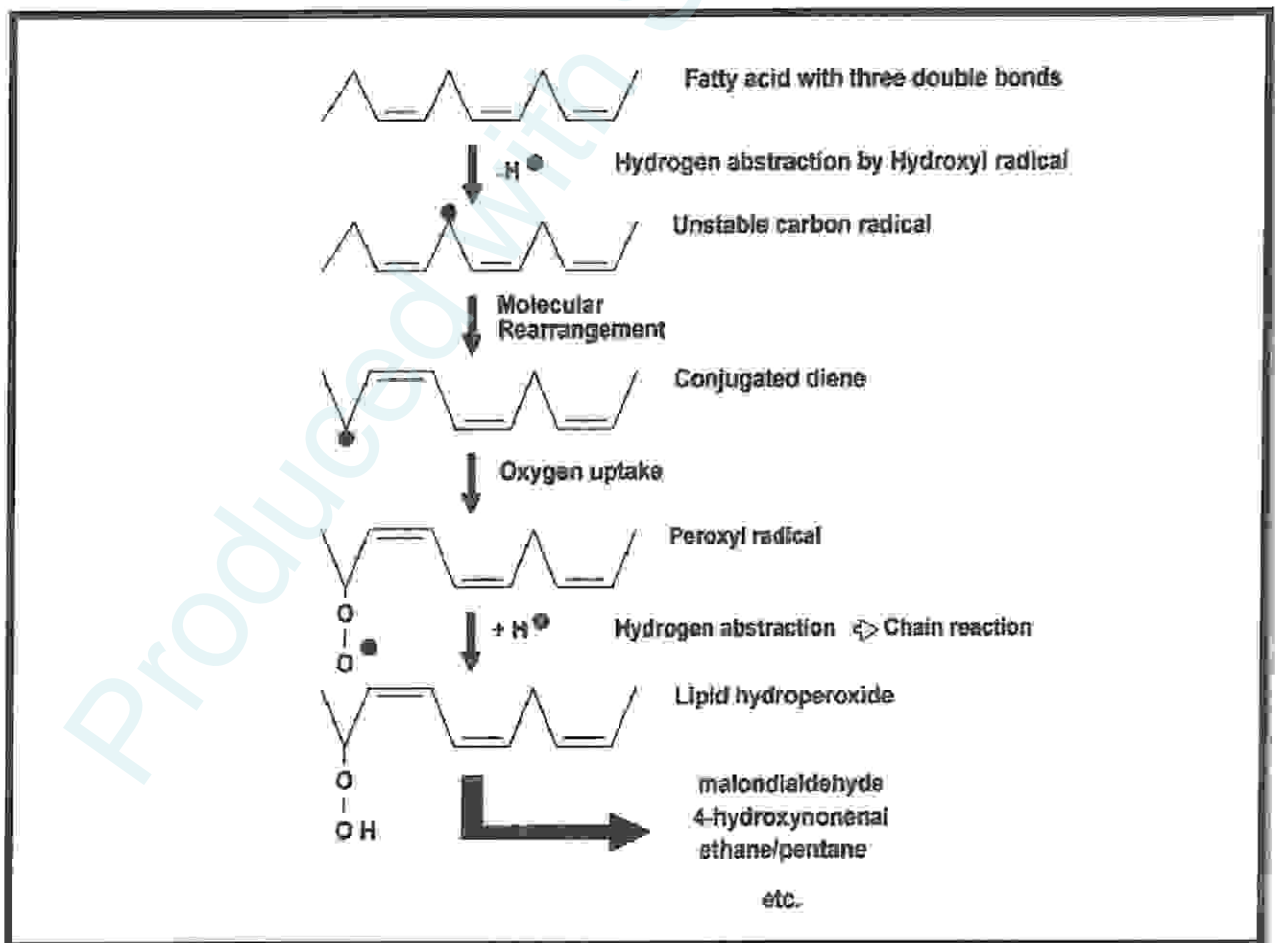


Figure 12 : Mécanismes en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés (Amzal Hassane., 2010).

Dans le genre *Pseudomonas* quelques espèces se signalent à l'attention, du fait de leur pouvoir pathogène opportuniste. *P.aeruginosa*, l'espèce type, est un germe ubiquiste communément rencontré dans le sol et plus encore dans les eaux, capable de se multiplier à 41°C (Leclerc H et al.,1995).

b-Famille des Entérobactéries

Ce sont des hôtes du tube digestif de l'homme et des animaux, mais aussi de nombreuses souches de cette famille ont été isolées de l'environnement aquatique ou terrestre. Les bactéries de cette famille se cultivent facilement sur milieux ordinaires et utilisent une très large variété de composés organiques simples comme source d'énergie: sucres, acides aminés, acides organiques. Elles sont anaérobies facultatives, bâtonnets, mobiles par cils péritriches ou immobiles, possédant des fimbriae appelés aussi pili communs, qui leur confèrent des propriétés hemagglutinantes, et dans certains cas, des propriétés d'adhésion aux cellules animales. La présence d'une capsule est parfois observée chez les *Klebsiella*. La plupart des Entérobactéries pathogènes se multiplient à la température optimale de 37°C (Leclerc H et al.,1995).

b-1-Genre *Escherichia*: Ce genre comprend 5 espèces, mais *E.coli* est la plus importante. Cette espèce est subdivisée en sérotypes sur la base des antigènes présents. *E.coli*, un hôte commun de l'intestin de l'homme (10⁸ / g de selles), et des animaux; elle est recherchée à ce titre, comme germe témoin de contamination fécale, dans l'eau et les aliments.

A l'intérieure de l'espèce il y a des pathotypes souvent associés à des sérotypes particuliers. Certains de ces pathotypes sont responsables d'infections intestinales (gastroentérites et diarrhées), leur pouvoir pathogène est induit par des facteurs d'adhésion et/ou la production d'entérotoxines. *E.coli* entéropathogène (diarrhées infantiles), *E.coli* entérotoxigène (tourista), *E.coli* entéroinvasif (invasion des cellules intestinales), *E.coli* entérohémorragique (diarrhées sanglantes), *E. coli* entéroadhérent (diarrhée du voyageur).

D'autres responsables de méningites néonatales, provoquent des infections du tractus urinaire, ou encore des septicémies qui correspondent à un nombre restreint de sérotypes (Leclerc H et al.,1995).

b-2-Le groupe K.E.S: C'est-à-dire *Klebsiella*, *Enterobacter* et *Serratia* ou groupe des acétoïne positive (un métabolite de leur fermentation). Il rassemble des espèces considérées depuis longtemps comme commensales, et actuellement responsables d'un grand nombre de complications infectieuses en milieu hospitalier. Les infections broncho-pulmonaires souvent dues à *K.pneumoniae* (1 à 5 % de toutes les pneumonies bactériennes) et plus rarement sont rencontrés *Enterobacter* et *Serratia*. Les bactéries K.E.S. provoquent 20 % des infections urinaires nosocomiales avec une prédominance de *K.pneumoniae*. Autres infections secondaires dues à des soins ou des gestes chirurgicaux: cutanées, vasculaires, péritonéales, vésiculaires ou des septicémies

Introduction.

Ces dernières années ont connu l'apparition de plusieurs affections sanitaires dont les maladies infectieuses et parasitaires et les maladies liées au stress oxydatif.

Les maladies infectieuses et parasitaires constituent un problème de santé publique à cause de leur fréquence et leur gravité. La situation est davantage plus préoccupante à cause de l'apparition des souches de microorganismes antibiorésistants et l'émergence des infections non communes qui compromettent les traitements à l'aide des médicaments existants. Ainsi que pour le stress oxydatif dont les informations sont débordées sur son rôle dans le déclenchement d'un certain nombre de maladies graves, telles que certains cancers, les maladies cardiovasculaires et les maladies dégénératives liées au vieillissement, et sur le rôle thérapeutique possible des antioxydants dans ces maladies.

Face à ces nombreux obstacles que présente l'utilisation des antibactériens disponibles et l'effet délétère du stress oxydatif, il est indispensable de rechercher de nouvelles substances antibactériennes efficaces, à large spectre d'action et douées d'activité protectrice contre le stress oxydatif. Une des stratégies pour cette recherche consiste à explorer les plantes utilisées en médecine traditionnelle.

L'Algérie est un pays doté d'une biodiversité très riche des plantes utilisées comme herbes, comme aliments naturels et pour des buts thérapeutiques. De nombreuses substances naturelles différentes ont été identifiées et beaucoup d'entre elles sont utilisées dans la médecine traditionnelle. Dans ce contexte, des efforts croissants sont consacrés au développement des agents thérapeutiques de ces plantes. C'est pourquoi nous nous sommes intéressés à étudier *Zygophyllum cornutum*, plante médicinale du Sahara algérien, connue dans la médecine traditionnelle principalement en tant que remède antidiabétique.

L'objectif de notre étude est de déterminer, *in vitro*, l'activité antioxydante et antibactérienne de l'extrait méthanolique et butanolique de cette plante.

- Pour l'activité antioxydante, deux tests complémentaires sont réalisés : le test de l'effet scavenger vis-à-vis du radical libre DPPH et le test de l'inhibition de la peroxydation lipidique sur deux milieux différents utilisés comme source de lipides.
- Pour l'activité antimicrobienne, la sensibilité de quatre souches bactériennes de référence ATCC est étudiée : une gram positif : *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) et trois gram négatif : *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603).

Synthèse Bibliographique

Produced with ScantOPDF

Introduction

Les plantes nous offrent gratuitement plus de composés nouveaux que tous les chimistes du monde ne pourraient jamais en synthétiser pendant mille ans d'efforts. Ils sont toujours mieux tolérés par l'organisme, parce qu'ils sont le produit naturel de la chimie de la vie (Dr Al-fred Taylor., 1973).

Aujourd'hui, les principes actifs des plantes sont des composants essentiels d'une grande partie de nos médicaments et produits de soins (Hans W. K., 2007). Malgré les multiples progrès de la médecine moderne, il ya un net regain d'intérêt vis-à-vis de la phytothérapie. Selon l'OMS (l'Organisation Mondiale de la Santé), plus de 80% de la population mondiale ont recours à la pharmacopée traditionnelle pour faire face aux problèmes de la santé (Farnsworth N. R et al., 1986). En effet, sur les 300 000 espèces végétales recensées sur la planète plus de 200 000 espèces vivant dans les pays tropicaux d'Afrique ont des vertus médicinales (Millogo H et al., 2005).

I-1-La découverte des plantes médicinales

Des plantes médicinales ont été employées pendant des siècles comme remèdes pour les maladies humaines parce qu'elles contiennent des composants de valeur thérapeutique (Sobia Nisal et al., 2011). Récemment, l'acceptation de la médecine traditionnelle comme forme alternative de santé et le développement de la résistance microbienne aux Antibiotiques disponibles a mené des auteurs à étudier l'activité antimicrobienne des plantes médicinales (K. Das et al., 2010).

Dans les civilisations chinoises, indienne (médecine ayurvédique) ou aztèque, on trouve la trace d'utilisations médicinales très anciennes. Le premier livre de matière médicinale, le Shen Nung Ben Cao Jing « traité des plantes médicinales de l'empereur Shen Nung », fut rédigé vers 2900 avant J-C, 4000 ans avant J-C, les populations babyloniennes et sumériennes utilisaient les plantes pour se soigner : 600 tablettes d'argiles mentionnent 1000 plantes pour leurs vertus curatives et plus de 800 remèdes sont décrits par les Egyptiens. Le soin de la peau a commencé 3,000 ans avant naissance du christ, quand les Egyptiens ont enregistré en forme hiéroglyphique le soin de la peau sur des peintures de mur de temple.

Les grands médecins grecs, dont le plus célèbre est Hippocrate (5^e siècle av. G-C), utilisaient couramment les narcotiques, les laxatifs ou des émétiques (Vomitifs).

A l'apogée de l'empire arabe (dont les frontières allaient de l'Inde ce l'Espagne), tous les documents écrits furent réunis à Bagdad dans la plus grande Bibliothèque de l'époque (entre le 7^e et 9^e siècle). Les Arabes avaient aussi leurs spécialistes en médecine et en pharmacie : Abu Bakr al-Razi ou Rhazés (865-925), fut l'un des grand médecins de son temps et aussi le précurseur de la

psychothérapie. Il fut suivi par Ibn Sina ou Avicenne (980- 1037) qui écrivit le « canon de médecine ». Ce livre servira de base à l'enseignement de la médecine dans les universités de Louvain et de Montpellier jusqu'aux environs de 1650. Ibn Baytar (1197-1248) rédigea le très complet **somme des simples** : ce livre contenait une liste de 1400 préparation et plantes médicinales (Dweck A, C., 2002).

I-2- Domaine d'application des plantes médicinales

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en dermatopharmacie. Parmi ces composés on retrouve dans une grande mesure les métabolites secondaires qui se sont surtout illustrés en thérapeutique. La Pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale et la recherche trouve chez les plantes des molécules actives nouvelles, ou des matières premières pour la semi-synthèse. (Baborun T., 1997).

Il y a eu donc un réveil vers un intérêt progressif dans l'utilisation des plantes médicinales dans les pays développés comme les pays en voie de développement, parce que les herbes fins guérissent sans effet secondaire défavorable. Ainsi une recherche de nouvelles drogues est un choix normal. (Scientific correspondance., 2003), donc il y a plusieurs domaines d'application :

• En médecines :

- En urologie, dermatologie, gastrites aiguës, laxatif, sommeil et désordres nerveux. (Katya P ; Janice B., 1999), Systems cardiovasculaires, par exemple: Flavoce est un médicament constitué par la flavone non substituée en combinaison avec la rutine et isoquercétine. Il est utile dans le traitement de l'athérosclérose. (Narayana K et al., 2001).
- Contre le diabète (*Azadirachtaindica*), (AmjadHossain., 2005).
- Activité antimicrobienne, antivirale, antiparasitaire : les produits naturels des plantes depuis des périodes très anciennes ont joué un rôle important dans la découverte de nouveaux agents thérapeutiques par exemple : la quinine obtenue à partir du « *Quinquina cinchona* » a été avec succès employée pour traiter le malaria (Dastidar S.G et al., 2002). L'arbre de thé (*Melaleucaaltrunifolia*) est renommé pour ses propriétés : antibactériennes, anti-infectieux, antifongiques et antivirales (Katya P Svoboda and Janice B Hampson., 1999), (*Azadirachta indica*, *Aloe vera*, *curcuma longa*... etc.) aussi comme antivirales (Amjad Hossain., 2005 ; Lori Lyons et Devan Nambiar., 2005). Mais il n'a été possible de trouver aucune plante aussi efficace que les médicaments antirétroviraux pour arrêter la réplication du VIH. (Lori Lyons et Devan Nambia., 2005).

- **En agriculture** : exemple : l'arbre *Azadirachta indica*, qui se développe dans tout le subcontinent indien, est l'une des plantes médicinales les plus importantes au Bangladesh. Les huiles de cet arbre ont des utilisations dans l'agriculture pour le contrôle de divers insectes (Amjad Hossain., 2005).
- **En alimentation** : Des assaisonnements, des boissons, des colorants (Katya Savoboda et Hampson., 1999), et des composés aromatiques, les épices et les herbes aromatiques utilisées dans l'alimentation sont pour une bonne part responsables des plaisirs de la table (Delaveau P., 1987), considérés comme condiments et aromates.
- **En cosmétique** : des produits de beauté, parfums et articles de toilette, produits d'hygiène (Porter N., 2001).

I-3-les plantes médicinales et la recherche pharmaceutique

La médecine traditionnelle et moderne a des approches des médicaments radicalement différentes. La médecine traditionnelle s'appuie sur un savoir empirique établi depuis des milliers d'années, seuls l'usage et les succès d'une préparation à base de plantes ont validé l'efficacité du traitement ou du moins fait de réputions.

Il en va autrement de la médecine moderne qui, avant de mettre un nouveau médicament à disposition, doit avoir démontré son efficacité avec un minimum d'effets secondaires, chez l'animal puis chez l'homme, ce qui nécessite 10 à 15 ans d'études. Néanmoins, l'efficacité de quelques plantes médicinales a été démontrée expérimentalement grâce à la pharmacologie et certaines molécules responsables de ces activités sont devenues des médicaments majeurs de la médecine moderne. L'industrie pharmaceutique reconnaît donc les plantes comme une source de nouvelles molécules actives et de nouveaux médicaments ; pour exploiter ce potentiel, une stratégie de recherche a été mise en place, s'appuyant sur la médecine populaire et sur l'exploration de la biodiversité. (Hallé F et Lieutaghi P., 2008)

I-4-La Phytothérapie

La phytothérapie est le traitement des maladies par des plantes (Françoise H. D., 2007). Ce terme vient du grec : « phytos » : la plante et « thérapiea » : la thérapie (Grosmond G., 2001).

La phytothérapie à la différence de la médecine classique, recommande d'utiliser la plante entière, appelée aussi "totum" plutôt que des extraits obtenus en laboratoire. Une plante entière est plus efficace que la somme de ses composants. Les plantes contiennent des centaines voire des milliers de substances chimiques actives (Iserin P et al., 2001). Toutefois, malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre de multiples avantages. De tout

temps, à l'exception de ces cent dernières années, les hommes n'ont eu que les plantes pour se soigner, qu'ils s'agissent de maladies bénignes, rhume ou toux, ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria.

Aujourd'hui, les traitements à base de plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments contre les bactéries a diminué et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistent de plus en plus; c'est pourquoi on utilise à nouveau l'absinthe chinoise (*Artemisia annua*) et surtout son principe actif pour soigner la malaria lorsque les protozoaires responsables de la maladie résistent aux médicaments. (Hamdi Pacha et al., 2002).

I-5-Les produits naturels des plantes et leurs activités biologiques.

Les produits naturels des plantes peuvent être classés en deux catégories, les métabolites primaires et les métabolites secondaires, mais la différence entre eux est très petite voir arbitraire et dépend du niveau de connaissance (Jacque Livendron.,1996).

- ✓ **les métabolites primaires:** Ils ont un rôle essentiel pour le métabolisme et le développement végétal, se retrouvent dans toutes les espèces.
- ✓ **I-5-2-Les métabolites secondaires:** Ils sont des molécules qui ne participent pas directement au développement des plantes mais plutôt interviennent dans les relations avec les stress biotiques, abiotiques ou améliorent l'efficacité de reproduction. Ils sont différents dans les différentes espèces

I-5-1-Types et origine des métabolites secondaires

La plante est le siège d'une intense activité métabolique aboutissant à la synthèse de principes actifs les plus divers, Ce processus métabolique est lié aux conditions mêmes de vie de la plante : la plante doit faire face à de multiples agressions de l'environnement dans lequel elle vit : prédateurs, microorganismes pathogènes...etc. On conçoit donc que la plante puisse développer un métabolisme particulier lui permettant de synthétiser les substances les plus diverses pour se défendre : les métabolites secondaires.

- **les Terpénoïdes :** Ils sont formés par la polymérisation des unités à 5 atomes de carbon. Le nom a une origine historique car les premiers membres du groupe ont été isolés de la térébenthine (terpentin). Ils sont appelés aussi isoprénoïdes car leur dégradation thermique libère le gaz isoprène. Mais l'isoprène n'est pas le vrai précurseur des isoprénoïdes.
- **les Alcaloïdes :** sont des produits d'origine végétale, basiques, contenant de l'azote et sont pharmacologiquement actifs. Les alcaloïdes sont utilisés aussi comme antalgiques majeurs (morphine), antipaludéen (quinine), pour combattre l'excès d'acide urique (colchicine), comme substance paralysante/stimulante (curare,

caféine), comme poisons (strychnine, nicotine), comme stupéfiants (cocaïne, mescaline), comme cholinergique (pilocarpine) ou comme anticancéreux (vinblastine, vincristine) (figure 1). Ils sont aussi de forts antimicrobiens (Moroh J. et al. 2008).

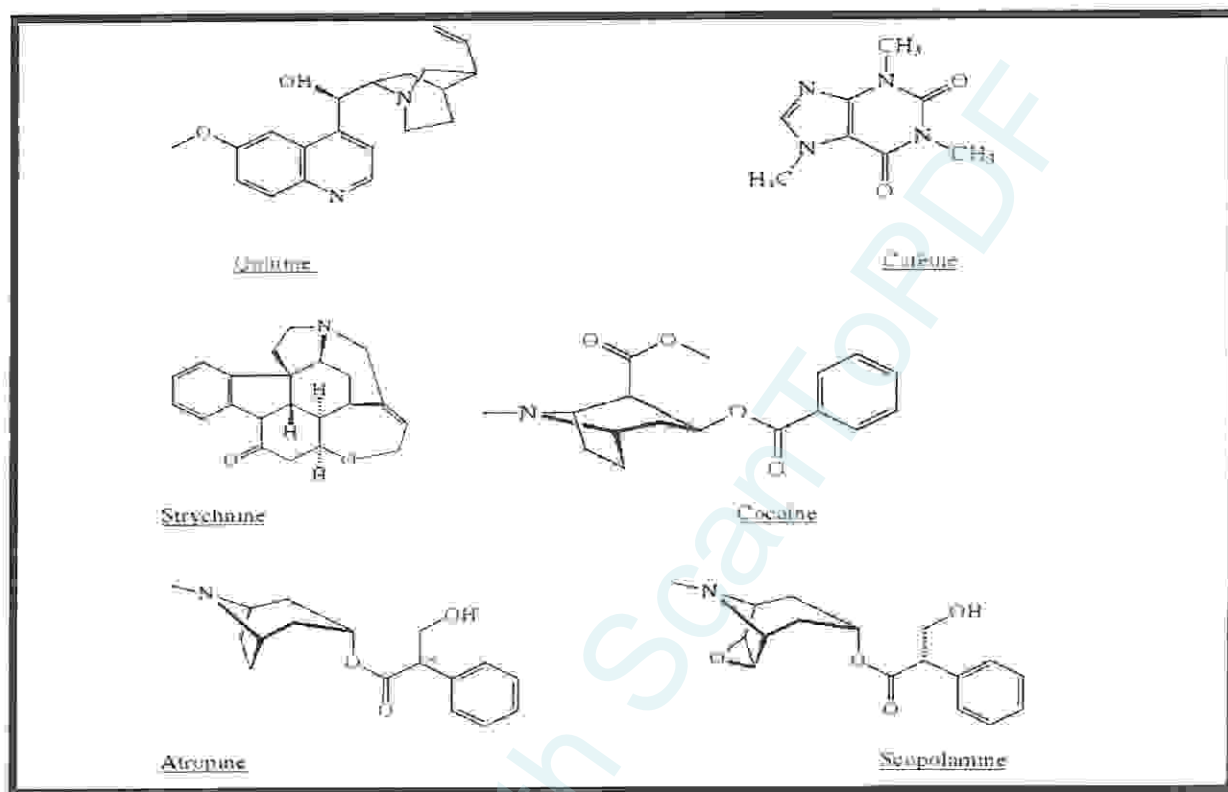


Figure 1: Structures de quelques Alcaloïdes (Michelline M. R. K., 2009).

➤ composés phénoliques

- **Les polyphénols** : L'appellation « polyphénols » ou « composés phénoliques » regroupe un vaste ensemble de plus de 8000 molécules, divisées 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) (Tapiero et al., 2002). Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux et présents dans tous les organes de la plante (Lugasi et al., 2003). Les composés phénoliques (acides phénoliques, tannins et flavonoïdes) forment le groupe des composés phytochimiques le plus important des plantes (Beta et al. 2005).
- **Les acides phénoliques** : Les acides phénoliques sont contenus dans un certain nombre de plantes médicinales (Psotová et al., 2003). Comme exemple: acide chlorogénique, acide caféique, acide Protocatéchique, acide vanillique, acide férulique, acide sinapique et acide gallique (Hale, 2003). Ils sont considérés comme substances phytochimiques avec des effets antioxydants et anti-

inflammatoires. Pharmacologiquement, le mieux caractérisé est l'acide caféique (Psotová et al., 2003). L'acide férulique et l'acide caféique empêchent la formation du cancer des poumons chez les souris, l'acide gallique inhibe la formation du cancer oesophagien chez les rats (Hale., 2003)(figure 2).

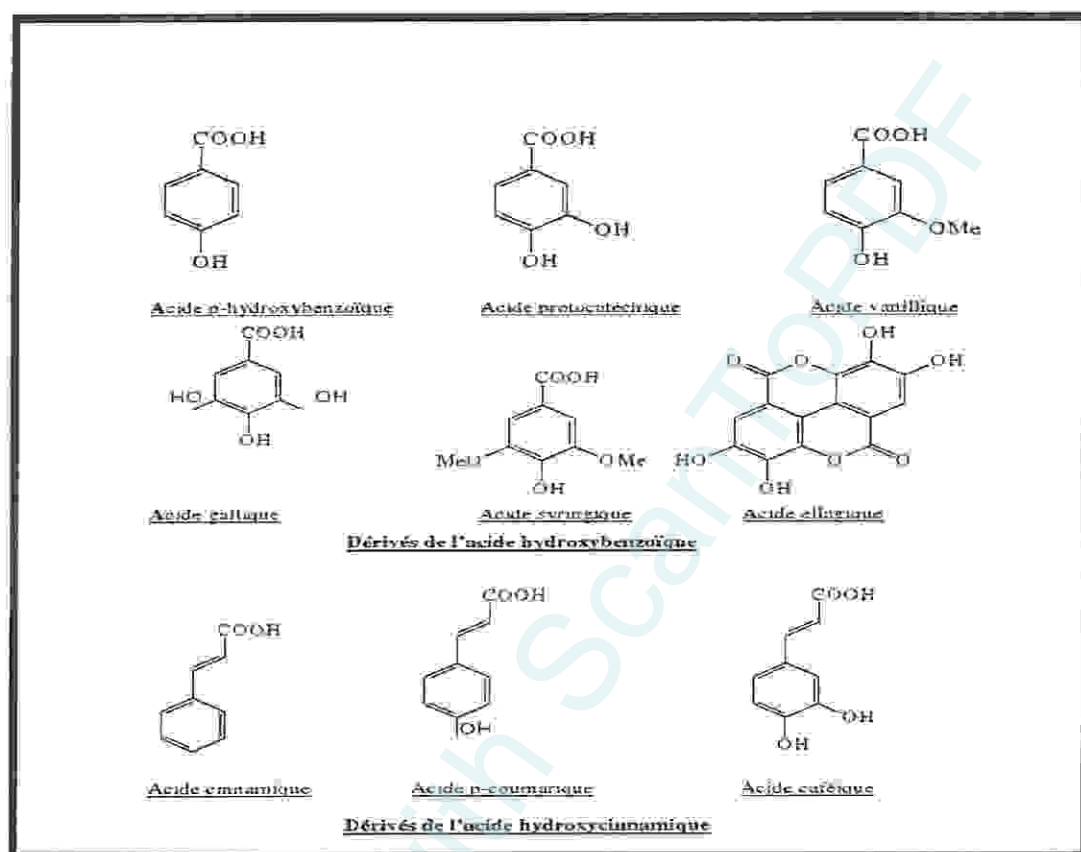


Figure 2: structures de quelques acides phénols (Michelline M. R. K., 2009).

- **Les tannins :** Les tanins sont des polyphénols polaires d'origines végétales, existent dans presque chaque partie de la plante : feuilles, fruits et racines, leurs poids moléculaires compris entre 500 et 3000 Da. Ils sont caractérisés par leur capacité antioxydante et leur propriété thérapeutique (Cowan., 1999). Ils sont divisés en deux groupes :
 - 1) tannins hydrolysables qui sont des esters d'un sucre (généralement le glucose) et d'un nombre variable de molécules d'acide phénolique (acide gallique, dans le cas des tanins galliques, ou acide hexahydroxydiphénique (HHDP), dans le cas des tannins ellagiques).
 - 2) tannins condensés qui sont formés par la condensation des unités flavan-3-ols et flavan-3-4-diols (Bruneton J., 1993).
- **Les flavonoïdes :** Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (Bruneton J., 1999). Ce sont des pigments responsables de la coloration des fleurs, des fruits et des feuilles. (Nijveldt et al., 2001; Erlund, 2004; Peluso., 2006)

On peut distinguer notamment dans les flavonoïdes : les flavones, les flavanols, les aurones, les chalcones et isoflavones. La prise moyenne des flavonoïdes par l'homme s'étend de 25 mg/jour à 1 g/jour (Figure 3) (Wang et Mazza., 2002).

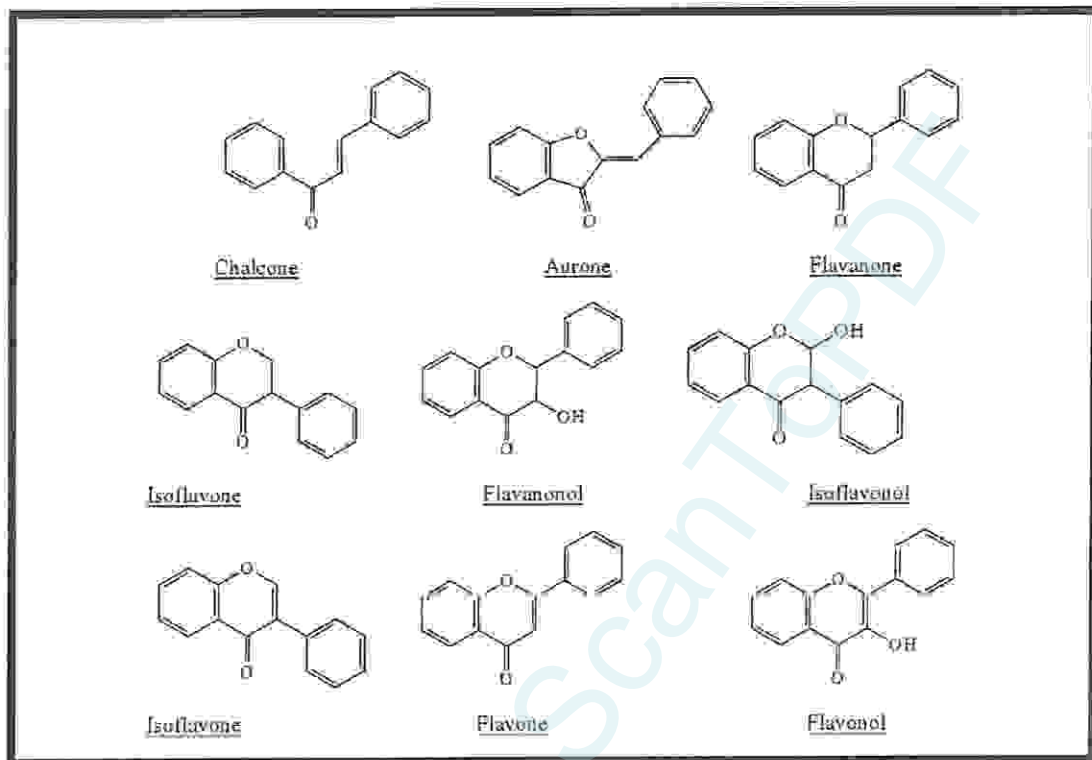


Figure 3 : structures de quelques classes des flavonoïdes (Michelline M. R. K., 2009).

I-6-La plante étudiée.

I-6-1- Présentation et taxonomie.

Connue sous le nom de «*Bougriba*», c'est une espèce commune qui pousse dans les terrains plus ou moins salés ou gypseux des Hauts plateaux et des régions présahariennes, surtout en bordures des chotts algéro-tunisiens (Biskra., Elouad). (Quezel P et al., 1962).

Le genre *Zygophyllum* est connu surtout dans le sud-est algérien et en Tunisie pour ses propriétés hypoglycémiantes et est donc utilisé dans le traitement traditionnel du diabète (Figure 4) (Baba Aïssa F., 2000). Nous présentons si dessous sa classification :

Règne: Plante
Division : Magnoliophyta
Class : Magnoliopsida
Ordre : Zygophyllales
Famille : Zygophyllaceae
Sous-famille : Zygophylloideae
Genre : Zygophyllum
Espèce : Zygophyllum cornutum

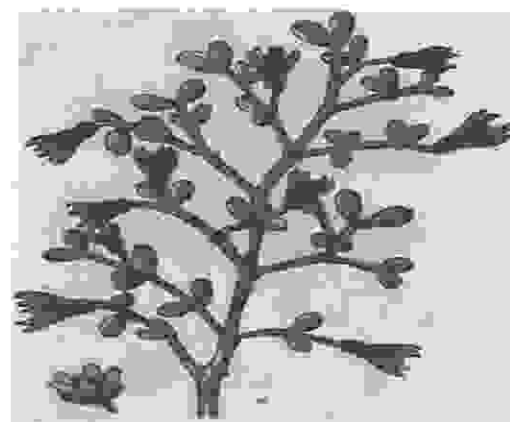


Figure 4: *Zygophyllum cornutum* Coss (Baba Aïssa F., 1991).

I-6-2- Description botanique

Sous-arbrisseaux, rarement plantes annuelles, les feuilles de cette espèce sont simples ou bifoliées, avec des fleurs axillaires de 4 à 5 mètres, et 10 étamines. Ses fruits sont non cornus à l'apex, simplement dilatés en 5 lobes plus ou moins saillants, prennent une coloration ocre-violacé à maturation.

Elle est largement distribuée dans les terrains salés ou gypseux, ainsi les pâturages désertiques (Quezel P et Santa S., 1962).

I-6-3- Usage thérapeutique

Le *Zygophyllum cornutum* est une espèce très répandue dans le Sahara septentrional. Cette espèce est utilisée en médecine traditionnelle comme remèdes de différentes affections. Elle est très utilisée contre le diabète sucré, les inflammations et les douleurs du tube digestif (Ozenda et al., 1977). Comme hypoglycémiant, *Zygophyllum cornutum* est utilisée sous forme de poudre ou infusion de sommités fleuries dont le goût est amer et salé. On l'emploie aussi pour les soins corporels des nourrissons et comme cicatrisant externe. Ce mode d'utilisation est connu au Maroc. (Baba Aïssa F., 1991).

I-6-4- Etudes ultérieurs

Beaucoup d'espèces de cette famille ont des propriétés thérapeutiques remarquables, et sont utilisés en médecine traditionnelle. Dans ce qui suit, nous allons citer quelques exemples d'espèces de très grande importance thérapeutique :

- *Balanites aegyptiaca*: c'est une plante riche en saponines (Liu H et Nakanishi K., 1982 ; Pettit G.R et al., 1991), elle a plusieurs activités :Anti-inflammatoires, anti-oxydantes, anti-nociceptives, anti-fongiques, antiseptiques, anti-malaria, anti-syphilitiques et anti-virales. Traditionnellement, ses extraits aqueux sont utilisés dans le traitement de la jaunisse et le diabète. (Pettit, G.R et al., 1991).
- *Larrea divaricata* : c'est une plante populaire en médecine, elle est utilisée dans le traitement des tumeurs, des maladies inflammatoires, des rhumatismes et de la fièvre (Añesini C et al.,1996).
- *Larrea tridentata* : c'est une plante désertique (Van et Auken O.W., 2000), elle est largement utilisée dans la thérapeutique, ses extraits peuvent soigner l'acné et les psoriasis et en même temps ont des effets cicatrisants, anti-fongiques et anti-viral (Whitford et al., 2000; Brent, J., 1999). Elle a aussi des activités analgésiques, anti-inflammatoires et anti-oxydantes (Kay M., 1996 , Abou-Gazar H et al., 2004).
- *Peganum harmala* : ses extraits sont utilisés dans le traitement, de diabète et l'hypertension artérielle (Tahraoui A et al., 2007).

- *Zygophyllum eichwaldii* : cette espèce a des propriétés nombreuses, anti-septiques, antieczéma, anti-diabétiques, anti-bactériennes et anti-fongiques. (Sasmakov S.A et al., 2001)
- *Zygophyllum coccineum* : c'est une plante commune en médecine traditionnelle dans les pays méditerranéens, elle est utilisée contre le rhumatisme, la goutte et l'hypertension (Saber A.H et El-MoghazyShoab A.M., 1960) et le diabète (Eskander E.F et Won Jun H., 1995).
- *Zygophyllum gaetulum* : très connue avec ses propriétés anti-diabétiques, (Jaouhari J.T et al., 2000), elle est également anti-spasmodique, anti-eczéma et un bon remède pour l'estomac (Bellakadhar J et al., 1981).
- *Zygophyllum album* : ses extraits aqueux sont utilisés dans le traitement des diarrhées (Maiza K et al., 1993), et du diabète (Meng X.L et al., 2002). Ils sont carminatifs, anti-septiques, et stimulants (Atta A.H et Mouneir S.M., 2004).
- *Zygophyllum geslini*: cette espèce est utilisée contre le diabète (Smati D et al., 1993), elle a également des activités cytotoxiques (Smati D et al., 2004).

I-6-5- composition chimique

les constituants phytochimiques, le zygophylline, l'acide quinovique et les glycosides sont les majeurs composés décrits chez les espèces de *Zygophyllum* (Smati D et al., 2004). D'autres études ont montré la présence des triterpènes saponines dans certaines espèces du genre « *Zygophyllum* » (Hani A.M et al. 1995 ; Ahmad V.U et al., 1992).

II- Le stress oxydatif

II-1-Définition

Le stress oxydatif est le déséquilibre entre la génération des ERO (Espèces Réactives de l'oxygène) et la capacité du corps à les neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs (Boyd et al., 2003). Il correspond à une perturbation du statut oxydatif intracellulaire (Morel Y et Barouki R., 1999). Autrement dit, Les radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles pour l'organisme à dose raisonnables. Cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense. Dans les circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/pro oxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé « stress oxydant » (Favier A., 2003).

II-2-Les radicaux libres.

Un radical libre est une molécule ou un atome ayant un ou plusieurs électrons non appariés, ce qui le rend extrêmement réactif (Tableau I) (Vansant., 2004).

Tableau I : Principaux radicaux libres rencontrés en biologie (Favier A., 2003) :

Anion superoxyde	$O_2^{\circ-}$
Radical hydroxyle	$^{\circ}OH$
Oxygène singulet	1O_2
Monoxyde d'azote	NO°
Peroxyde d'hydrogène*	H_2O_2
Nitroxyde	NOO°
Peroxynitrite	$ONOO^{\circ}$
Radical peroxy	ROO°

L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène (figure 5).

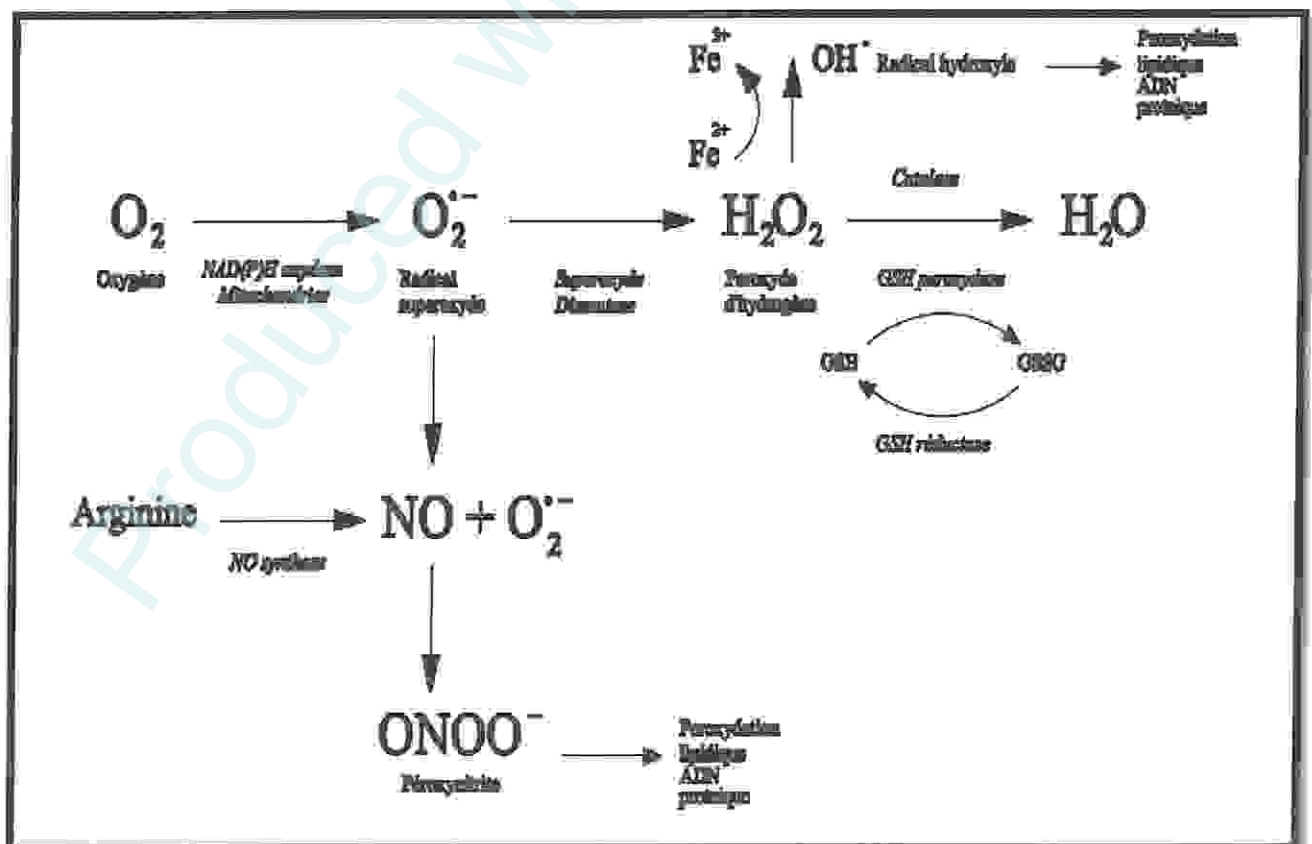


Figure 5 : formation des radicaux libres (Omar Ellouze et al., 2011).

Les radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques (figure 5) afin de détruire des bactéries au sein des cellules phagocytaires (macrophages, polynucléaires) ou pour réguler des fonctions cellulaires létales telle la mort-cellulaire programmée ou apoptose (Favier A., 2003).

***Sources des radicaux libres.** les RL sont générés par le fonctionnement normal de notre organisme (sources endogènes), nous pouvons considérer que certaines de ces production sont volontairement programmées par l'organisme à des fins de défense ou d'envoi des signaux (Favier., 2003). Mais leur production peut également être stimulée et intensifiée par beaucoup d'éléments extérieurs (sources exogènes).

a- Les sources endogènes. La production des ERO dans les cellules mammifères est essentiellement d'origine enzymatique et découle de plusieurs sources possibles. Il s'agit principalement de la NAD(P)H oxydase membranaire et du complexe enzymatique mitochondrial de la chaîne respiratoire mais d'autres sources cytosoliques ou présentes au sein de différentes organites cellulaires peuvent également jouer un rôle dans la modulation de la signalisation intracellulaire: xanthine oxydase, enzymes de la voie de l'acide arachidonique (lipo-oxygénases, cyclo-oxygénases), enzymes du réticulum endoplasmique lisse (cytochromes P 450) et peroxysomés.

b- Les sources exogènes. Les sources exogènes peuvent être représentées par des facteurs environnementaux tels que la fumée de tabac, pollution diverses, bactéries, produits chimiques ainsi que des contaminations par des métaux lourds ou certaines carences nutritionnelles (Geronimi., 2008). Les rayonnements sont par différents mécanismes des sources de radicaux, qu'il s'agisse des rayons ionisants X ou gamma, ou des rayons ultraviolets (UV) capables de produire l'anion superoxyde ou de l'oxygène singulet. (Figure 6) (Koechlin., 2006).

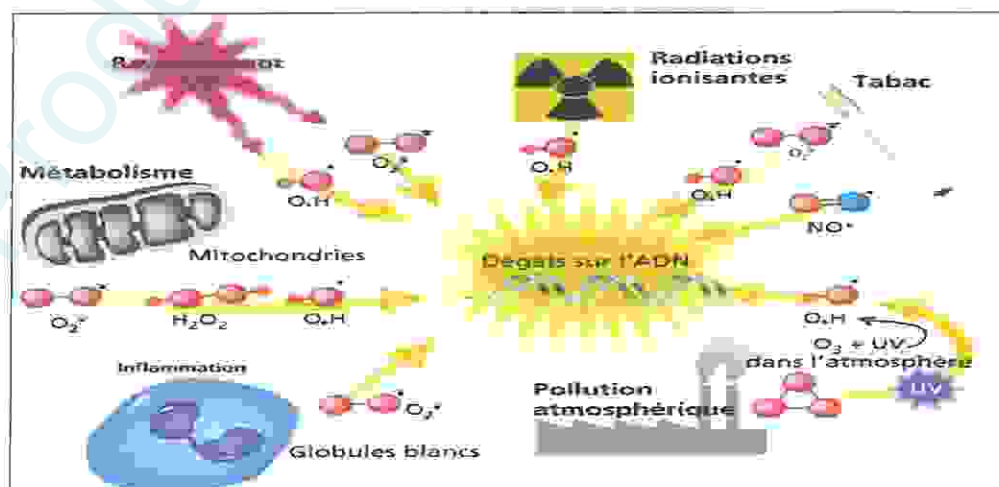


Figure 6 : Principales sources d'ERO (endogènes et exogènes) (Koechlin., 2006).

II-3-Balances oxydants-antioxydants

Les radicaux libres de l'oxygène et les dérivés oxydants non radicalaires sont présents dans les cellules à des concentrations très faibles. Ces concentrations sont régulées par un équilibre entre leur taux de production et leur taux d'élimination par des systèmes antioxydants de nature enzymatique ou non-enzymatique (Figure 7) (Baskin et al., 1994).

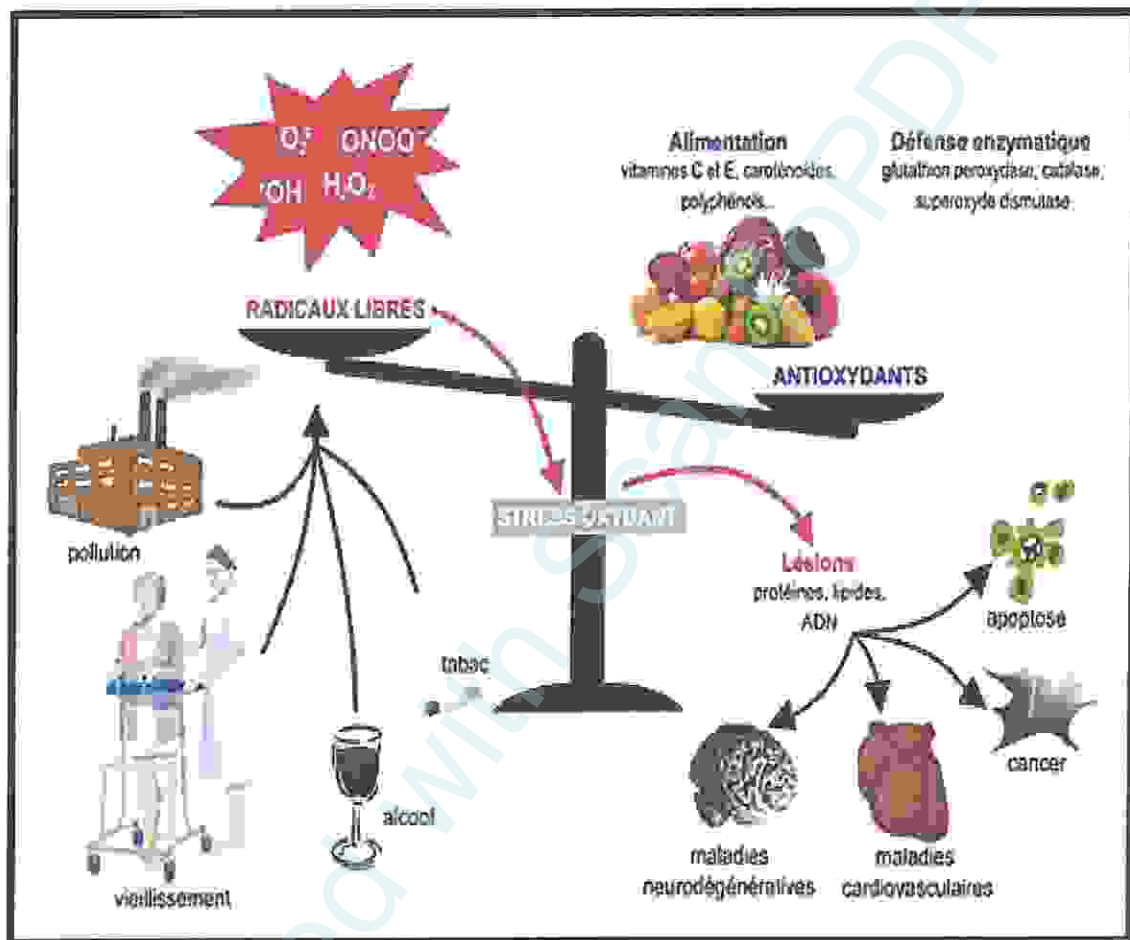


Figure 7 : Balances oxydants-antioxydants [2].

II-3-1-L'activité antioxydante

Les mécanismes de défense antioxydante du corps humain peuvent être divisés en deux catégories différentes. Premièrement, un certain nombre d'enzymes sont synthétisées à partir des protéines et d'autres nutriments et constituants de l'organisme. Le second groupe d'antioxydants doit être obtenu à partir de l'alimentation, puisque ces derniers ne peuvent être synthétisés par l'être humain. Ils comprennent les nutriments et les métabolites végétaux mentionnés plus haut : les vitamines E et C, les caroténoïdes, le sélénium, les folâtres, les flavonoïdes, les phytoestrogènes et les glucosinolates (Kristiina Pelli et Marika Lyly., 2003).

II-3-1-1-définition des antioxydants

Un antioxydant est défini comme étant toute substance qui peut retarder ou empêcher l'oxydation des substrats biologiques (Boyd et al., 2003), se sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent ainsi inoffensifs (Vansant., 2004)

Les antioxydants peuvent ralentir l'oxydation des matières grasses et des huiles de quatre façons possibles (John W et al., 1989):

- 1) Don d'hydrogène par l'antioxydant.
- 2) Don d'électrons par l'antioxydant.
- 3) Addition du lipide a l'antioxydant.
- 4) Formation d'un complexe entre le lipide et l'antioxydant.

II-3-1--2- Mécanisme d'action des antioxydants

La raison pour la quelle les antioxydants sont importants vient du fait que l'oxygène est un élément potentiellement toxique puisqu'il peut être transformé en formes plus réactives telles que le superoxyde, le peroxyde d'hydrogène, l'oxygène singulet et les radicaux hydroxyles, collectivement connu sous le nom dioxygène actif (Boyd et al., 2003)

Ils agissent en formant des produits finis non radicaux, d'autres en interrompant la réaction en chaine de peroxydation, en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puisse réagir avec un nouvel acide gras, tandis que d'autre antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singlet pour la transformer en chaleur. D'une manière générale, un antioxydant peut empêcher l'oxydation d'un autre substrat en s'oxydant lui-même plus rapidement que celui-ci. En même temps, les antioxydants arrêtent la réaction, la plupart du temps parce que la structure des antioxydants est relativement stable (Vansant., 2004)

❖ Exemple d'action des antioxydants

Le Prof Dr Pincemial s'est attardé sur l'action des antioxydants, qui résultent d'une synergie particulièrement complexe. L'une des raisons principales réside dans le fait que certains antioxydants comme la vitamine C et E peuvent eux-mêmes devenir des molécules réactives après avoir neutralisé certains dérivés toxiques de l'oxygène (radicaux libres). Tout antioxydant peut donc devenir à tout moment un agent pro-oxydant s'il n'est pas régénéré rapidement sous sa forme initiale. La vitamine E peut être recyclée en reprenant un électron à la vitamine C. C'est principalement le glutathion (GSH) – un peptide – qui, combiné à diverses

enzymes, joue un rôle unique et essentiel dans le maintien des propriétés antioxydantes de différents antioxydants (figure 8) (Pincemial et al., 1998).

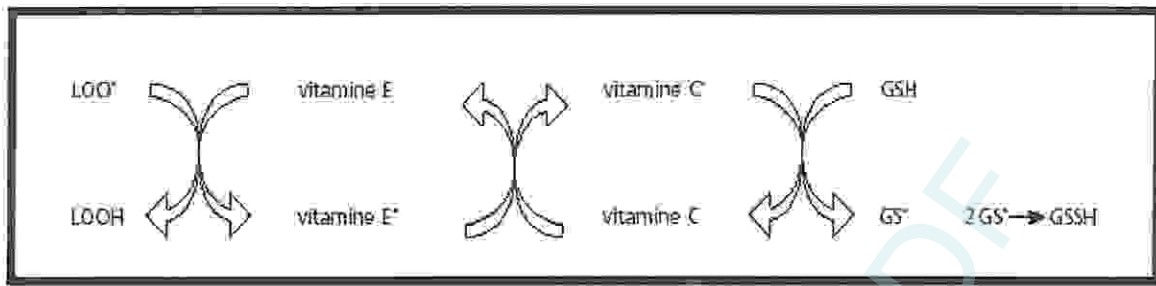


Figure 8 : Exemple d'action des antioxydants. (Pincemial et al., 1998).

D'un point de vue biologique les composés antioxydants peuvent protéger les systèmes cellulaires des effets des processus potentiellement nocifs qui causent l'oxydation excessive, ils sont la stratégie préventive la plus prometteuse contre la formation des cataractes (Hale., 2003).

II-3-1-3- Les antioxydants endogènes. Les défenses antioxydantes de l'organisme peuvent se diviser en :

- ❖ **Un système de défense primaire :** composé d'enzymes et de substances antioxydantes.
 - **La superoxyde dismutase (SOD) :** diminue la durée de vie de l'anion superoxyde O_2^- .
 - **La catalase :** transforme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en simple molécule d'eau.
 - **La glutathion peroxydase (GPx) :** détruit le peroxyde d'hydrogène et les peroxydes lipidiques.
 - **Les molécules piègeurs :** la glutathion(GSH), l'acide urique, les protéines à groupement thiolsubiquinone,... etc.
- ❖ **Un système de défense secondaire :** composé d'enzymes protéolytiques, des phospholipases, des ADN endonucléase et ligase, des macroxyprotéinases (Pincemial et al., 1998).

II-3-1-4- Les antioxydants naturels. Les antioxydants sont naturellement présents dans presque toutes les plantes, tous les micro-organismes, les champignons et même dans les tissus animaux. Le groupe le plus important d'antioxydants naturels comprend la vitamine C (acide ascorbique), la vitamine E (tocophérol), les flavonoïdes et autres composés végétaux. (Kristiina Pelli et Marika Lyly., 2003).

La vitamine C (acide ascorbique) est un nutriment essentiel, ce qui signifie que les êtres humains sont incapables de la synthétiser. Les principales sources de vitamine C sont les fruits (en particulier les baies) et les légumes feuilles. On peut exceptionnellement trouver de fortes concentrations de vitamine C dans le cassis, les agrumes, les kiwis, les poivrons, les brocolis, le chou et le persil (Kristiina Pelli et Marika Lyly., 2003).

La vitamine E (tocophérol) n'est synthétisée que dans les plantes et les êtres humains ne sont pas capables de fabriquer leur propre vitamine E. La vitamine E est présente dans les huiles végétales, les pépins, le germe et les grains de blé. Les huiles végétales qui en contiennent, sont de bonnes sources, tandis que les fruits, les baies et les légumes contiennent également un peu de vitamine E. Le manque de vitamine E est rare (Kristiina Pelli et Marika Lyly., 2003).

Les caroténoïdes sont des composés pigmentés présents dans les fruits et les légumes. L'un des caroténoïdes, le bêta-carotène, est un précurseur de la vitamine A, ayant un effet antioxydant. D'autres composés de la vitamine A (les rétinoïdes) ne possèdent pas ces propriétés antioxydantes. Les caroténoïdes, comme la vitamine E, sont liposolubles et donc s'accumulent dans les tissus. Le bêta-carotène (dans les carottes), le lycopène (dans les tomates) et la lutéine (dans les épinards) sont les caroténoïdes les plus recherchés, et la preuve est faite qu'ils peuvent avoir des effets bénéfiques sur la santé (Kristiina Pelli et Marika Lyly., 2003).

Les flavonoïdes sont des métabolites végétaux avec des propriétés antioxydantes efficaces. Ces dix dernières années, des recherches intensives ont été menées sur les effets des flavonoïdes sur la santé. Il a été suggéré que les flavonoïdes puissent avoir un rôle protecteur contre les dommages causés par le cholestérol dans les vaisseaux sanguins, mais des recherches supplémentaires sont encore nécessaires. Les flavonoïdes sont présents dans la plupart des légumes, des fruits, des baies et des boissons (thé, vin et jus de fruits). A l'avenir, il sera peut-être également possible de développer des plantes ayant des concentrations élevées en antioxydants (Kristiina Pelli et Marika Lyly., 2003).

2-3-1-5- Quelques types d'antioxydants

***Les antioxydants de type I :** sont des molécules ayant la capacité d'inactiver les radicaux libres. Ils inhibent la propagation des réactions radicalaires en fournissant des hydrogènes aux radicaux libres présents dans le milieu. Il y a formation de nouveaux radicaux stables qui ne possèdent pas l'énergie suffisante pour arracher un hydrogène aux lipides et la propagation s'arrête là (Figure 9).

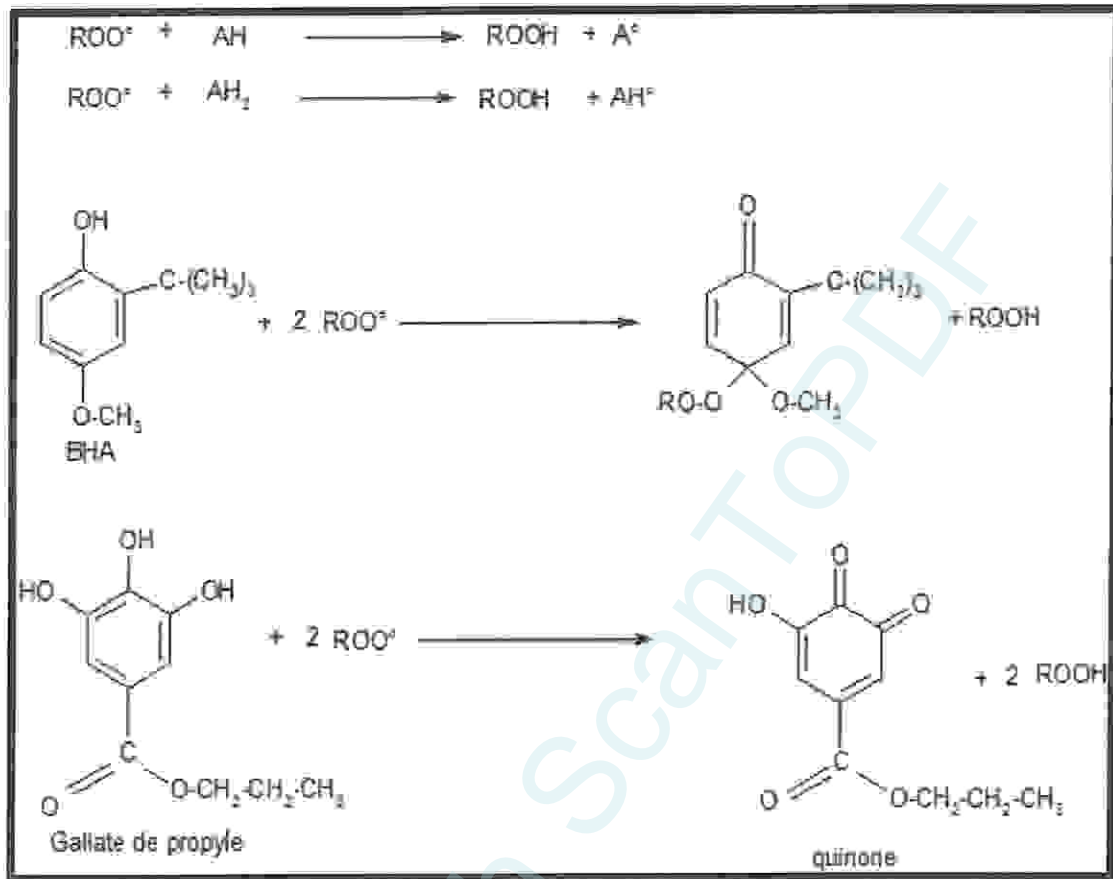


Figure 9 : La formation de radicaux stables.

***Les antioxydants de type II :** Ils vont diminuer la vitesse d'oxydation, ils ne transforment pas les radicaux libres en structures plus stables. On trouvera différentes classes de molécules comme les agents chélateurs de métaux pro-oxydants. Il s'agit de l'acide citrique, l'acide phosphorique et les polyphosphates. On peut aussi utiliser d'autres polyacides organiques (tartrate, malate, oxalate, succinate) qui, en plus de leur activité antioxydante possèdent une action acidulante. Une autre catégorie de molécules peut intervenir, il s'agit de structures qui piègeront l'oxygène moléculaire.

Les agents comme la vitamine C à une concentration supérieure à 0,5%, le palmitate d'ascorbyle, les dérivés de l'acide érythorbique (D-ascorbate) et les sulfites pourront remplir ce rôle. Il est à noter que la vitamine C à faible concentration (0,02-0,03%) est un agent pro-oxydant. Enfin il est possible d'utiliser des molécules qui vont diminuer (quencher) le niveau énergétique de l'oxygène singulet : c'est le cas des caroténoïdes.[1]

***antioxydants synthétiques :** sont généralement préparés en laboratoire, et principalement à partir de composants chimiques. Ils ont été testés quant à leurs effets carcinogènes ou mutagènes (Kristiina Pelli et Marika Lyly, 2003).

II-4- Méthodes de détermination de l'activité antioxydante

Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer, *in vitro* et *in vivo*, l'activité antioxydante par piégeage de radicaux différents (Cristina Popovici., 2009).

a-Test DPPH (1,1 Diphenyl -2-picrylhydrowyl)

*Principe de la méthode

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (α,α -diphényl- β -picrylhydrazyle) fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques (Cristina Popovici.,2009). Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote (figure10). Du fait de cette délocalisation, les molécules du radical ne forment pas des dimères, DPPH• reste dans sa forme monomère relativement stable à température ordinaire. La délocalisation provoque aussi la couleur bleue bien caractéristique de la solution de DPPH•. La mesure de l'efficacité d'un antioxydant se fait en mesurant la diminution de la coloration bleue, due à une recombinaison des radicaux DPPH•, mesurable par spectrophotométrie à 515-518 nm.

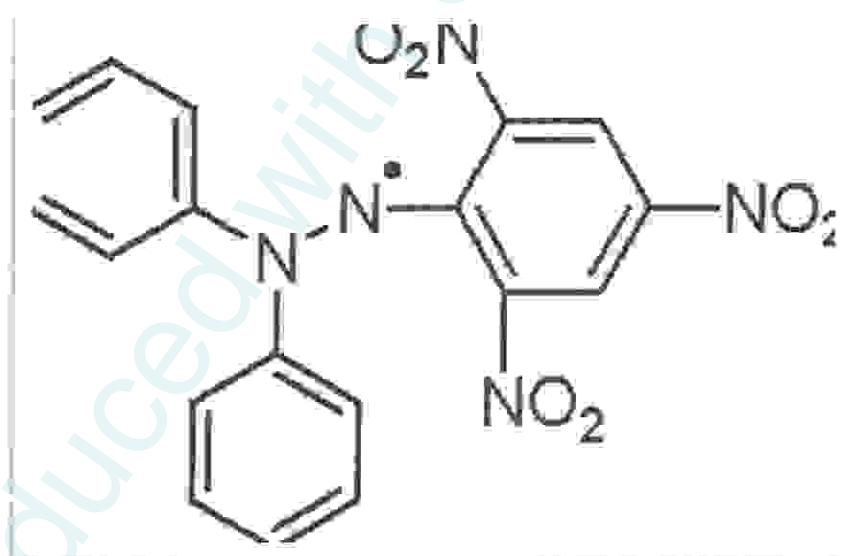


Figure 10 : Structure chimique du radical libre DPPH• (2,2 DiPhenyle-1-Pikryl-Hydrazyle) (Cristina Popovici.,2009)

Le piégeage des radicaux libres par des antioxydants est tributaire de deux types de mécanismes:

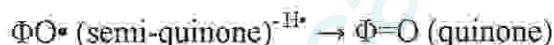
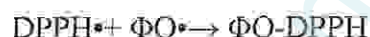
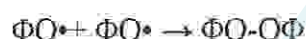
- I- la libération de l'atome d'hydrogène du groupement hydroxyle (cinétique rapide de certaines acides et dérivées phénoliques)

- 2- la libération d'un électron (cinétique lente des dérivées glycosylées et des anthocyanes) (Nanjo F et al., 1996).

Dans le cas des composés phénoliques (Φ -OH), le mécanisme principal d'action est le piégeage des radicaux libres par le transfert de l'atome H sur le DPPH• alors transformé en une molécule stable DPPHH (Molyneux P., 2004 ;Sanchez-Moreno C et al., 1998) :



Plusieurs voies réactionnelles sont alors possibles qui forment des structures plus au moins stables :



La capacité anti-radicalaire (capacité à fixer des radicaux libres, donc à arrêter la propagation de la réaction en chaîne) ne peut être mesurée directement, mais par contrôle de l'effet de la réactivité. Plusieurs facteurs influent sur le potentiel antioxydant et la cinétique de réduction, notamment les conditions de la réaction (temps, rapport Antioxydant/DPPH•, type de solvants, pH) et le profil phénolique en particulier (Molyneux P.,2004).

*Evaluation du potentiel anti-radicalaire

Pour l'évaluation de l'activité antioxydante, deux approches sont appliquées: d'une part, la détermination de la réduction relative du radical DPPH• à un temps de référence ou la détermination de la quantité d'antioxydant nécessaire pour réduire 50 % de DPPH• et d'autre part, le suivi de la cinétique de la réduction. (Sanchez-Moreno C et al., 1998), (Scherer R., Godoy H. T., 2009)

Dans la première approche, l'activité est définie par l'indice de la réduction de l'activité anti-radicalaire en pourcentage %RSA (Radical Scavenger Activity), où l'absorbance du mélange réactionnel qui contient le radical libre et l'échantillon de l'antioxydant est reliée à l'absorbance du mélange sans aucun antioxydant (solution témoin ou contrôle) à un temps t : [%RSA=(Abs_{contrôle} - Abs_t)/ Abs_{contrôle} × 100%].

Comme il n'existe pas de mesure absolue de la capacité antioxydante d'un composé, les résultats sont souvent portés par rapport à un antioxydant de référence, comme l'acide ascorbique

(vitamine C), les antioxydants synthétiques BHT (butyl-hydroxy-toluène) ou le Trolox® (acide-6-hydroxy-2,5,7,8-tetraméthylchroman-2-carboxylique), dont la structure moléculaire cyclique est similaire à celle de la vitamine E (Molyneux P.,2004).

L'indice relative %RSA montre seulement la capacité de l'échantillon, à une concentration fixée, de réduire ou non les radicaux et dans beaucoup de cas, l'augmentation de la concentration de l'antioxydant amène l'augmentation de ces indices relatifs. (Sanchez-Moreno C et al., 1998)

Pour s'affranchir de l'influence de la concentration, dans la majorité des études, la réactivité est estimée par la concentration effective CE_{50} (ou l'inverse $1/CE_{50}$) de l'antioxydant, qui correspond à une réduction de 50% de l'activité (de l'absorbance) du DPPH• dans le milieu réactionnel. La capacité antioxydante d'un composé est d'autant plus élevée que sa CE_{50} est petite. L'indice CE_{50} montre les concentrations de l'antioxydant qui sont nécessaires pour faire décroître la concentration initiale du DPPH• avec 50% (exprimée en mol Antioxydant/mol DPPH• ou mg Antioxydant/g DPPH•), mais ne prennent pas en considération l'influence de la concentration sur le temps de la réaction (Sanchez-Moreno C et al 1998).

Pour mieux caractériser le pouvoir anti-radicalaire, dans la deuxième approche des paramètres cinétiques sont introduits, tels que le temps T_{EC50} nécessaire pour atteindre l'équilibre à CE_{50} , la constante de vitesse de la réaction ou le coefficient directeur de la courbe cinétique (Scherer R et Godoy H. T., 2009). L'estimation de T_{CE50} permet d'introduire la classification suivante: $T_{CE50} < 5$ min (réaction rapide), 5-30 min (réaction intermédiaire) et $T_{CE50} > 30$ min (réaction lente). L'indice de l'efficacité anti-radicalaire [$EAR = 1/(CE_{50} \cdot T_{CE50})$] relie la concentration du DPPH• et le temps T_{EC50} dans l'essai avec la concentration effective CE_{50} de l'échantillon, et résulte dans un paramètre constant pour chaque solution ou extrait. (Cristina Popovici., 2009).

b-Détermination de l'indice de peroxyde (IP)

Cette méthode permet de mesurer les produits primaires d'oxydation tels que les peroxydes formés lors de l'oxydation lipidique en jouant un rôle essentiel dans l'autooxydation des lipides. L'inhibition de leur formation et/ou l'action des antioxydants peut être employée comme indicateur afin d'évaluer l'activité antioxydante. Il s'agit d'une analyse volumétrique de l'iode libéré à partir de l'iodure de potassium par l'oxydation avec des peroxydes à température ambiante et dans un milieu chloroforme/ acide acétique. (Antolovitch M et al., 2002)

c-Méthode de sr-TBA (substances réactive Acid ThioBarbutonic)

Méthode aussi communément utilisée pour évaluer l'activité antioxydante. Le test sr-TBA mesure la quantité de dialdéhyde malonique (MDA) qui se forme comme produit d'un endoperoxyde des AGI (Acides gras insaturés) au cours de l'oxydation lipidique. Le MDA réagit avec l'acide thiobarbiturique pour donner des pigments de coloration rouge. La quantité de pigments peu être mesurée par spectroscopie à 532-535 nm. L'oxydation est inhibée par l'action des antioxydants et par conséquent on peut observer une diminution de l'abondance.

L'activité antioxydante est déterminée par le pourcentage d'inhibition de la formation de l'MDA, la décomposition des produits primaires de l'oxydation lipidique produit des mélanges complexes comprenant des époxydes, des cétones, des hydrocarbures et des aldéhydes saturés et insaturés tel que l'héxanal. C'est ainsi que plusieurs mesures de ces produits finaux ont été utilisés dans le but d'évaluer la capacité antioxydante. Par exemple l'indice d'ainsidine a été couramment employé pour mesurer la formation de 2-alcène au cours de l'oxydation des lipides. Les composés comportant dans leurs structures des groupements carbonyles en incluant le pentanal, et l'octa 3,5-dien-2 qui semblent être les principaux responsables du mauvais goût associé à la rancidité dans plusieurs produits alimentaires. L'héxanal est le produit final le plus abondant, et par conséquent le plus employé comme marqueur de la propagation du processus d'oxydation lipidique (Corbo M.R., 2000).

II-5-La peroxydation lipidique

La peroxydation lipidique est un phénomène général qui se produit dès la présence de l'oxygène. Tous les lipides contenant des acides gras insaturés quelle que soit leur origine (huiles végétales, huiles de poissons, graisses animales, membranes cellulaires, lipoprotéines) sont concernés (Josiane C et Pierre C., 2006).

Les réactions radicalaires en chaîne forment les radicaux lipidiques, libèrent les peroxydes lipidiques dans les membranes et causent d'importants dommages et modifications (figure 11) (Amzal Hassane, 2010).

Un initiateur (comme le radical produit localement durant la réaction de fenton) amorce une réaction en chaîne. Il capte un atome hydrogène, de préférence une liaison double d'un acide gras polyinsaturé dans une membrane lipidique. Ces réactions forment les radicaux lipides peroxydes et les lipides peroxydes. Finalement, la dégradation de lipide se produit, et entraîne la formation de produits tels que le malondialdéhyde (des acides gras avec au moins trois liaisons doubles) et l'éthane et le pentane. Le MDA apparaît dans le sang et l'urine et est utilisé comme un indicateur de dommages des radicaux libres (figure 12) (Amzal Hassane., 2010).

La peroxydation lipidique est une importante réaction des acides gras insaturés. Une des réactions caractéristique des lipides ; est la formation de peroxydes, induit par les radicaux d'oxygène.

La peroxydation lipidique peut procéder tant par des voies enzymatiques que par des voies non-enzymatiques. Les initiateurs de cette oxydation sont des radicaux libres physiologiques en particulier les radicaux superoxydes et nitrique oxyde (Amzal Hassane.,2010).

II-5-1-Conséquences des peroxydations lipidiques.

Elles ont très nombreuses. Les hydroperoxydes instables en se décomposant vont donner de nouveaux radicaux libres provoquant des oxydations des biomolécules, mais aussi des aldéhydes réactifs (MDA, 4HNE) qui feront des adduits sur les groupements NH₂ des biomolécules (acides nucléiques, protéines, lipides). L'oxydation des protéines au niveau de leurs fonctions thiols altère leurs structures (*misfoldng* des protéines des LDL) et leurs fonctions (perte d'activité des enzymes et des récepteurs). Toutes les structures de la cellule seront ainsi touchées et particulièrement les membranes (membranes plasmique, mitochondriale lysosomale) (Josiane C et Pierre C., 2006).

III-Activité antibactérienne

III-1-Les bactéries étudiées et leurs rôles pathologiques

III-1-1- Bactéries à Gram négatif

a- Genre *Pseudomonas*

Ce genre appartient à la famille des *Pseudomonadaceae*. Les bactéries de cette famille sont des bâtonnets, mobiles par cils polaires, aérobies strictes. Les *Pseudomonas* se cultivent facilement sur milieux usuels, en aérobiose, à la température de 30°C, certaines espèces comme *P.aeruginosa* en sont capables à 41°C et même 43°C, ce caractère étant utilisé pour le diagnostic. La production d'un pigment est assez commune dans le genre. Deux sont particulièrement fréquents et utiles pour la reconnaissance des espèces: la pyocyanine, pigment phénazinique, soluble dans l'eau et le chloroforme, spécifique de l'espèce *P.aeruginosa*; la pyoverdine, ou pigment vert fluorescent, soluble uniquement dans l'eau et élaborée en particulier par *P.aeruginosa* et *P.fluorescens*. Ces bactéries sont capables d'utiliser une variété très large de substrats comme source de carbone et d'énergie. Ceux-ci comprennent les glucides, lipides, acides aminés, acides organiques et aussi un grand nombre de corps aromatiques benzéniques, phénoliques, terpéniques, et stéroïdes ... etc.

causées par un matériel souillé (la mortalité reste élevée malgré une antibiothérapie adaptée) (Berche Pet al., 1988).

III-1-2- bactéries à Gram positif

- Genre *Staphylococcus*

Les staphylocoques sont des bactéries sphériques, qui se divisent sur plusieurs plans pour former des amas réguliers ou irréguliers en grappe de raisin, d'où leur nom (en grec staphylos), ils sont immobiles et se cultivent sur des milieux contenant 5% de Na Cl et pour certains jusqu'à 10 et même 15%. Ils sont aérobies ou anaérobies facultatifs.

Les staphylocoques sont des germes ubiquistes largement distribués dans l'environnement naturel de l'homme, mais ils le sont plus fréquemment et en plus forte densité sur les surfaces cutano-muqueuses des mammifères.

Il existe une certaine relation entre les espèces de staphylocoques et l'hôte qui les héberge. *S.epidermidis* est l'espèce la plus fréquente et la plus abondante sur les surfaces cutanées de l'homme. *S.aureus* est l'espèce prédominante chez l'homme et autres mammifères. La cavité nasale de l'homme est sa niche préférentielle.

Les staphylocoques ont un pouvoir pathogène opportuniste extrêmement large qui s'exerce avec une grande fréquence en milieu hospitalier. L'espèce *S.aureus*, responsable d'infections pyogènes de la peau et des muqueuses (furoncle, impétigo, staphylococcie maligne de la face, staphylococcies bulleuses, etc.), mais aussi osseuses (ostéomyélite), digestives (entéocolites post-antibiotiques), septicémiques. *S.epidermidis* un agent de plus en plus fréquent d'infections nosocomiales (Leclerc H et al., 1995).

III-2-Mécanismes de défense contre les bactéries

Dès la naissance, l'homme se trouve en contact avec des bactéries qui progressivement coloniser son revêtement cutané-muqueux. Pour résister aux bactéries de nombreux moyens sont mis en jeu. On peut schématiquement en distinguer 3 groupes : les barrières anatomiques (la peau, les muqueuses), les mécanismes de résistance naturelle (ou innés) et l'immunité acquise.

Les mécanismes de défense contre les bactéries reposent sur les barrières cutanomuqueuses, puis sur les mécanismes naturels mettant en jeu des récepteurs solubles (comme le complément) et membranaires, capables de reconnaître un certain nombre de motifs habituellement présents sur les bactéries. Ces mécanismes permettent de recruter et d'activer les cellules phagocytaires. L'immunité acquise se développe plus tardivement et fait intervenir des récepteurs répartis de manière clonale sur les lymphocytes. Elle se traduit par la production d'anticorps (active surtout contre les pathogènes extracellulaires) et une réponse cellulaire (active contre les pathogènes

intracellulaires). L'immunité acquise comporte une mémoire et cette propriété est à la base de la vaccination (Kaufmann S., 1997 ; Russo-Marie F et Peltier A., 1998).

III-3- Actions des antibiotiques sur les bactéries

Les antibiotiques antibactériens sont des molécules qui inhibent sélectivement certaines voies métaboliques des bactéries, sans exercer habituellement d'effets toxiques pour les organismes supérieurs. Cette propriété les distingue des antiseptiques. Les antibiotiques, au sens strict, sont des produits élaborés par des micro-organismes, mais on inclut généralement parmi eux les dérivés semisynthétiques et les produits entièrement synthétiques.

L'activité des antibiotiques *in vitro* peut être mesurée en déterminant leur capacité d'inhiber la croissance bactérienne (concentration minimale inhibitrice ou CMI) ou leur capacité de tuer les bactéries (bactéricidie). L'action des antibiotiques est influencée par de nombreux facteurs : concentration bactérienne, milieu, interaction avec un autre antibiotique... etc. En outre l'activité *in vivo* est influencée par des données pharmacologiques, de conditions locales particulières (Nauciel C., 2000).

III-4- Principales familles d'antibiotiques et leur mode d'action

La plupart des antibiotiques inhibent des voies métaboliques de la bactérie. Chaque famille d'antibiotique possède son site d'action propre.

- Les antibiotiques agissant sur la synthèse du peptidoglycane comprennent les β -lactamines, les glycopeptides et la fosfomycine.
- Les antibiotiques agissant sur la synthèse protéique comprennent les aminosides, les tétracyclines, les macrolides et apparentés et l'acide fusidique.
- Les antibiotiques agissant sur les acides nucléiques comprennent les sulfamides, le triméthoprime, les quinolones, les nitro-imidazoles et les rifamycines.
- Les polymyxines agissent au niveau des membranes (Avril J et Carlet J., 1998 ; Bergogne E et Dellamonica, P., 1995).

III-5- Mécanismes de résistances aux antibiotiques

La résistance aux antibiotiques peut être naturelle ou acquise ; la résistance naturelle est présente chez tous les membres d'une même espèce ou d'un même genre bactérien. Elle est liée à son patrimoine génétique. La résistance acquise résulte d'une modification du patrimoine génétique. Il peut s'agir d'une mutation qui peut entraîner, par exemple, une modification de la

cible de l'antibiotique ou bien diminuer sa pénétration. Le plus souvent, il s'agit de l'acquisition de l'ADN étranger pouvant provenir de la même espèce ou d'espèces bactériennes différentes. L'acquisition d'ADN se fait le plus souvent par conjugaison. Elle se fait alors par l'intermédiaire de plasmides ou de transposons conjugatifs qui peuvent porter un ou plusieurs gènes de résistance. Dans certaines espèces, comme le pneumocoque et les *Neisseria*, l'acquisition d'ADN peut se faire par transformation. Le transfert de gènes de résistance par l'intermédiaire d'un bactériophage (transduction) est rare.

L'acquisition de mécanismes de résistance aux antibiotiques a une expression phénotypique variable. Dans la majorité des cas, elle est détectable par les méthodes habituelles de détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques. Lorsque le niveau de résistance est faible, la bactérie peut apparaître sensible par les critères habituels. La lecture interprétative de l'antibiogramme permet de corriger la réponse : (Nauciel C., 2000).

On peut classer les mécanismes de résistance en 4 groupes :

- L'inactivation de l'antibiotique.
- La modification de la cible.
- La diminution de la perméabilité membranaire.
- L'excrétion de l'antibiotique.

III-6-Méthodes de détermination de l'activité antimicrobienne.

III-6-1- Aromatogramme

« L'aromatogramme est à la Phytothérapie ce que l'antibiogramme décrit par la Pharmacopée française des antibiotiques est à la médecine ». Cette transposition due au Dr M. Girault dès 1971, est décrite dans le tome III du Traité de Phytothérapie et d'Aromathérapie (Belaiche., 1979). L'aromatogramme est basée sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelée antibiogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode des disques. Cette méthode a l'avantage d'être d'une grande souplesse dans le choix des antibiotiques testés, de s'appliquer à un très grand nombre d'espèces bactériennes, et d'avoir été largement évaluée par 50 ans d'utilisation mondiale (Fauchère., 2002). Il s'agit d'une méthode en milieu gélosé à l'agar réalisée dans une boîte de Pétri. Le contact se fait par l'intermédiaire d'un disque de papier sur lequel on dispose une quantité donnée d'extrait aromatique (Figure 13).

La technique consiste à utiliser des disques de papier imprégnés des différents produits à tester. Les disques sont déposés à la surface d'une gélose uniformément ensemencée avec une suspension

de la bactérie à étudier. Chaque antibiotique diffuse à partir du disque au sein de la gélose et y détermine un gradient de concentration. Les bactéries croissent sur toute la surface de la gélose sauf là où elles rencontrent une concentration d'antibiotique suffisante pour inhiber leur croissance. On observe ainsi autour des disques une zone circulaire indemne de colonies, appelée zone d'inhibition. Plus le diamètre de cette zone est grand, plus la souche est sensible à l'antibiotique. Plus il est petit, plus la bactérie est résistante (Fauchère., 2002).

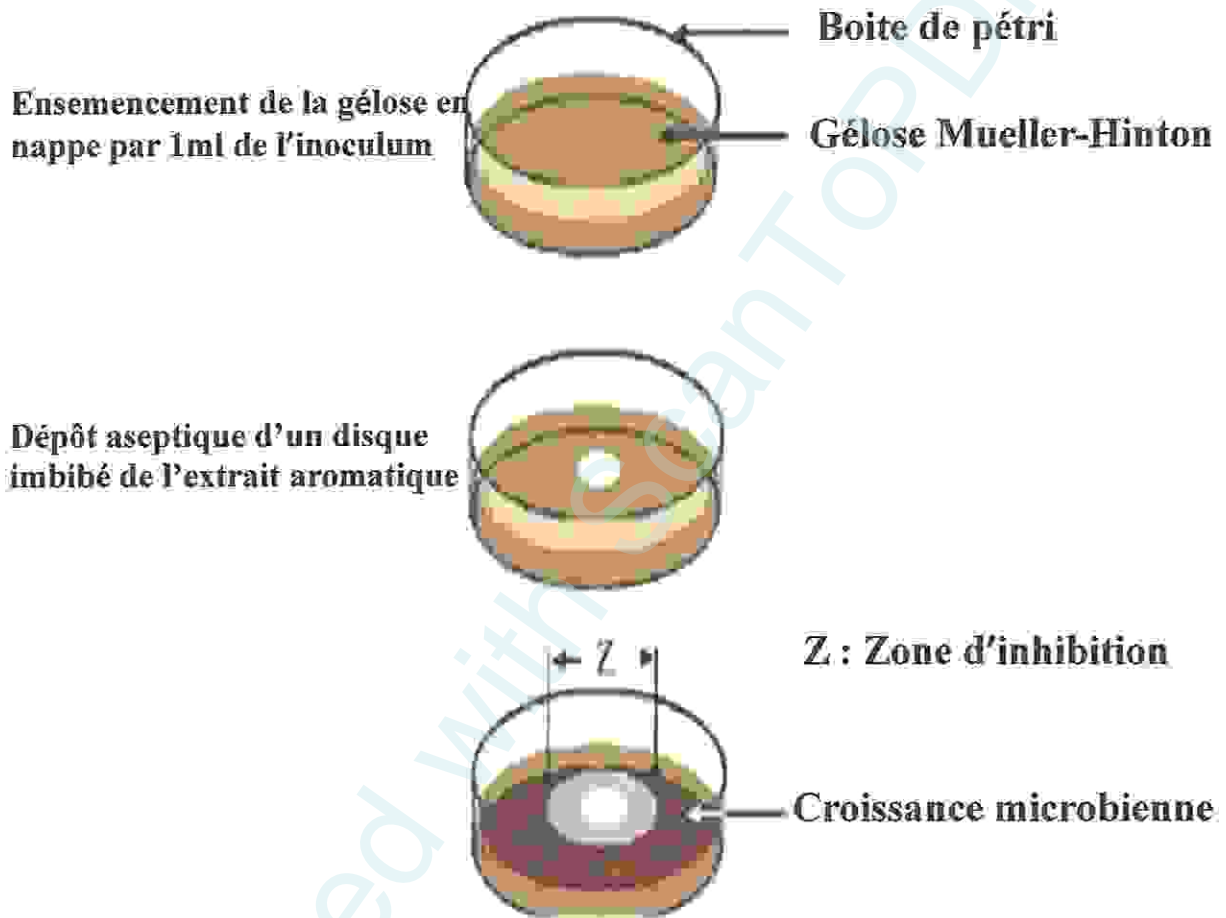


Figure 13 : Illustration de la méthode des aromatochromes sur boîte de Pétri (Zaika., 1988)

III-6-2-Microatmosphère

Dérivé de la méthode précédente le protocole des microatmosphères est techniquement proche de celle des aromatochromes. La différence réside principalement dans la position du disque imprégné. Dans cette technique, le disque imprégné est déposé au centre du couvercle de la boîte de Pétri, renversée pendant la durée de l'expérience. Celui-ci n'est donc plus en contact avec le milieu gélosé (Figure 14) (Zaika., 1988).

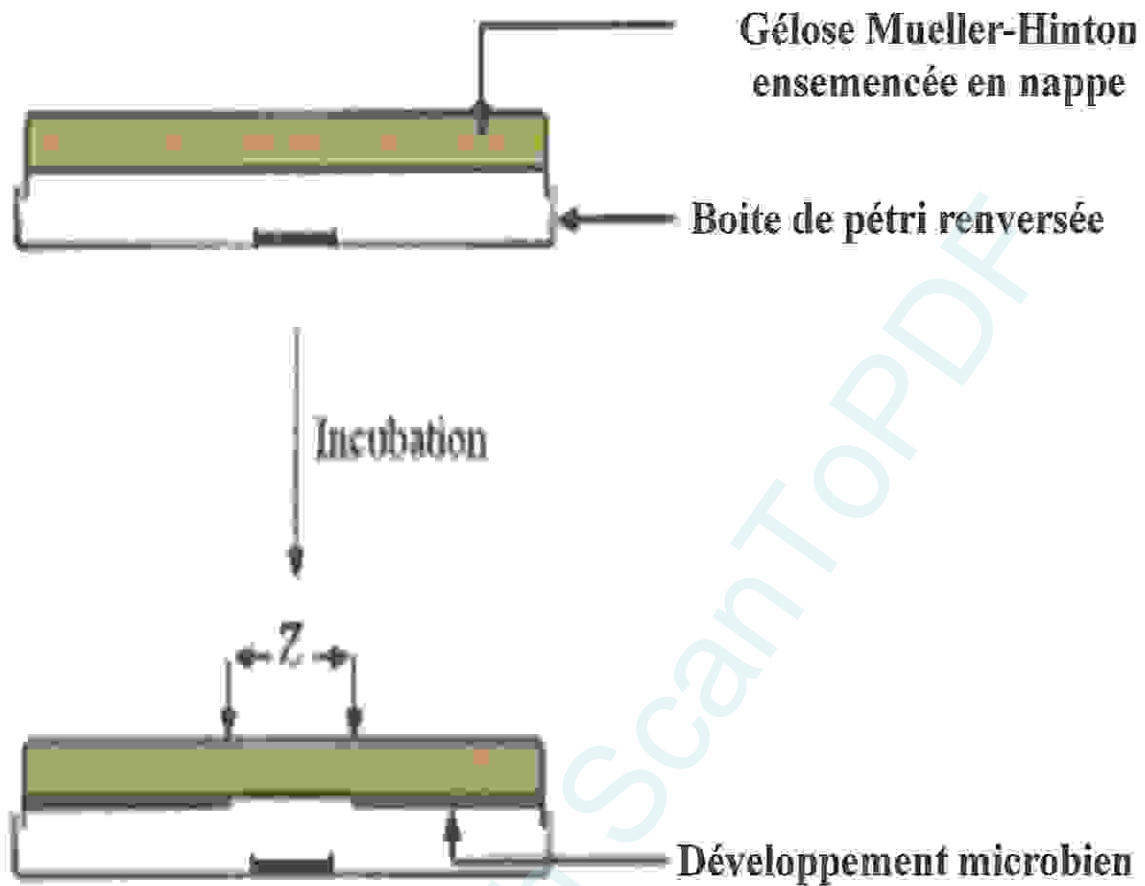


Figure 14 : Illustration de la méthode des microatmosphères (Zaika., 1988)

III-6-3-Technique par contact direct

La technique par contact direct consiste à mettre en présence l'extrait à tester, et les micro-organismes, puis à observer la croissance de ces derniers. Le contact peut avoir lieu en milieu gélosé ou liquide (figure 15) (Bousbia., 2004).

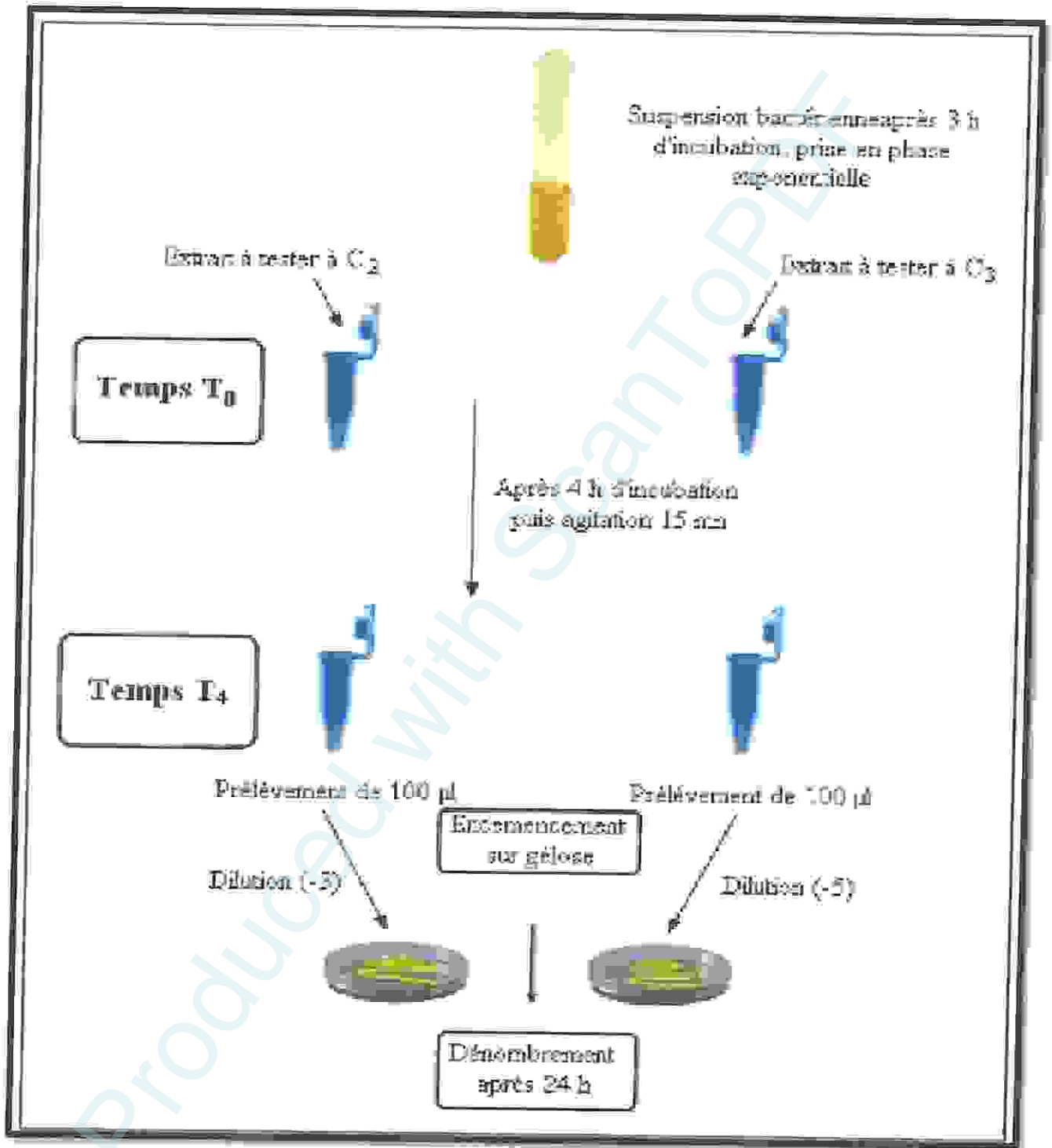


Figure 15: Schéma représentant la technique de contact direct (Bousbia., 2004).

Matériel et méthodes

Produced with Scantopdf

I-Matériel

I-1-Matériel végétal

Nous présentons ci-dessous les informations relatives à la récolte de l'espèce médicinale étudiée dans cette étude, «*Zygophyllum cornutum* Coss». L'espèce sélectionnée a été collectée dans son habitat naturel entre le mois de mars et avril 2008. La récolte est effectuée au Sahara Algérien dans la région d'El-Bayad (wilayad'El-oued) et identifiée par Mm Khalfallah - Professeur botaniste au laboratoire de Génétique, Biochimie et Biotechnologie Végétale à l'université Mentouri Constantine. La partie aérienne (feuilles, fleurs et tiges) de la plante récoltée a ensuite été séchée à l'abri de la lumière du soleil pendant six semaines puis broyée en poudre pour qu'elle soit prête à l'utilisation.

I-2-Les animaux

Des rats femelles *Wistar albinos* âgés de 1.5 à 2 mois et dont le poids varie de 120 à 140g sont utilisés pour l'étude de l'inhibition de la peroxydation lipidique in vitro. Ces animaux sont fournis par l'institut Pasteur d'Alger. Les rats sont logés dans des cages avec accès libre de nourriture et d'eau et à température ambiante avec un cycle naturel de lumière et d'obscurité.

I-3-Les souches bactériennes

Afin de tester le potentiel antimicrobien de l'EMZC et de l'EBZC in vitro, quatre souches bactériennes, une Gram positif: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) et trois Gram négatif: *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603) sont utilisées. Ces souches utilisées sont largement rencontrées dans diverses pathologies chez l'homme. Elles nous proviennent du laboratoire de microbiologie à l'université Mentouri, Constantine. Avant l'utilisation, ses souches sont toutes conservées dans un milieu de conservation approprié.

I-4-Réactifs et produits chimiques : Voir annexe 1

II-Méthodes de travail

II-1-Préparation du matériel végétal

La préparation des extraits est réalisée à partir de la poudre selon la méthode de Markham (1982), avec modification inspirée selon la méthode de Bruneton (1993). Cette méthode comprend deux grandes étapes : la première étape d'extraction se fait avec du méthanol (extrait méthanolique) alors que la deuxième étape est réalisée avec des solvants de polarité différente : l'éther

diéthylique, l'acétate d'éthyle et le n-butanol. Pour cette étude nous avons utilisé l'extrait brut (méthanolique) et l'extrait buthanolique.

Dans une étude séparée, l'extrait méthanolique a préalablement subi une étude phytochimique primaire qui a permis la mise en évidence de certains composés phénoliques et le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes. Les résultats de cette étude sont présentés dans l'annexe 2.

II-2- Etude de l'activité antioxydante

II-2-1-Test de DPPH (effet scavenger)

L'activité anti-radicalaire de l'EMZC et l'EBZC a été évaluée, *in vitro*, par le test de DPPH. 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 [Cuendet et al.,1997; Burits and Bucar.,2000). Ce ci permet de suivre la cinétique de décoloration à 517nm. Pour cela, on utilise deux extraits : l'EMZC et l'EBZC. Donc 50µl de chacune des différentes concentrations de l'EMZC et l'EBZC ont été incubés avec 5ml d'une solution méthanolique de DPPH à 0.004%. Après une période d'incubation de 30 minutes, les absorbances à 517nm ont été enregistrées. Les résultats obtenus pour l'EMZC et l'EBZC ont été exprimés par rapport à ceux obtenus pour le BHT pris comme antioxydant de référence. Le pourcentage d'inhibition (I%) du radical DPPH par l'EMZC et l'EBZC ont été calculés comme suit:

$$I\% = [(AC - AE) / AC] \times 100$$

AC: absorbance en absence de l'inhibiteur (contrôle négatif)

AE: absorbance en présence de l'inhibiteur (échantillon)

Les concentrations inhibitrices de 50% de l'activité du DPPH (IC50) par l'EMZC et l'EBZC ont été par la suite calculées par une équation (que définit une courbe de calibration par régression linéaire) déterminant le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'inhibiteur. Elles ont été exprimées en µg/ml et comparées avec le contrôle.

II-2- 2-Test d'inhibition de la peroxydation lipidique

Pour ce test, deux méthodes différentes ont été utilisées. Test sur le foie du rat selon (Subhash C. Joshi., 2010) et test sur le jaune d'œuf selon la méthode modifiée de (Wong, Hashimoto, & Shibamoto, 1995) (S. Bounatirou, 2007).

II-2-2-1-Méthode du foie

Après un jeun pendant une nuit, les rats sont sacrifiées par décapitation cervicale. Après dessiccation, la cavité abdominale est perfusée avec de l'eau physiologique 0.9%. L'homogénat du foie est préparé à 10% dans une solution froide de tampon phosphate salé (pH 7.4). La peroxydation lipidique est estimée par le dosage des TBARS. Différentes concentrations de l'extrait méthanolique et buthanolique sont ajoutées à 1 ml d'homogénat. La peroxydation lipidique est induite par l'ajout de 100 µl d'une solution de FeSO₄ (15mMol) à l'homogénat du foie. Après 30 min d'incubation à 37°C, 100 µl de ce mélange sont mis dans un tube contenant 1.5 ml de TCA à 10%. Les tubes sont centrifugés après 10 minutes puis le surnageant est mélangé avec 1.5 ml de TBA à 0.67% préparé dans une solution d'acide acétique à 50%. Le mélange est chauffé à 100°C dans un bain marie pendant une heure. L'intensité de la coloration du complexe formé est mesurée à 532 nm. Le pourcentage de l'inhibition de la peroxydation lipidique est calculé en comparant les résultats des échantillons avec ceux du contrôle. (Subhash C. Joshi.,2010)

II-2-2-2- Méthode du jaune d'œuf

Une méthode modifiée de TBARS (Wong, Hashimoto, & Shibamoto, 1995) est aussi utilisée pour mesurer la capacité du potentiel antioxydant de l'EMZC et l'EBZC. L'homogénat du jaune d'œuf est utilisé comme milieu riche en lipides. Un aliquote de 10% (p/v) du jaune d'œuf est préparé dans du KCl (1.15% p/v) puis homogénéisé pendant 5 minutes. 500µl de cette homogénat sont mélangés avec l'extrait à tester dans un tube à essai puis le volume est complété à 1ml avec de l'eau distillée. En suite, 1.5ml d'une solution d'acide acétique à 20% (pH 3.5) et 1.5 ml d'une solution de TBA (2-thiobabaturic acid) à 0.8% (p/v) préparé dans l'SDS (sodium dodecyl sulphate) à 1.1% (p/v) sont ajoutés successivement. Ce mélange est mélangé avec le vortex puis chauffé à 95°C pendant une heure. Après refroidissement à température ambiante, 5 ml de 1- butanol sont ajoutés à chaque tube, vortexés puis centrifugés à 3000 rpm pendant 10 min. L'absorbance du surnageant est mesurée à 532 en utilisant un spectrophotomètre Shimadzu 160-UV. Toutes les valeurs sont exprimées comme un index antioxydant (IA%) qui est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Index Antioxydant \%} = [(A0 - A1)/A0] \times 100$$

A0 : l'absorbance du contrôle complètement oxydé.

A1 : l'absorbance de l'échantillon testé.

NB : Dans ces expériences, trois répétitions sont réalisées pour chaque test et les résultats sont exprimés par la moyenne \pm SD.

II-3 - Etude de l'activité antibactérienne.

Dans le présent test, nous avons utilisé la technique de diffusion en milieux gélosés sur boîtes de Pétri en adaptant la méthode des disques (méthode de Vincent) [Cavallo J.D., 2006]. Pour les résultats montrant un effet positif contre les souches bactériennes testées, la concentration minimale inhibitrice (CMI) est déterminée sur milieu liquide puis l'effet bactériostatique ou bactéricide est déterminé sur milieu gélosé.

II-3-1-L'Aromatogramme ou Méthode des Disques

L'étude du pouvoir antibactérien par cette technique est identique à celui de l'antibiogramme, la seule différence c'est le remplacement des antibiotiques par des extraits aromatiques : l'EMZC et l'EBZC (Figure 16).

✓ L'inoculum:

À partir d'une culture pure sur milieu gélosé des bactéries à tester (ayant au maximum 24h), racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques. Décharger l'anse dans 5 ml d'eau physiologique stérile à 0.9 %. Bien homogénéiser la suspension bactérienne. Son opacité doit être équivalente à 0.5 mack farlan (voire annexe1) ($DO = 0.08$ à 0.10 lue à 625 nm). L'ensemencement doit se faire en moins de 15 min après la préparation de l'inoculum.

✓ L'ensemencement:

Le milieu de culture utilisé est Muller – Hinton, qui est le milieu le plus employé pour les tests de sensibilité aux agents antibactériens. Couler 20 ml de la gélose Muller-Hinton dans chaque boîte de Pétri, et laisser solidifier. Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne, l'essorer en le pressant fermement, en 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 Pétri 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.

NB : Dans le cas de l'ensemencement de plusieurs boîtes de Pétri il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

✓ Préparation des disques d'aromatogramme:

-Stériliser du papier filtre coupé en disques de 6 mm de diamètre à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

Chapitre II :

-Imprégner les disques avec 50µl de l'EMZC (1mg/disque), 50µl de l'EBZC (1mg/disque), et le placer à la surface des boîtes de Pétri. Le même volume de méthanol et de butanol (50µl) est utilisé comme contrôle et des antibiotiques (Sulfamide, ampicilline, Rifampicin) sont utilisés comme standards positifs de référence pour déterminer la sensibilité de chaque souche bactérienne testée.

✓ **Incubation et Lecture:**

Incuber à température optimale pendant 24h. Après incubation, mesurer les zones d'inhibition (ZI mm).

Les expériences sont réalisées en trois répétitions et les résultats sont exprimés en moyenne \pm SD. La souche ayant un diamètre $D < 8$, $9 \geq D \leq 14$, $15 \geq D \leq 19$, $D > 20$ est considérée respectivement comme souche résistante (-), sensible (+), très sensible (++) , extrêmement sensible (+++) [Duraffourd C et al., 1990; Ponce et al., 2003]

II-3-2- Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)

La détermination de la CMI est pratiquée sur un milieu liquide. Elle consiste à réaliser des dilutions de l'EBZC, et les incorporer dans un milieu liquide (bouillon Mueller-Hinton), et à tester sur ces milieux les souches bactériennes à étudier. Une gamme de concentration de l'EBZC est préparée dans du butanol (4 ; 3 ; 2 ; 1 ; 0,75 ; 0,5 ; 0,25 et 0,12) mg/ml. L'inoculum utilisé est d'une turbidité ajustée à 0,5 Mc Farland préparé dans de l'eau physiologique.

Dans un tube à essai contenant 2ml du bouillon Muller – Hinton stérile, ajouter 500 µl de chaque solution de la gamme de dilution de l'EBZC, puis ajouter 400µl de l'inoculum, homogénéiser le mélange par mouvements rotatoires. Deux tubes témoins sont préparés pour chaque bactérie. Le premier contient 2ml de bouillon Muller-Hinton, 500µl de butanol et 400µl d'inoculum. Le deuxième contient 2 ml de bouillon Muller-Hinton et 400µl d'inoculum. Après incubation, on examine la croissance bactérienne (qui se traduit par une turbidité) dans chaque tube. La CMI d'un extrait vis-à-vis d'une souche donnée sera la plus petite des concentrations ne montrant aucune croissance visible de germe.

Après la lecture de la CMI, on effectue des repiquages en strie sur une gélose Muller-Hinton correspondant aux tubes sans croissance visible. Ces repiquages sont ensuite incubés à 37 °C pendant 24 h. La CMB sera la plus petite concentration dont le repiquage montre une croissance de germe inférieure ou égale à 0,01% de survivants.

II-4- L'analyse statistique

L'étude statistique analysant les résultats de l'activité antioxydante est réalisée à l'aide du système INSTAT2 MS-DOS en utilisant le test de variance univarié (one-way ANOVA) suivie du test de Tukey.

Les résultats ont été exprimés en moyenne \pm SD (déviation standard (n = 3). La comparaison est faite par rapport aux contrôles négatifs (en absence d'extrait)

Ce test nous donne le degré de signification P où on dit que la différence :

- N'est pas significative si $P > 0.05$ (NS).
- Est significative si $0.05 > P > 0.01$ (*).
- Est hautement significative si $0.05 > P > 0.01$ (**).
- Est très hautement significative si $P < 0.001$ (***)

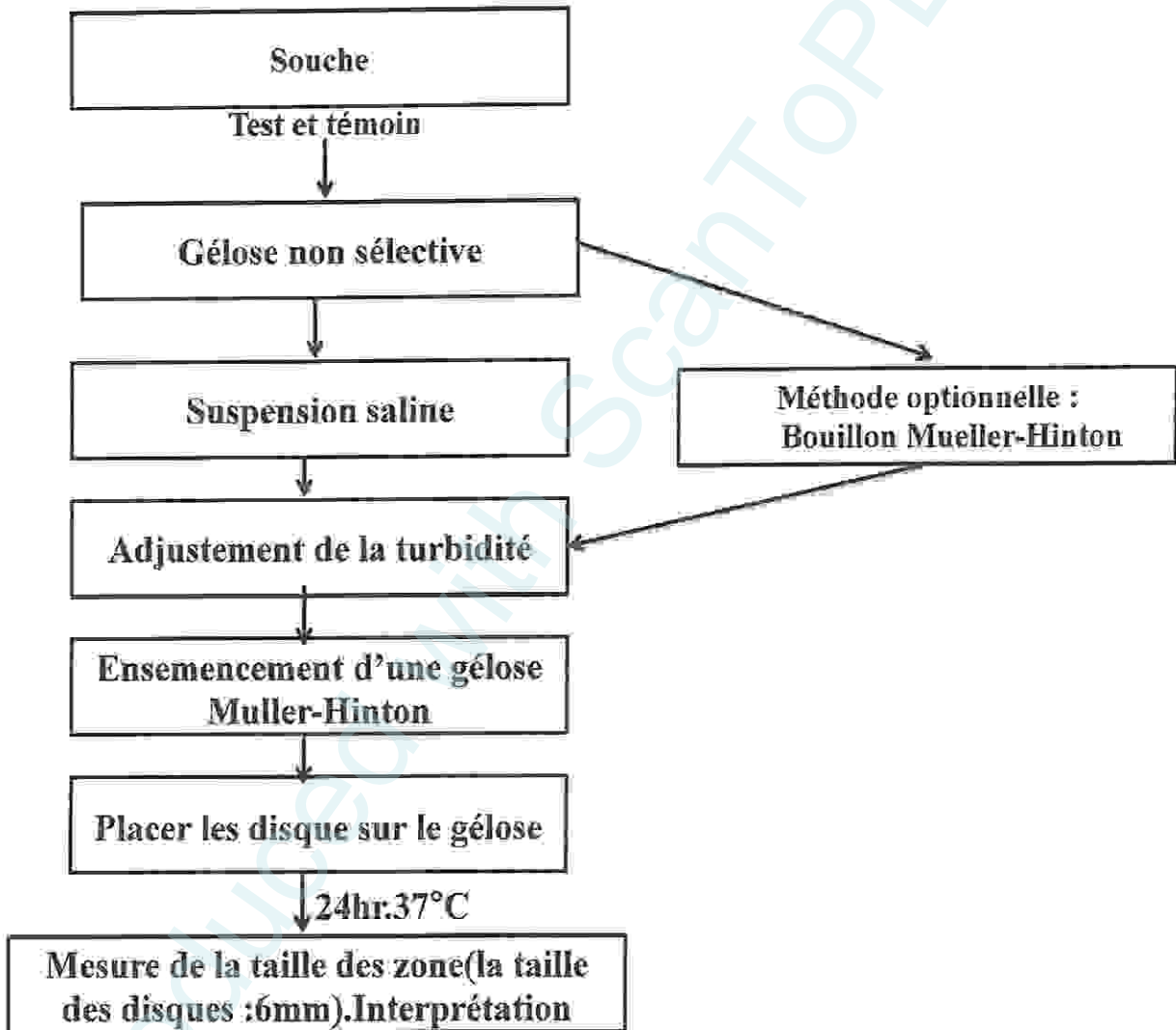


Figure 16 : Procédure de test de la sensibilité aux antimicrobiens avec diffusion en gélose par la méthode des disques.

Résultats et Discussion

Produced with Scantopdf

I- Etude de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante est déterminée par deux tests complémentaires, le test de DPPH et le test de l'inhibition de la peroxydation lipidique dont les résultats sont présentés sur le Tableau II.

I-1-Test de DPPH (*effet scavenger*)

L'effet scavenger a été étudié par le test de DPPH où la cinétique de décoloration de ce radical a été suivie à 517 nm après addition de 50 µl de chacune des concentrations de l'EMZC et l'EBZC. Les résultats étaient très hautement significatifs ($p < 0.001$, comparant avec le contrôle) et d'une façon dose dépendante (figure 17). Ce test nous a permis de déterminer la concentration inhibitrice piégeant 50 % du radical DPPH (IC50) qui était de $870.05 \pm 7.26 \mu\text{g/ml}$ pour l'EMZC et de $95.46 \pm 3.89 \mu\text{g/ml}$ pour l'EBZC contre $32.92 \pm 0.62 \mu\text{g/ml}$ pour le BHT (Butylated hydroxyl toluène.). On constate que l'effet scavenger de l'EMZC est 26 fois inférieur de celui du BHT alors que l'effet scavenger de l'EBZC est 3 fois seulement inférieur de celui du BHT.

Tableau II : Récapitulatif des résultats de l'activité antioxydante

L'extrait	DPPH (IC50 µg/ml)	Peroxydation lipidique (IC50 µg/ml)	
		Foie	Jaune Œuf
EMZC	870.05 ± 7.26	70.07 ± 2.37	38.56 ± 4.62
EBZC	95.46 ± 3.89	112.56 ± 5.36	98.42 ± 3.30
BHT	32.92 ± 0.62	nd	nd

nd : non déterminée

I-2-Test d'inhibition de la peroxydation lipidique

Ce test permet la mesure spectrophotométrique d'un pigment produit de la réaction du TBA avec le MDA qui est l'un des produits secondaires de la peroxydation lipidique. Il est évalué par deux méthodes différentes sur deux milieux différents considérés comme source de lipides.

La concentration en EMZC permettant d'inhiber 50% de la peroxydation lipidique (IC 50) était $70.07 \pm 2.37 \mu\text{g/ml}$ et $38.56 \pm 4.62 \mu\text{g/ml}$ respectivement pour le foie et le jaune d'œuf alors celle de l'EBZC était de $112.56 \pm 5.36 \mu\text{g/ml}$ et $98.42 \pm 3.30 \mu\text{g/ml}$ respectivement pour le foie et le jaune d'œuf

Du point de vu concentration, on note que les IC50s avec les deux extraits étaient plus

élevée au niveau du foie par rapport au jaune d'œuf pour le quel on note une IC 50 presque deux fois plus inférieure avec l'EMZC alors qu'avec l'EBZC, l'IC 50 sur le jaune d'œuf est significativement inférieure ($p < 0.05$) à celle observée en utilisant le foie. Donc on peut dire que les deux extraits sont plus efficaces contre la peroxydation lipidique des lipides du jaune d'œuf que celles du foie. Ce résultat peut être dû à la différence soit qualitative ou quantitative des lipides principalement les lipides insaturés qui sont plus susceptibles à la peroxydation lipidique.

Du point de vue efficacité, la comparaison entre l'activité inhibitrice des deux extraits montre que l'EMZC est plus efficace que l'EBZC que ce soit pour le test sur foie ou jaune d'œuf. Cette différence est considérée significative ($0.05 > p > 0.01$) et très hautement significative ($p < 0.001$) respectivement pour le foie et le jaune d'œuf.

Il faut noter aussi que l'effet des extraits contre la peroxydation lipidique au niveau du foie et du jaune d'œuf est dose dépendant. (Tableau III).

Tableau III : Pourcentages de l'index antioxydant de l'EMZC et l'EBZC déterminé sur le foie et le jaune d'œuf.

Concentration (m g/ml)	Pourcentage de l'index antioxydant			
	Jaune d'œuf		Foie	
	EMZC	EBZC	EBZC	EMZC
12	39,77±0,82	16,82±0,23	16,38±0,63	5,90± 1,77
25	46,84±1,79	28,08±1,42	23,05±1,27	28,80±2,57
50	57,31±2,37	38,27±0,89	35,77±1,75	44,71±1,18
100	66,27±1,43	48,30±0,73	44,33±2,31	64,90±3,11

La capacité antioxydante des plantes est principalement due à leur richesse en composés phénoliques, qui sont capables à donner des atomes d'hydrogènes pour inhiber la peroxydation lipidique [Amic et al., 2003]. La présence et le nombre de groupements OH libres sont des facteurs déterminants de l'activité antioxydante des polyphénols [Sharififar et al., 2008].

Dans notre étude, l'activité antioxydante mise en évidence pour nos extraits peut être attribuée à la présence de différents composés phénoliques (Tanin, saponosides, flavonoïdes, coumarines, et alcaloïdes sels) (voire annexe 2). L'activité scavenger de l'EBZC était plus élevée que celle de l'EMZC. Ce résultat peut être expliqué par le fait que l'EBZC contient une quantité concentrée de flavonoïdes qui sont aussi existant dans l'EMZC mais en faible quantité. Ces derniers sont connus par leur propriété antiradicalaire liée à leur structure portant des noyaux aromatiques

responsables du phénomène de résonance électronique stabilisant les radicaux libre. Les groupements hydroxyles libres en C3 et C5 et la double liaison C2-C3 conjuguée avec la fonction 4 oxo des flavonoïdes est aussi responsable de la délocalisation des électrons, en améliorant ainsi la capacité antiradicalaire. (Amić *et al.*, 2003).

Pour la peroxydation lipidique, des études ont montré que le pouvoir chélateur des flavonoïdes contre les ions métalliques par création de composés complexes inactifs (Malešev et Kuntić, 2007) peut être à l'origine de l'inhibition de la peroxydation lipidique (Tiqwari, 2001). Les tanins qui sont de forts antioxydants (Okuda *et al.*, 1983), et les coumarine qui sont des protecteurs vasculaires et antioedémateuses (Mabry et Ulubelen., 1980) sont aussi des acteurs principaux contre la peroxydation. Ces données nous permettent de comprendre au moins en partie les résultats qu'on a eu avec les deux extraits testés et de dire qu'il se peut que leur activité inhibitrice de la peroxydation lipidique soit attribuée à ces composés dont leurs présence est mise en évidence dans une étude séparée (annexe 2). Mais la différence d'efficacité entre l'EMZC qui a montré un meilleur résultat par rapport à l'EBZC reste aussi un point remarquable. Il peut être expliqué par le fait que l'EMZC contient plus de composés actifs (tanins, flavonoïdes, coumarine, saponosides, ... etc) et qui peuvent travailler en synergie, par contre l'EBZC ne contient qu'un certain type de flavonoïdes.

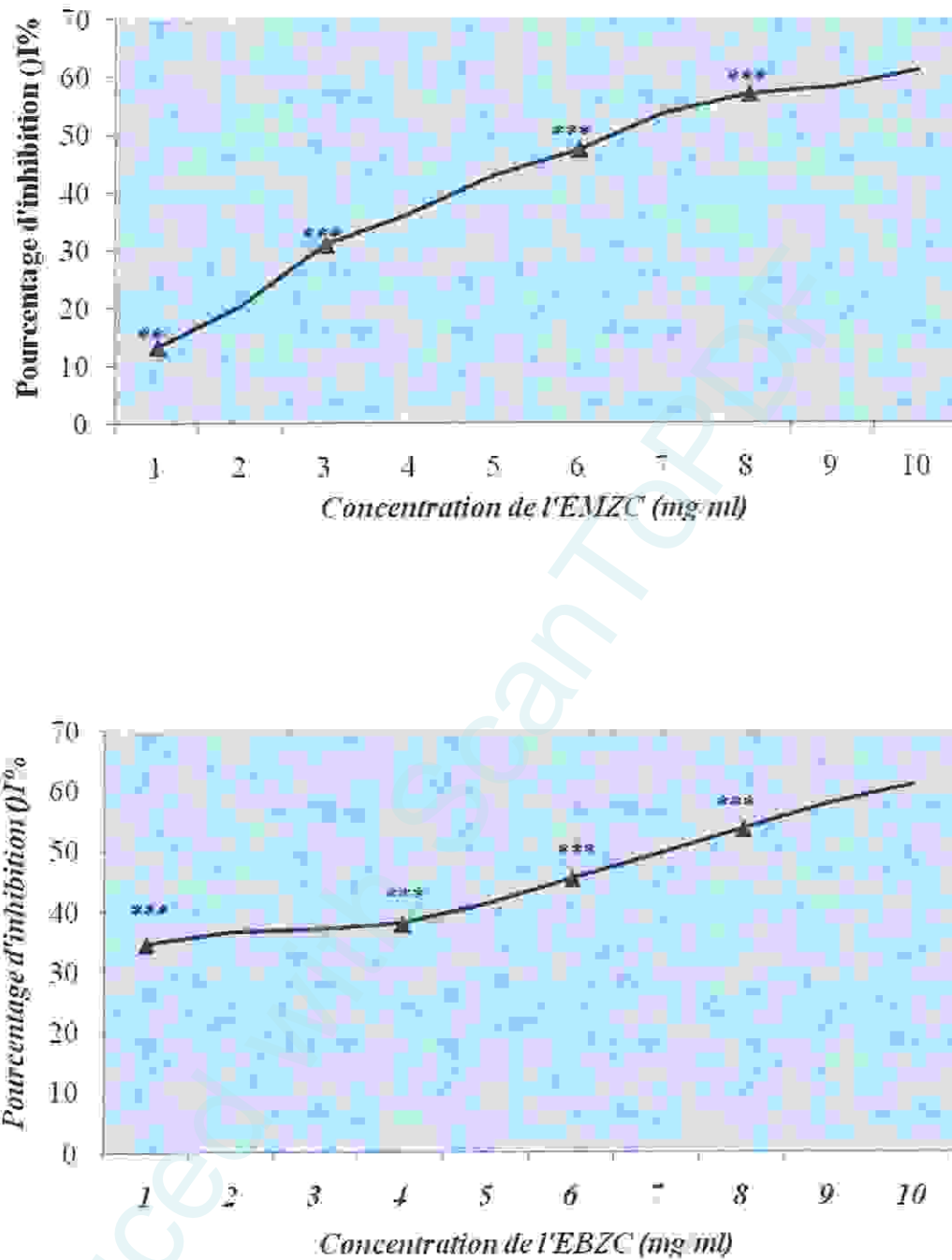


Figure 17 : Effet scavenger de l'EMZC et l'EBZC sur le radical DPPH.

Chaque point représente la moyenne (n = 3), *0.05>p>0.01, *** p < 0.001, comparant avec le contrôle

II- Etude de L'activité antibactérienne

II-1-L'activité antibactérienne

Les résultats de l'activité antimicrobienne contre les quatre espèces bactériennes testées sont résumés dans le Tableau IV. D'une manière générale, les deux extraits étudiés (EMZC et EBZC) étaient plus ou moins actifs contre au moins l'une des espèces testées mais avec plus d'efficacité pour l'EBZC.

Tableau IV : Diamètre (mm) des zones d'inhibition des extraits végétaux actifs.

	Zone d'inhibition (mm)				
	EMZC	EBZC	Standard		
			A	R	S
<i>Staphylococcus aureus</i>	7 ± 0.23 (-)	11 ± 0.05 (+)	PA	35 ± 0.33 (+++)	19 ± 0.31 (++)
<i>Escherichia coli</i>	PA				25 ± 0.05 (+++)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	PA	9 ± 0.22 (+)	12 ± 0.09 (+)	10 ± 0.11 (+)	PA
<i>klebsiella pneumoniae</i>	9 ± 0.04 (+)	17 ± 0.04 (++)	PA	9 ± 0.01 (+)	PA

-Diamètre $D < 8\text{mm}$, $9\text{mm} \geq D \leq 14\text{mm}$, $15\text{mm} \geq D \leq 19\text{mm}$, $D > 20\text{mm}$ est considérée respectivement comme souche résistante (-), sensible (+), très sensible (++), extrêmement sensible (+++)

-PA : pas d'activité

Staphylococcus aureus n'était pas sensible (7 ± 0.23) (Figure 18) à l'EMZC mais a présenté une sensibilité modérée à l'EBZC (11 ± 0.05) (Figure 18), alors que ces deux extraits étaient inactifs contre *Escherichia coli*. Pour *Pseudomonas aeruginosa*, l'EMZC n'a montré aucune activité devant une activité modéré (9 ± 0.22) (Figure 19) pour l'EBZC.

klebsiella pneumoniae était sensible (9 ± 0.04) (Figure 20) et très sensible (17 ± 0.04) (Figure 20) respectivement à l'EMZC et l'EBZC. Les contrôles n'ont montré aucune activité contre les quatre souches testées.

L'activité antimicrobienne de l'EMZC contre *klebsiella pneumoniae* peut être due à la présence des alcaloïdes, des flavonoïdes et des tanins (Brantner et al., 1996) dont leur présence est mise en évidence dans une étude séparée sur cette plante (voire annexe 2). Les composés phénoliques et les quinones qui en dérivent par oxydation participent à la défense de la plante contre les agressions comme antibactériens ou antifongiques en se liant aux protéines et en inactivant les activités enzymatiques des microorganismes (Harborne J.B et al., 1992). Citons à titre d'exemple l'action des tanins qui peuvent inhiber la machinerie enzymatique des microorganismes, ont une action lytique par effet direct sur leur membrane ou complexation de certains ions métalliques

indispensables pour leur survie, en particulier le Fer (Milal et al., 1996). Le résultat non significatif ou complètement négatif pour les autres espèces bactériennes (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*) peut signifier la résistance de ces dernières vis-à-vis de l'EMZC sachant que certains microorganismes peuvent d'ailleurs dégrader les composés phénoliques qui leur servent alors de substrats carbonés et favorisent ainsi leur croissance (Straney D et al., 2002).

L'EBZC s'est avéré plus efficace que l'EMZC. Ici, il faut rappeler que l'activité d'une substance végétale dépend de plusieurs facteurs dont le mode d'extraction et la concentration en principe actif (Wagner, 1993 ; Thagara *et al.*, 2000).

BAGRE, par une étude phytochimique confirmée par une chromatographie sur couche mince (CCM) a montré que, lorsqu'on passe d'un extrait total à un autre de la même plante, certains groupes chimiques sont éliminés et d'autres sont concentrés. (BAGRE, 2007). Pour l'extrait butanolique, les flavonoïdes constituent le groupe principal concentré et qui est doué d'une forte activité antimicrobienne dont le mécanisme d'action n'est pas encore bien établi. (Brantner et al., 1996).

II-2- Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)

La CMI est déterminée uniquement pour l'EBZC qui a montré l'activité la plus élevée. Les résultats pour une gamme de concentration en EBZC allant de (0.12 à 4) mg/ml sont présentés dans le tableau V.

Tableau V : Concentration minimale inhibitrice de l'EBZC

	Concentration de l'EBZC en mg/ml							
	0.12	0.25	0.5	0.75	1	2	3	4
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	+	-	-	-	-	-	-
<i>klebsiella pneumoniae</i>	+	+	+	-	-	-	-	-

A partir du tableau V, on a pu conclure les valeurs des CMI correspondantes à chaque espèce et qui étaient \leq à 0.12mg/ml pour *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), 0.5mg/ml pour *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) et de 0.75mg/ml pour *klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603).

Après la lecture des CMI, des repiquages en strie sont effectués sur une gélose Muller-Hinton correspondant aux tubes sans croissance visible pour déterminer la CMB. Les résultats sont montrés par les figures 21 et 22.

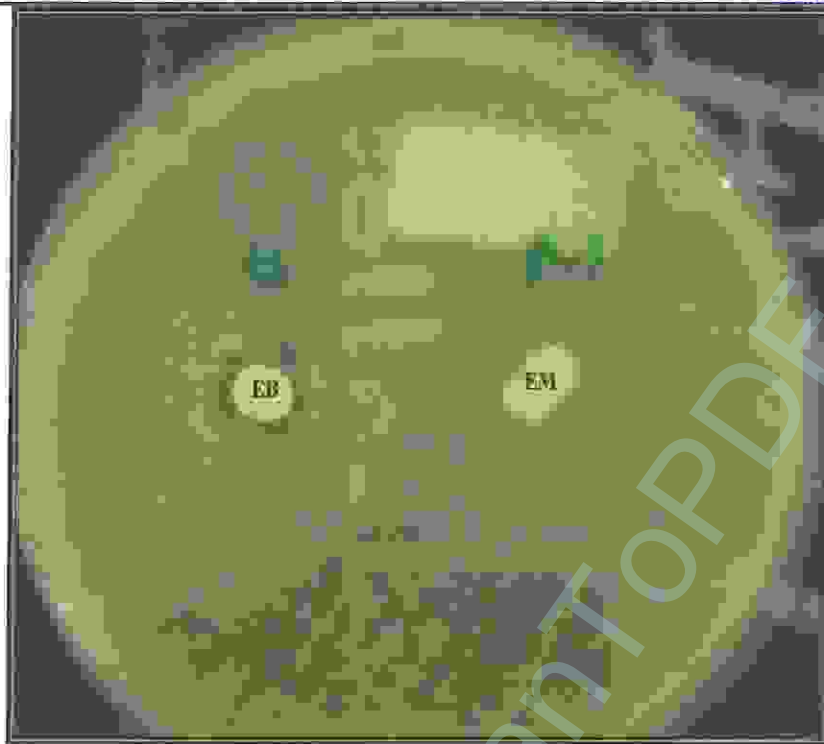


Figure 18 : Photo montrant l'effet antibactérien de l'EBZC (EB) et de l'EMZC (EM) contre *Staphylococcus aureus*

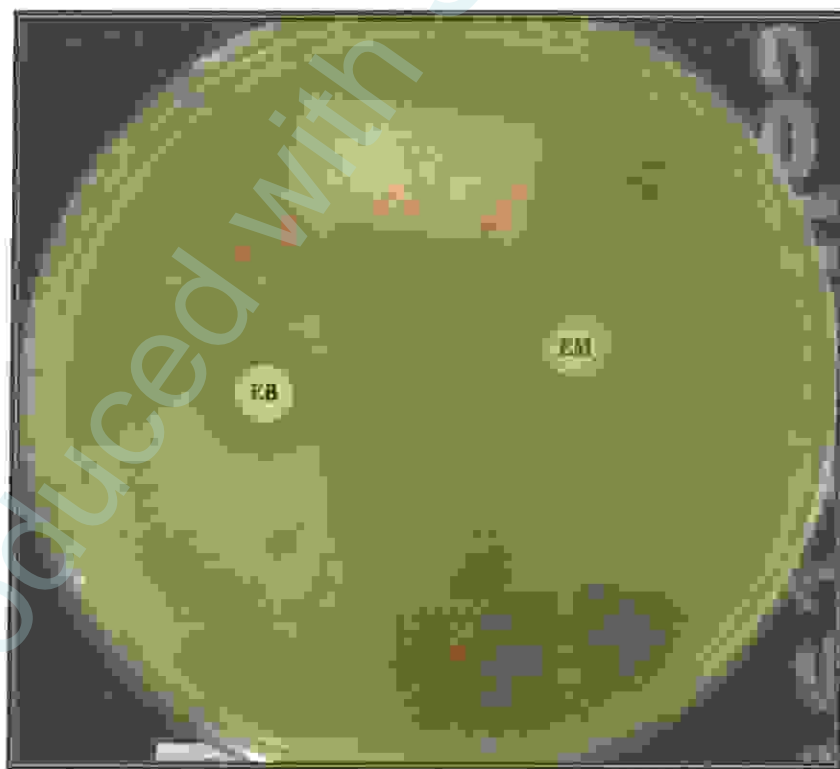


Figure 19: Photo montrant l'effet antibactérien de l'EBZC (EB) et de l'EMZC (EM) contre *Pseudomonas aeruginosa*

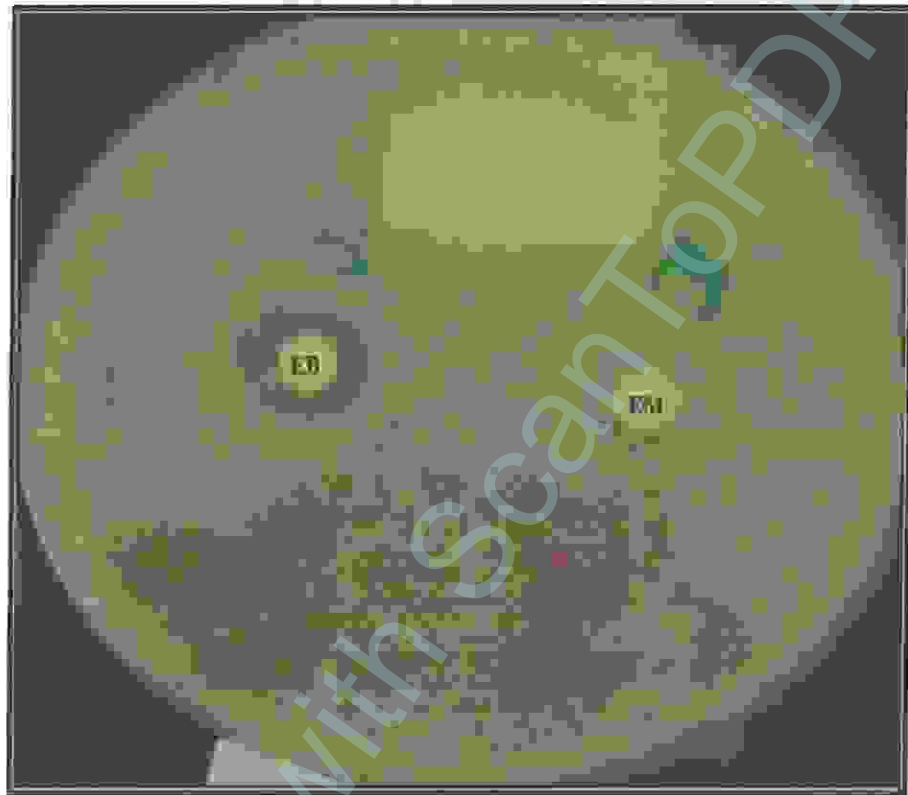


Figure 20 : Photo montrant l'effet antibactérien de l'EBZC (EB) et de l'EMZC (EM).

Contre *klebsiella pneumoniae*

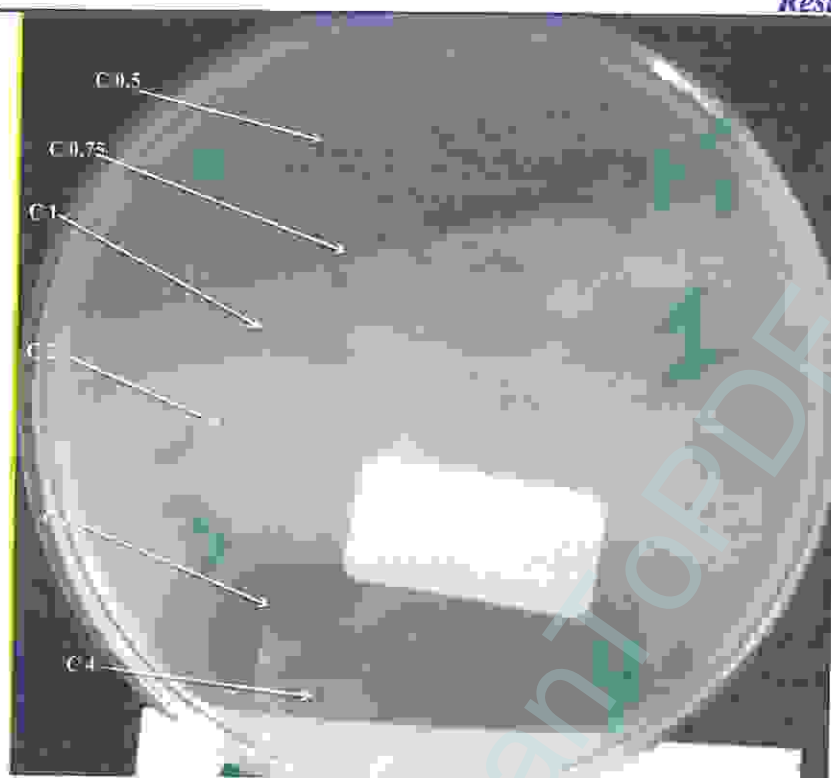


Figure 21: Photo montrant la détermination de la CMB de *Pseudomonas aeruginosa* (C0.75, C0.5, C1, C2, C3 et C4): les concentrations qui n'ont pas une croissance visible.

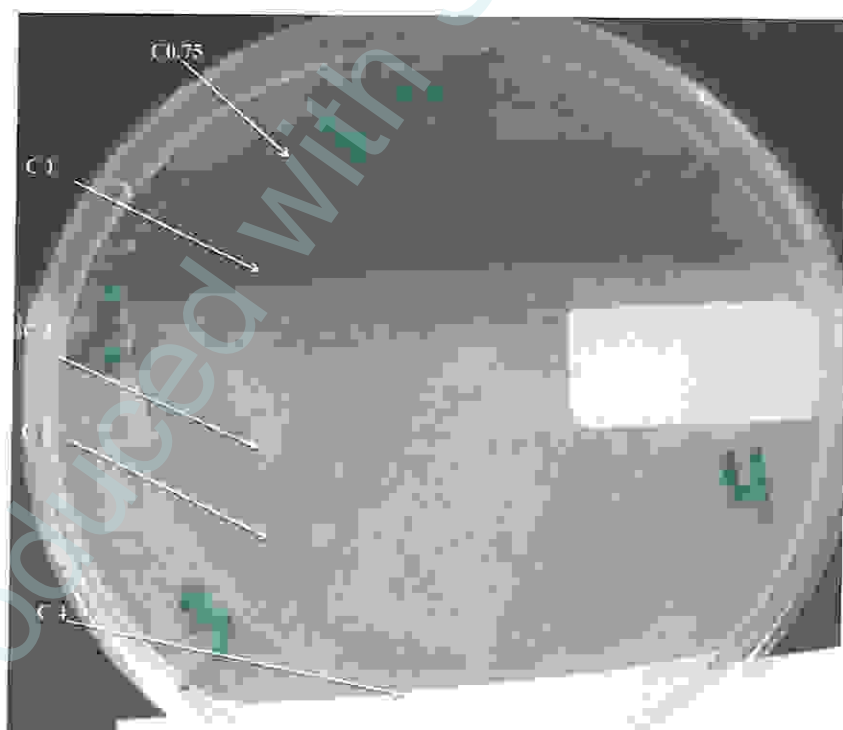


Figure 22: Photo montrant la détermination de la CMB de *Klebsiella pneumoniae* (C0.75, C1, C2, C3 et C4): les concentrations qui n'ont pas une croissance visible.

La CMB est la plus petite concentration dont le repiquage montre une croissance de germe inférieure ou égale à 0,01% de survivants. Les figures x1 et x2 montrent qu'il n'existe aucune croissance bactérienne pour *Pseudomonas aeruginosa* et *klebsiella pneumoniae* y compris leurs CMI. Donc, le taux de survivant est strictement inférieur à 0.01% et dans ce cas la CMB pour ces deux espèces correspond à leurs CMI qui sont respectivement 0.5mg/ml et 0.75mg/ml.

Pour *Staphylococcus aureus*, on observe une faible croissance bactérienne mais supérieur à 0.01% de survivant pour toutes les concentrations n'ayant montré aucune croissance visible sur milieu liquide y compris la CMI. Donc on peut dire que la CMB de l'EBZC contre *Staphylococcus aureus* est supérieure à 4 mg/ml.

Ces résultats nous permettent de déterminer le rapport CMB/ CMI qui est considéré comme paramètre très important qualifiant l'activité antimicrobienne d'une substance donnée.

Selon Marmonier (1990), lorsque le rapport d'activité CMB/CMI d'une substance antimicrobienne est inférieur ou égal à quatre (≤ 4), cette dernière est qualifiée de substance bactéricide et si le rapport CMB/CMI est supérieur à quatre (> 4), alors elle est dite bactériostatique. Le tableau VI récapitule les différents résultats de la CMI, la CMB ainsi que le rapport CMB/CMI pour l'EBZC contre *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *klebsiella pneumoniae*

Tableau VI: Valeurs de CMI, CMB et rapport CMB/CMI pour l'EBZC.

	CMI (mg/ml)	CMB (mg/ml)	CMB/CMI
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.12	>4	> 33
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0.5	0.5	1
<i>klebsiella pneumoniae</i>	0.75	0.75	1

Partant de ces résultats on peut dire que l'EBZC a un effet bactéricide contre *Pseudomonas aeruginosa* et *klebsiella pneumoniae* alors qu'il peut être qualifié bactériostatique pour *Staphylococcus aureus*.

Conclusion

Produced with ScantOPDF

Conclusion et perspectives

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Une étude des propriétés antioxydante et antibactérienne a concerné deux extraits d'une plante saharienne, appartenant à la famille des Zygophyllaceae et très fréquemment employées contre le diabète en Algérie.

Le potentiel antiradicalaire et antiperoxydation lipidique de l'extrait méthanolique et butanolique de *Zygophyllum cornutum* ont été déterminés respectivement par la méthode de DPPH et des TBARS dont les résultats montrent que ces extraits possèdent une bonne activité, donc ils sont considérées comme source prometteuses d'agents antioxydants de première classe et peuvent être employées pour des applications thérapeutiques, sachant que les antioxydants contribuent de manière très efficace à la prévention des maladies telles que le cancer, et les maladies cardiovasculaires.

Au cours de cette étude nous avons réalisé également un test antibactérien vis-à-vis de quelques germes pathogènes, les résultats microbiologiques ont montré que ces deux extraits agissent différemment sur les espèces bactériennes testées mais avec plus d'efficacité pour l'EBZC dont son effet est qualifié bactéricide pour *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae*, et bactériostatique pour *Staphylococcus aureus*.

Sachant que notre pays possède une biodiversité immense et chaque plante se caractérise par un réservoir assez important de métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques particulières qui nécessitent d'être exploitées par les recherches. Dans ce contexte, et comme perspectives on propose de :

- Isoler et identifier les substances actives des extraits étudiés et tester leurs activités biologiques.
- Déterminer de nouvelles substances bioactives naturelles pourront répondre aux différents problèmes de la santé et d'être un alternatif des médicaments synthétiques.
- Développer des médicaments antioxydants à base des plantes.
- Orienter les recherches scientifiques vers la réalisation des études approfondies et complémentaires de l'activité antioxydante et antibactérienne des composés phénoliques.

Références bibliographiques

Produced with ScantOPDF

Références bibliographiques

- Abou-Gazar H., Bedir E., Takamatsu S., Ferreira D., Khan I.A., (2004).** Antioxidant lignans from *Larreatridentata*. *Phytochemistry*, Vol.(65), 2499–2505.
- Ahmad V.U., Shafi U.G and Shaiq A.M., (1992).** Saponins from *zygophyllumpropinquum*. *Phytichemistry*. Vol. 33(2):453-455.
- AmićD., Davidović-AmićD., BešloD. and TrinajstićN., (2003).** Structure-radical scavenging activity relationship of flavonoids. *Croatica Chemica Acta*. Vol(76):55-61.
- Amjad Hossain., (2005).** Neem seed oil: Bangladesh, EXAMPLES OF THE DEVELOPMENT OF PHARMACEUTICAL PRODUCTS FROM MEDICINAL PLANTS. Vol. (10), p60.
- Amzal Hassane., (2010).** Etude de l'activité antioxydante des saponines des tourteau de l'arganier. Spécialité: biochimie pharmacologie. univer: mohammed Vagdal.
- Anesini C., Genaro A., Cremaschi G., Sterin B. L., Cazaux C., Borda E., (1996).** Immunomodulatory activity of *Larreadivaricata* Cav. *Fitoterapia*. Vol. (67):329–33.
- Antolovitch M., Prenzler P.D., Patralides E., Mc Donald S., Robards K., (2002).** Methods for testing antioxydant activity. *The Royal Society of Chmistry Analyst*. 127, 183-192.
- Atta A.H., Mouneir S.M., (2004).** Antidiarrhoeal activity of some Egyptian medicinal plant extracts. *Journal of Ethnopharmacology*. Vol.(92) : 303–309.
- Avril J., Carlet J., (1998).** Les infections nosocomiales. Ellipses. Paris. p.697.
- Baba Aissa F., (2000).** Encyclopédie des plantes utiles Flore d'Algérie et du Maghreb. *EDAS Librairie moderne Rouiba*. p. 368.
- Baba Aissa F., (1991).** Les plantes médicinales en Algérie. *Bouchène et Ad.Diwan*.
- Bahorun T., (1997).** Substances Naturelles Activées : La Flore Mauricienne, Une Source D'approvisionnement Potentielle. *Food and Agricultural Research Council, Réduit, Mauritius*.
- Baskin S.I and Salem H., (1994).** Oxidant, Antioxidant and Free Radicals. *Academic press Inc*. Vol.363: (25-62).
- Belaiche, P., (1979).** "L'aromatogramme". *Traité de phytothérapie et d'aromathérapie*. M. S. A. Editeur. Paris. tome 1- (204).
- Bellakadhar, J., Claisse, R., Fleurotin, J., Younos, C., (1981).** Repertory of standard herbal drugs in the *Moroccan pharmacopoea*. *Journal of Ethnopharmacology*. Vol.(35) : 123–143.
- Berche P., Gaillard J-L, Simonet M (1988).** Bactériologie: bactéries des infections humaines. *Médecine-Sciences Flammarion*.
- Bergogne E., Dellamonica P. (1995).** Antibiothérapie en pratique clinique. 2^{ème} Edition, Masson, Paris, p.486.

Beta T., Nam S., Dexter J.E. and Sapirstein H.D., (2005). Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and Roller-Milled fractions. *Cereal Chem.* Vol. (82): 390-393.

Bousbia., (2004). Extraction et identification de quelques huiles essentielles (nigelle, coriandre, origan, thym, romarin), étude de leurs activités antimicrobiennes. Thèse de Magistère, option Sciences Alimentaires, Institut National Agronomique, Alger (Algérie).

Boyd B., Ford C., Koepke Michael., 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 ET Nutrition.* Vol. 4(6). 7p.

Brantner A., Males Z., Pepeljak S., Antolic A., (1996). Antibacterial activity of *paliurus spina-christi* Mill (Christ's thorn). *Journal of Ethnopharmacology.* Vol.(52):119-122.

Brent, J., (1999). Three new herbal hepatotoxic syndromes. *Journal of Toxicology and Clinical Toxicology.* Vol.(37) : 715-719.

Bruneton J., (1999). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. 3ème Ed. Editions médicales internationales. 3ème Edition. Editions Tec & Doc Lavoisier. Paris. p.1120.

Burits M and Bucar F., (2000). Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research.* Vol.(14): 323-328.

Corbo M.R., (2000) : Effects of Hescanal, trans-2- Hescanal and storage Temperature on Shelf life of Fresh Sliced Apples. *Journal of Agricultural and food chemistry.* Vol.(48): 2401-2408.

Cowan M.M., (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews.* Vol. (12) : 564-582.

Cristina Popovici., Ilonka Saykova., Bartek Tylkowski., (2009). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel.* Vol. (4) : 25-39.

Cuendet M., Hostettmann K. and Potterat O., (1997). Iridoidglucosides with free radical scavenging properties from *Fagraea blumei*. *Helvetica Chimica Acta.* Vol.(80): 1144-1152.

Dastidar S.G., kumar KA., Mazumdar K., Dutta N.K., chakrabatary A.N., Motohashi N. et shirataki Y. studies on the antibacterial potentiality of isoflavones. *International Journal of antimicrobial Agents.* Vol. (23): 99-102.

Delaveau P., (1987). Les Épices, Histoire description et usage des différents épices aromates et condiments.

Dweck A.C., (2002). Herbal Medicine for the skin their chemistry and effects on skin and mucous membranes, personal car magazine).

Erlund I., (2004). Review of the flavonoids quecetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. *Nutrition Research.* Vol.0(24): 851-874.

Eskander E.F., Won Jun H.,(1995). Hypoglycemic and hyperinsulinic effects of some Egyptian herbs used for the treatment of diabetes mellitus (type II) in rats. *Egyptian Journal of Pharmaceutical Sciences*. Vol.(36): 331-342.

Farnsworth N. R., Akerele O., Bingel A. S., Soejarto D. D. et Guo Z.,(1986). Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. *Bulletin de l'organisation mondiale de la santé*. Vol. 64 (2): 159-164.

Fauchère J.-L., (2002). "Bactériologie générale et médicale" Ellipses .7^{ème} Editions Paris , p. 365.

Favier A., (2003). De Quelques Plantes dites Médicinales et de leur fonctions Editions Aenigma.p.63.

Françoise HeiazvincentDelbecaue., (2007).soignewvoes animaux par les plantes, phytothérapie, Gemmothérapie, Aromathérapie, 2^{ème}Edition, Quintessence,p.37.

GERONIMI Marie., (2008). Analyse biomécanique de la préhension chez la personne âgée : Effet des propriétés intrinsèques et extrinsèques de l'obstacle sur les phases du mouvement. Spécialité : Biomécanique, Univer: du SUD TOULON - VAR

Grosmond G.,(2001) . La phytothérapie. Elevage et agriculture biologique. Bulletin des GTV et HS.143-145.

Hale A.L.,(2003).Screening Potato Genotypes for Antioxidant Activity,Identification of the Responsible Compounds, and Differentiating Russet Norkotah Strains Using Aflp and Microsatellite Marker Analysis. Office of Graduate Studies of Texas A&M University.Genetics.p.260.

Hallé F et Lieutaghi P.,(2008). Aux origines des plantes : des plantes et des hommes. Edition Fayard.p.643.

Hamdi Pacha, Y. ; Bekhiri, A. ; Benazzouz, M. ; Benhamza, L. ; Bensegni, L.,(2002). I-Evaluation de l'activité cicatrisante suite à des brûlures expérimentales de quelques plantes algériennes. *Rev. Méd. Pharm. Afr.* Vol. (16):1-8.

Hani A.M.E., Shaker K.H., Pollmann k and Seifert K., (1995). Triterpénoïdsaponins from *Zygophyllum* species.Phytochemistry. Vol. (4) : 1233-1236.

Hans W. K.,(2007). 1000 plantes aromatiques et médicinales. Terre édition. p6-7.

Iserin P., Masson M., Restellini J. P., Ybert E., De Laage de Meux A., Moulard F, Zha E., De la Roque R., De la Roque O., Vican P., Deesalle –Féat T., Biaujeaud M., Ringuet J., Bloth J. et Botrel A.,(2001). Larousse des plantes médicinales : identification,préparation, soins.4^{ème} Edition Larousse. p10-12.

JacqueLivendron.,(1996). Les metabolites secondaires des plantes. editeur : Dunod. P. 320.

Jaouhari, J.T., Lazrek, H.B., Jana, M., (2000).The hypoglycemic activity of *Zygophyllumgaetulum*extracts in alloxan-induced hyperglycemic rats. *Journal*.

John W., Hilton Ph.D., (1989) Les antioxydants rôles, types et nécessités dans les aliments pour animaux de compagnie. *Can Vet J*, Vol. (30).

Joshi a, Arti R. Verma b, Chandra S., (2010). Mathela a Antioxidant and antibacterial activities of the leaf essential oils of Himalayan Lauraceae species Subhash C.* *Food and Chemical Toxicology* .Vol.(48): 37–40.

Josiane CILLARD., Pierre CILLARD., (2006). Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations *OCL*. Vol.(13) N° 1.

Katya P Svoboda and Janice B Hampson.,(1999). Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, anti inflammatory and other related pharmacological activities.

K. Das, R. K. S. Tiwari and D. K. Shrivastava.,(2010). Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: Current methods and future trends, *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 4(2): 104-111.

Kaufmann, S.,(1997). Host response to intracellular pathogens, Springer, New York. p.348.

Kay M.,(1996). Healing with Plants in the American and Mexican West. University of Arizona Press, Tucson, pp. 178–181.

Koehler-Ramonatxo C.,(2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition Clinique et métabolisme*. Vol.(20):165-177.

Kristina Pelliet Marika Lyly., (2003): Les antioxydants dans l'alimentation, Biotechnology Finlande.

Leclerc H., Gaillard J-L., Simonet M (1995). Microbiologie générale, la bactérie et le monde bactérien. Doin Editeurs, Paris .p:535.

Liu, H., Nakanishi, K.,(1982). The structures of balanitins, potent molluscicides isolated from *Balanites aegyptiaca*. *Tetrahedron*, Vol. (38) : 513–519.

Lori Lyons ., Devan Nambiar.,(2005). Un guide pratique des plantes médicinales pour les personnes vivant avec le VIH).

Lugasi A., Hóvári J., Sági K.V. and Bíró L., (2003). The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta Biologica Szegediensis*. Vol. (47) :119-125.

Maiza K., Hammiche V., Brac de la Perrière R.A., (1993). Traditional saharian pharmacopoeia. In: Schilcher, H., Phillipson, J.D., Loew, D. (Eds.), *ISHS Acta Horticulturae* 332: WOCMAP I—Medicinal and Aromatic Plants Conference. Maastricht, Netherlands (CR-rom).

Markham KR.,(1982). Techniques of flavonoids identification. *Academic Press* (London); Chap.1 et 2: 1-113.

MARMONIER A. A., (1990). Introduction aux techniques d'étude des antibiotiques. Bactériologie Médicale, technique usuelles, 227-236.

Mazza Gand Oomah B.D.,(2000). Chemistry, pharmacology and clinical applications of St. John's wort and Ginkgo biloba. In "Herbs, Botanicals and Teas". Technomic Publishing Co. Inc. Lancaster, PA, U.S.A. pp: 131-176.

Meng X.L., Riordan N.H., Casciari J.J., Zhu, Y., Zhong J., Gonzalez M.J., Miranda-Massari J.R., Riordan H.D.,(2002). Effects of a high molecular mass *Convolvulus arvensis* extract on tumor growth and angiogenesis. PR Health Science Journal, Vol.(21): 323-328.

Michelline Marie Regina Kansole., (2009). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques *Lamiaceae* du Burkina Faso. Spécialité: Biochimie et Biologie des substances naturelles. Univer: Ouaga Dougou.

Milal., Scalbert A and Expert D.,(1996). Iron withholding by plant polyphenols and resistance to pathogens and rots. Phytochemistry .Vol.(42):1551-1555.

Millogo H., Guisson I. P., Nacoulma O. et Traore A. S.,(2005). Savoir traditionnel et médicaments traditionnels améliorés. Colloque du 9 décembre. Centre européen de santé humanitaire -Lyon.

Molyneux P., The use of stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity., (2004). Songklanakarin J. Sci. Technol. Vol 26 (2): 211-219.

Morel Y. ET Barouki R., (1999). Repression of gene expression by oxidative stress. Biochem J. Vol.342(3) :481-496.

MOROH J.-L. A., BAHIC., DJE K., LOUKOU Y. G., GUEDE-GUINA F.,(2008). Étude de l'activité antibactérienne de l'extrait acétatique (EAC) de *Morinda morindoides* (Baker) Milne-redheat (rubiaceae) sur la croissance *in-vitro* des souches d'*Escherichia coli*. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège. Vol. (77) : 44 – 61.

Nanjo F, Goto K, Seto R, Suzuki M, Sakai M, Hara Y., (1996). Scavenging effects of tea catechins and their derivatives on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. Free Radic Biol Md., Vol. 21(6): 895-902.

Narayana K. RAJ NARAYANA, M. SRIPAL REDDY, M.R. CHALUVADI, D.R. KRISHNA. (2001). Bioflavonoids classification Pharmacological, Biochemical Effects and Therapeutic Potential, Indian Journal of Pharmacology, Vol. (33): 2-16.

Nauciel, C.,(2000). Bactériologie médicale, 3^{ème} édition. Masson, p.5-11, 17, 21, 35, 45, 55, 65, 75.

Nijveldt R.J., van Nood E., van Hoorn D.E.C., Boelens P.G., van Norren K. and van Leeuwen P.A.M.,(2001). Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. Am. J. Clin. Nutr. Vol. (74) : 418-425.

Omar Ellouze., Nabil Frikha., Sonia Ouerghi., Taher Mestiri., Mohamed Salah Ben Ammar., (2011). La N-acétylcysteine dans le choc septique La Tunisie Médicale . Vol.89 (n°010) : 738 – 744.

Ozenda P., (1977). Flore du Sahara. 2ème édition (Ed. du Centre National de la Recherche Scientifique). Paris. 318-320.

Peluso M.R., (2006). Flavonoids attenuate cardiovascular disease, inhibit phosphodiesterase, and modulate lipid homeostasis in adipose tissue and liver. *Exp. Biol. Med.* Vol.(231):1287-1299

Pettit, G.R., Doubek, D.L., Herald, D.L., Numata, A., Takahasi, C., Fujiki, R., Miyamoto, J.,(1991). Isolation and structure of cytostatic saponins from the African medicinal plant *Balanites aegyptica*. *Journal of Natural Products*, Vol.(54) : 1491–1502.

Pincemial ., M Meurisse R Limet et J.O Defraigne., (1998). Mesure et utilisation des antioxydants en médecine humaine. MS 73.

Porter N., (2001). Essential oils and their production crop et food research.

Psotová J., Lasovský J. and Vicar J., (2003). Metal-chelating properties, electrochemical behaviour, scavenging and cytoprotective activities of six natural phenolics. *Biomed. Papers.* Vol. (147) : 147-153.

Quezel P ., Santa S.,(1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome I, C.N.P.S. Paris.

Russo-Marie, F., Peltier, A., (1998). L'inflammation, John Libbey Eurotext, Paris. p.565.

Saber, A.H., El-Moghazy Shoib, A.M.,(1960). *Zygophyllum coccineum*. V. Chemistry of leaf and stem. *Journal of Pharmaceutical Science of the U.A.R.* Vol.(1) : 1–6.

Sanchez-Moreno C., Larrauri Jose A ., Saura-Calixto F. A.,(1998). Procedure to Measure the Antiradical Efficiency of Polyphenols, *Journal of the Science of Food and Agriculture*. Vol. 76(2): 270-276.

Sasmakov S.A., Putieva M. Zh., Saatov Z., Kachala V.V., Shashkov A.S.,(2001). Triterpene glycosides of *Zygophyllum eichwaldii* C.A.M. *Chemistry of Natural Compounds*. Vol. (37): 91–92.

Scherer R., Godoy H. T.,(2009). Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry*. Vol. (112): 654–658.

Scientific correspondance., 2003.

Sharififar F., Dehghan-Nudeh G. and Mirtajaldini M., (2008). Major flavonoids with antioxidant activity from *Teucrium polium* L. *Food Chemistry*, 1–19.

Smati, D., Hammiche, V., Nehari, H., Alamir, B., Merad, R., (1993). *Zygophyllum geslinicoides*: chemical investigation of hypoglycemic activity. In: Schilcher, H., Phillipson, J.D.

Smati, D., Longeon, A., Guyot, M., (2004). 3 β -(3,4-Dihydroxycinnamoyl)-erythrodiol, a cytotoxic constituent of *Zygophyllum geslinicoides* collected in the Algerian Sahara. *Journal of Ethnopharmacology*. Vol. (95): 405-407.

Sobia Nisa¹, Yamin Bibil, Abdul Waheed², Muhammad Zia^{3*}, Sadia Sarwar¹, Sabbir Ahmed⁴ and M. Fayyaz Chaudhary¹, (2011). Evaluation of anticancer activity of *Debregeasia Salicifolia* extract against estrogen receptor positive cell line, *African Journal of Biotechnology*. Vol. 10(6): 990-995.

Tahraoui A., El-Hilaly J., Israili Z.H., Lyoussi B., (2007). Ethnopharmacological survey of plants used in the traditional treatment of hypertension and diabetes in south-eastern Morocco (Errachidia province). *Journal of Ethnopharmacology*. Vol. (110): 105-117.

Tapiero H., Tew K.D., Nguyen Ba G. and Mathé G., (2002). Polyphenols: do they play a role in the prevention of human pathologies? *Biomed. Pharmacother.* Vol. (56): 200-207.

THAGARA J. H. S., ADJEI O., ALLEN B. W., PORTAELS Fet al., (2000). *In vitro* activity of ciprofloxacin, Sparfloxacin, Ofloxacin, Amikacin and Rifampicin against Ghanaian isolates of *Mycobacterium ulcerans*, *J. Antimicrob. Agents Chemother.* Vol. 45. (2): 231-233.

Van, Auken O.W., (2000). Shrub invasions of North American semiarid grasslands. *Annual Review of Ecology and Systematics*. Vol. (31): 197-215.

Vansant G., (2004). Radicaux libres et antioxydants principes de base. Symposium « Antioxydants et alimentation ». Institut Danone.

WAGNER H., (1993). *Pharmazeutische Biologie. Drogen und ihr Inhaltsstoffe*, Gustav Fisher Verlag. Stuttgart-New-York. p.522.

Wang Jet Mazza G., (2002). Effects of anthocyanins and other phenolic compounds on the production of tumor necrosis factor α in LPS/IFN- α -activated RAW 264.7 macrophages. *J. Agric. Food Chem.* Vol. (50), 4183-4189.

Whitford W.G., Nielson R., De Soyza A., (2001). Establishment and effects of creosote bush, *Larrea tridentata*, on a Chihuahuan Desert watershed. *Journal of Arid Environments*. Vol. (47): 1-10.

Zaika, L. L., (1988). "Spices and Herbs - Their Antimicrobial Activity and Its Determination" *Journal of Food Safety* 9- 2: (97-118).

Site d'internet

[1]: http://www.biochim-agro.univ-lille1.fr/lipides/co/Cours_C_3_c_1_1.html

Consultation le : 15/03/2012.

[2]: <http://www.blog.nutrition-outlet.org>

Consulté le: 30/03/2012

Produced with ScanTOPDF

Résumé

Produced with ScantOPDF

Résumé

Etude de l'activité antioxydante et antibactérienne de l'extrait méthanolique et butanolique d'une plante médicinale «Zygophyllum cornutum coss »

Depuis son apparition sur la terre, l'homme a découvert l'importance des plantes comme un remède efficace contre certaines maladies. Les plantes médicinales sont devenues avec l'évolution de la science les extraits de base pour le traitement de nombreuses pathologies.

Dans ce travail nous avons étudié l'activité antibactérienne et antioxydante de l'extraits méthanolique et butanolique de la plante médicinale « *Zygophyllum cornutum coss* ».

Pour l'activité antioxydante, deux tests complémentaires sont réalisés. Le test de l'effet scavenger par la méthode de DPPH et le test de l'inhibition de la peroxydation lipidique pratiqué sur deux milieux, le foie et le jaune d'œuf. Ces deux tests ont permis de déterminer les IC50% des deux extraits. Le test de DPPH a montré une IC50% de 870.05 ± 7.26 et de 95.46 ± 3.89 respectivement pour l'EMZC et l'EBZC, alors que le test de l'inhibition de la peroxydation lipidique a montré une IC50% de 70.07 ± 2.37 et de 112.56 ± 5.36 respectivement pour l'EMZC et l'EBZC réalisé sur le foie et de 38.56 ± 4.62 et 98.42 ± 3.30 réalisé sur le jaune d'œuf.

Pour l'activité antibactérienne, un test de sensibilité de quatre souches bactériennes, une gram positif : *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) et trois gram négatif : *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603) est réalisé en adoptant la méthode des disques puis la CMI et la CMB sont déterminées pour les souches ayant montré une sensibilité. Les résultats de ce test ont montré que *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) et *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), n'étaient sensibles qu'à l' EBZC, alors que *klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603) était sensible et très sensible respectivement à l'EMZC et à l'EBZC. Les CMIs de l'EBZC contre *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *klebsiella pneumoniae* étaient respectivement 0.12mg/ml (bactériostatique), 0.5mg/ml (bactéricide) et 0.75 mg/ml (bactéricide).

Au bout de cette étude, nous retiendrons que les deux extraits de *Zygophyllum cornutum* exercent un effet antioxydant et antibactérien contre certaines souches testées. Donc, la plante peut être une source prometteuse de nouvelles substances antioxydantes et antibactériennes.

Mots-clés: *Zygophyllum cornutum* Coss, activité antioxydante, activité antibactérienne.

Abstract

Study of the antibacterial and antioxidant activity of methanolic and butanolic extract of a medicinal plant "Zygophyllum cornutum coss"

Since his appearance on earth, man has discovered the importance of plants as an effective remedy against certain diseases. With the evolution of science, medicinal plants have become basic extracts for the treatment of many diseases.

In this work we studied the antioxidant and antibacterial activity of methanolic and butanolic extracts of the medicinal plant "Zygophyllum cornutum coss." For antioxidant activity, two tests are performed. The scavenger effect test by DPPH method and the test of lipid peroxidation inhibition using two media, liver and egg yolk. Both tests were used to determine the IC 50% of both extracts. The DPPH test has shown an IC 50 of $870.05 \pm 7.26\%$ and 95.46 ± 3.89 respectively for EMZC and EBZC, while the test of lipid peroxidation inhibition showed an IC50 of $70.07 \pm 2.37\%$ and of 112.56 ± 5.36 respectively for EMZC and EBZC performed on the liver and 38.56 ± 4.62 and 98.42 ± 3.30 achieved in the egg yolk.

For antibacterial activity, susceptibility testing of four bacterial strains, one Gram-positive: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) and three Gram-negative: *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603) is achieved by adopting the method of discs and the MIC and MBC were determined for strains that showed sensitivity. The results of this test showed that *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) and *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), were sensitive to the EBZC, while *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603) was sensitive and more sensitive respectively to the EMZC and EBZC. The EBZC's MICs against *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae* were respectively 0.12mg/ml (bacteriostatic), 0.5mg/ml (bactericidal) and 0.75mg/mL (bactericidal).

After this study, we can conclude that the two extracts of *Zygophyllum cornutum* have an antioxidant effect and bacterial activity against certain strains tested. Therefore, the plant may be a promising source of new antibacterial and antioxidant substances.

Key words: *Zygophyllum cornutum* Coss, antioxidant activity, antibacterial activity.

ملخص

دراسة النشاط المضاد للبكتيريا و الأكسدة للمستخلص الميثانولي و البيثانولي للنبته الطبية "*Zygodhllum cornutum coss*"

منذ ظهوره على الأرض اكتشف الإنسان اهمية النباتات كدواء فعال ضد بعض الأمراض و مع تطور العلم أصبحت النباتات الطبية المستخلصات الأساسية المستخدمة في علاج بعض الأمراض.

في هذا البحث قمنا بدراسة النشاط المضاد للبكتيريا و الأكسدة لكل من المستخلص الميثانولي و البيثانولي للنبته

الطبية *Zygodhllum cornutum coss*

بالنسبة للنشاط المضاد التأكسد قمنا بإجراء اختبارين متكاملين: الكانس حسب طريقة DPPH واختبار تثبيت الأكسدة الدهنية الذي تم إجراؤه باستعمال قطرات كبنية وصفار البيض. النتائج تم التعبير عنها بواسطة قيمة التركيز الذي يؤدي إلى تثبيط نسبة 50% من فعل الأكسدة (IC50%): اختبار DPPH اظهر أن قيمة IC50% للمستخلص الميثانولي و البيثانولي هي على التوالي: 7.26 ± 870.05 و 3.89 ± 95.46 في حين كانت هذه القيمة باستعمال اختبار تثبيط الأكسدة الدهنية: 2.37 ± 70.07 و 5.36 ± 112.56 للمستخلص الميثيلي و البيثانولي على التوالي بالنسبة لقطرات الكبد و 4.62 ± 38.56 و 3.30 ± 98.42 بالنسبة لصفار البيض.

لدراسة النشاط المضاد للبكتيريا استعملنا أربع سلالات (- Gram): *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)

و *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853)، *Escherichia coli* (ATCC 25922)

klebsiella pneumoniae (ATCC 700603) (+ Gram) باستعمال طريقة الأقراص. و بعدها تم تحديد التركيز الأدنى المثبط و القاتل CMI و CMB.

أظهرت النتائج تأثير تفاضلي للمستخلصين الميثانولي و البيثانولي ضد جميع السلالات عدا *Escherichia coli*

تم تحديد قيمة DPPH للمستخلص البيثانولي حيث قدرت ب: 0.12 مغ/مل ، 0.5 مغ/مل و 0.75 مغ/مل ضد *Staphylococcus aureus*، *Pseudomonas aeruginosa* و *klebsiella pneumoniae* على التوالي.

وفقا لهذه الدراسة تبين أن المستخلصين الميثانولي و البيثانولي لنبته *Zygodhllum cornutum coss* يتميزان

بنشاط مضاد للتأكسد و مضاد للبكتيريا ضد بعض السلالات المختبرة. إذن يمكن أن تكون النبته مصدر واعد لمواد جديدة ذات نشاط مضاد للتأكسد و مضاد للبكتيريا.

الكلمات المفتاحية: *Zygodhllum cornutum coss*، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للبكتيريا.

Annexe 1

-Réactifs et produits chimiques

- Le méthanol, le butanol,
- TBA,
- l'acide acétique,
- l'SDS (sodium dodecyl sulphate)
- TCA (Fluka chimica), KCl (Panreact quimica SA, Espana)
- La n-butanol (PROLAB MERK, Eurolab)
- Gélose Muller - Hinton
- Bouillon Mueller-Hinton
- Eau physiologique à 0.9%.
- Tampon phosphate salin (pH 7.4)

-Dans un bécher 800ml d'eau distillée.

Dissoudre 8g de NaCl, 0.2g de KCl, 1.44g de Na_2HPO_4 et 0.25g de KH_2PO_4 .

-Après dissociation complète des solutés, mesurer le pH et l'ajusté à 7.4 par une solution de HCl ou de NaOH.

-Ajusté le volume à 1L par une fiole jaugée.

-conservation à T° ambiante.

- Solution de FeSO_4 (15mMol)

-15mM(miliMolaire): 15mmol → 1litre

-masse molaire de FeSO_4 anhydre : 151.90g/mol

151.90g → 1000 milimol

x → 15 mmol

donc : $x = 2.28\text{g}/1000\text{ml}$

- Etalon Mack Farlan : Verser 0.5 ml d'une solution de BaCl_2 dihydraté à 1% dans une éprouvette, et compléter à 100 ml avec du H_2SO_4 à 1%. Ainsi l'étalon doit présenter une DO de 0.08 à 0.1 lue à 625 nm.

Annexe 2

I- Etude phytochimique :

I-1- Tests de mise en évidence de certains composés phytochimiques :

Les tests phytochimiques réalisés sur l'EMZC révèlent la présence de plusieurs familles de composés. Ces résultats montrent que la plante est très riche en saponosides ; les deux classes sont présentes : les saponosides à génines stéroïdiques et ceux à génines triterpéniques. On note aussi la présence des tanins, des flavonoïdes, des composés réducteurs (coumarines) et des alcaloïdes sels.

Tableau 11 ■ Résultats des tests phytochimiques

Composés	Résultats obtenus
Tanins	(+) : Apparition d'une coloration bleue noire et un précipité après 3 minutes
Saponosides	Test de détection (+). Tests de caractérisation : Présence des hétérosides stéroïdiques (+) Présence des triterpènes hétérosidiques (+)
Flavonoïdes	(+) : Apparition d'une couleur rouge caractéristique des flavones aglycone
Composés réducteurs	(+) : Apparition de deux phases, une colorée en brun rouge et la deuxième en bleu-vert. Test caractéristique des coumarines (+).
Alcaloïdes sels	(+) : Résultat positif avec les deux réactifs (de Mayer et de Wagner)

(+) : Résultat positif

(-) : Résultat négatif

1-2-2- Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes :

Le dosage des polyphénols totaux effectué selon la méthode de bleu de Prusse modifiée par Graham (1992) montrent que la plante contient 29.91 ± 0.89 mgEAG/gE (mg équivalent acide gallique par gramme d'extrait), tandis que la détermination du taux des flavonoïdes par la méthode de trichlorure d'aluminium révèle la présence de 7.46 ± 0.53 mgEQ/gE (mg équivalent quercétine par gramme d'extrait) de flavonoïdes soit 15.05 ± 0.29 mgER/gE (mg équivalent rutine par gramme d'extrait).

Tableau 12 ■ Résultats du dosage des Polyphénols totaux et des flavonoïdes

Extrait	Rendement (%)	Polyphénols totaux (mgEAG/g E)	Flavonoïdes	
			mg EQ / g E	mg ER / g E
EMZC	13.16%	29.91 ± 0.89	7.46 ± 0.5	15.0 ± 0.29

Chaque valeur représente la moyenne \pm SD (n = 3).

I-2-Etude pharmacologique:

I-2- 1- Etude de la toxicité (Test d'innocuité) :

Selon les résultats obtenus du test d'innocuité, aucune perturbation n'a été observée et aucun cas de décès n'a été compté pour toutes les doses testées pendant une semaine d'observation ce qui prouve qu'il n'existe aucune toxicité remarquable jusqu'à la dose de 5000mg/kg.

I-3- 2- L'activité antimicrobienne :

Les résultats du test de l'activité antimicrobienne de la poudre et de l'EMZC sur les souches : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas sp*, *klebsiella sp*, *Aspergillus phoenicis* et *Condida sp* sont illustrés par le tableau 13 et la figure 17.

Tableau 13 ■ Sensibilité des différentes souches vis-à-vis de la poudre et de l'EMZC.

<i>Les souches</i>	<i>Effet de la poudre</i>	<i>Effet de l'EMZC</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+
<i>Escherichia coli.</i>	-	-
<i>Pseudomonas sp.</i>	-	-
<i>klebsiella sp.</i>	-	-
<i>Condida sp.</i>	-	-
<i>Aspergillus phoenicis</i>	-	-