

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE
LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université Mohamed Boudiaf - M'sila

Faculté des sciences

Département de Chimie

Mémoire présenté par

BRAHIMI OUM KALTHOUM
MOKHTARI AHMED

Pour l'obtention du diplôme de Master en Chimie Organique

THÈME

**Étude phytochimique et pouvoir biologique de la plante
médicinale « *Bassia Indica* »**

Sous la direction de :

Dr. MERATATE FAIZA

Soutenu devant le jury :

M^{me} BOUCHELOUCHE. K

M.C.B Université de M'SILA

Présidente

M^{me} MOHAMADI. S

M.C.B Université de M'SILA

Examinatrice

2021/2022

Dédicace

*A mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour et leur soutien
tout au long de mes études.*

*A mes tendres frères et sœurs, Yacine, Ola, Younes, Maher, Nouha et ma
belle sœur Baya, pour leur disponibilité, leurs conseils, leur
encouragement et leur soutien moral.*

A toute ma famille pour leur soutien durant mon parcours universitaire.

*A ma meilleure amie : Marie, pour le soutien moral qu'elle ma offert
durant mes moments difficiles, pour sa présence chaleureuse,
bienveillante, qui sait me faire du bien.*

*Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux et le fruit de vos
sacrifices.*

Merci d'être toujours là pour moi.

Oum Kalthoum Brahimi

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

Mes parents, qui m'ont encouragé à aller de l'avant et qui m'ont donné tout leur amour pour prendre mes études. Aux quels je dois ce que je suis.

Que dieu les protège.

Mes chère frère et sœurs pour leur dévouement et leur compréhension qui ont consacré beaucoup de temps et disponibilité, et qui par leur soutien, leurs conseils et leur amour, m'ont permis d'arriver jusqu'à ici car ils ont toujours cru en moi, Merci d'avoir toujours soutenu et merci pour tout les bons moments passé ensemble, et ce n'est pas fini.

A tous mes amis qui m'ont toujours soutenue et encouragée au cours de la réalisation de ce mémoire, en leur espérant bonne continuation dans leurs travaux.

Merci beaucoup a vous toutes et tous !

Mokhtari Ahmed

Remerciements

Avant tout, nous remercions DIEU le tout puissant de nos avoir accordées la force et le courage pour réaliser ce modeste travail, afin d'atteindre notre but.

Nous tenons à exprimer tous nos sincères remerciements à notre encadrante Dr. Faiza Meratate de nous avoir permis de préparer ce travail dans les meilleurs conditions et les opportunités qu'elle nous a offert. La confiance qu'elle nous a accordée nous a permis de réaliser ce travail avec enthousiasme.

Nous remercions sincèrement Mme Bouchelouche Kenza et Mme Mohamadi Sabrina, pour avoir accepté de faire partie de notre jury.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude au docteur Cheriet Thamer pour son aide, ses précieux conseils durant la réalisation de cette mémoire.

Nous remercions aussi Mademoiselle Nechadi Meriem, pour sa bienveillance, son soutien moral et matériel, sa gentillesse qui ont été vraiment nécessaire.

Notre sincère gratitude à tous les membres de nos familles, du proche ou du loin : Brahimi et Mokhtari.

Sommaire

Introduction générale.....	1
Références bibliographiques.....	3

Partie synthèse bibliographique

Chapitre I : Rappel bibliographique

La phytothérapie.....	5
Les plantes médicinales.....	5
Principe actif	5
I. 1. La famille Chénopodiacée	5
I. 1.1. Introduction	5
I. 1.2. Taxonomie	6
I. 1.3. Données botaniques	7
I. 1.4. Distribution	7
I. 1.5. Classification	7
I. 1.6. Morphologie	8
I. 1.7. Intérêt économique des Chénopodiacées	8
I. 1.8. Intérêt thérapeutique des Chénopodiacées	8
I. 1.9. Intérêt écologique des Chénopodiacées	9
I. 2. Présentation du genre « <i>Bassia</i> »	9
I. 2.1. Description morphologique	9
I. 2.2. Distribution	10

I. 2. 3. Utilisation en médecine traditionnelle	11
I. 2. 4. Synonymes	11
I. 3. Différents espèces du genre « <i>Bassia</i> »	11
I. 3. 1. <i>Bassia eriophora</i>	12
I. 3. 2. <i>Bassia muricata</i>	12
I. 3. 3. <i>Bassia scoparia</i>	13
I. 4. Étude phytochimique et biologiques antérieurs sur « <i>Bassia Indica</i> »	14
I. 4. 1. Place dans la systématique	15
Références bibliographiques	16

Chapitre II: Les métabolites secondaires

II. 1. Les métabolites secondaires	22
II. 2. Les flavonoïdes	22
II. 2. 1. Définition	22
II. 2. 2. Structure	22
II. 2. 3. Classification	22
II. 2. 4. Activité biologique des flavonoïdes	23
II. 3. Les terpénoïdes	24
II. 3. 1. Définition	24
II. 3. 2. Structure	24
II. 3. 3. Classification	25
II. 4. Les alcaloïdes	25
II. 4. 1. Définition	25
II. 4. 2. Classification et structure	25

II. 4. 2. 1. Classification selon l'origine biosynthétique	25
II. 4. 2. 2. Classification selon la structure moléculaire et la composition chimique.....	26
II. 4. 3. Propriétés physico-chimiques	27
II. 5. Les huiles essentielles	27
II. 5. 1. Définition	27
II. 5. 2. Répartition	27
II. 5. 3. Facteurs de variabilités de la composition des huiles essentielles	27
II. 5. 4. Caractères physicochimiques des huiles essentielles	28
II. 5. 5. Toxicité des huiles essentielles	28
II. 6. Les différentes méthodes d'extraction et séparation	28
II. 6. 1. Méthodes d'extraction	28
II. 6. 1.1. La distillation	28
II. 6. 1. 2. Extraction par les solvants	30
II. 6. 1. 3. Expression	30
II. 6. 2. Méthodes de séparation chromatographiques	30
II. 6. 2. 1. La chromatographie	30
II. 6. 2. 2. Chromatographie sur couche mince (CCM)	31
II. 6. 2. 3. Chromatographie sur colonne	31
II. 6. 2. 4. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)	32
II. 6. 2. 5. Chromatographie liquide à haute performance (HPLC)	32
Références bibliographiques	33

Chapitre III: Les activités biologiques

III. 1. Activité biologique	36
III. 2. Activité antioxydante	36
III. 3. Activité antibactérienne	36
III. 4. Activité anti-inflammatoire	37
Références bibliographiques	38

Partie expérimentale

Chapitre IV: Matériels et méthodes

IV. 1. Choix du matériel végétal	41
IV. 2. Récolte du matériel végétal	41
IV. 3. Extraction	41
IV. 4. Les différentes activités biologiques	44
IV. 4. 1. Évaluation de l'activité antibactérienne	44
IV. 4. 1. 1. Préparation des solutions	44
IV. 4. 1. 2. Préparation de l'inoculum	44
IV. 4. 2. Évaluation de l'activité antioxydante	45
IV. 4. 2. 1. Préparation des solutions	45
IV. 4. 2. 2. Solution d'extrait	45
IV. 4. 2. 3. L'essai du DPPH	45
IV. 4. 4. Expression des résultats	46
IV. 4. 3. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire	47
IV. 4. 3. 1. Préparation des solutions	47

IV. 4. 3. 2. Expression des résultats	48
Références bibliographiques	50

Chapitre V: Résultats et discussions

V. 1. L'activité antibactérienne	52
V. 2. L'activité antioxydante	53
V. 3. L'activité anti-inflammatoire	57
Références bibliographiques	58
Conclusion générale	60
Résumé	61

Liste d'abréviations et des unités

Abréviations

EtOH	Éthanol
DMSO	Diméthylsulfoxyde
λ	Longueur d'onde
CCM	Chromatographie sur couche mince
CLHP	Chromatographie liquide haute performance
GN	Gélose nutritive
HE	Huile essentielle
MH	Milieu de Mueller Hinton
UV	Ultra-violet
AISN	Anti-inflammatoire non stéroïdien
AIS	Anti-inflammatoire stéroïdien
ACTH	Hormone adrénocorticotrope

Unités

G	Gramme
mg	Milligramme
ml	Millilitre
mm	Millimètre
V	Volume
μl	Microlitre

Liste des figures

Chapitre I

Figure 1: Le chénopode blanc (<i>Chenopodium album</i> L.) Plante adulte, dessin de «Weeds of Canada» par Frankton and Mulligan 1970.....	6
Figure 2: Un spécimen de l'herbier de Kew- <i>Bassia Indica</i>	10
Figure 3: Illustration de <i>Bassia indica</i> récoltée dans la région de M'sila (07.11.2021, Photos : K. Rebbas).....	10
Figure 4: Distribution de la plante <i>Bassia Indica</i> dans le monde.....	11
Figure 5: <i>Bassia eriophora</i>	12
Figure 6: <i>Bassia muricata</i> -Dead Sea.....	13
Figure 7: Un spécimen de l'herbier de Kew- <i>Bassia muricata</i>	13
Figure 8: <i>Bassia scoparia</i>	14
Figure 9: Structures des composés isolés (1–7) de <i>Bassia indica</i> Wight.....	15
Figure 10: Le graphique représente l'activité antibactérienne des extraits de plantes à différentes concentrations.....	16

Chapitre II

Figure 1: Structure du benzo- γ -pyrone.....	22
Figure 2: Les différentes structures des flavonoïdes.....	23
Figure 3: Structure de base de l'isoprène.....	24
Figure 4: Classes et exemples d'alcaloïdes	26
Figure 5: Montage d'hydrodistillation « Clevenger ».....	29
Figure 6 : Montage d'entraînement à la vapeur d'eau.....	30
Figure 7 : Schéma d'une installation de CLHP avec double détection.....	32

Chapitre IV

Figure 1: L'extraction liquide-liquide par quatre solvants organiques.....	42
Figure 2: Schéma d'extraction des métabolites secondaires de <i>Bassia Indica</i> par des solvants de polarités croissantes.....	43
Figure 3: Réaction entre le DPPH et un antioxydant.....	45
Figure 4: Préparations des échantillons des trois extraits de l'activité anti-inflammatoire.....	47
Figure 5: Les trois échantillons du control test négatif	48
Figure 6: La détermination des valeurs d'absorbance par le spectrophotomètre UV-visible....	48

Chapitre V

Figure 1: Activité antibactérienne des extrait 1, 2 et 3.....	53
Figure 2: Activité antioxydante de l'extrait d'éther de pétrole	54
Figure 3: Activité antioxydante de l'extrait de chloroforme	54
Figure 4: Activité inhibitrice du radical DPPH par l'extrait éther de pétrole.....	55
Figure 5: Activité inhibitrice du radical DPPH par l'extrait de chloroforme	55
Figure 6: Activité inhibitrice du radical DPPH par l'extrait de n-butanolique	56
Figure 7: Activité inhibitrice du radical DPPH par la rutine « standard »	56
Figure 8: Activité inhibitrice de la dénaturation par les extraits 1,2 et 3.....	57

Liste des tableaux

Tableau I.1 : Usage médicinal, composants chimiques et mode de préparation des espèces de la Plante médicinale <i>Bassia</i> , utilisées par les habitants de la province d'Onaizah...	11
Tableau II.1 : Quelques exemples des différents types de terpénoïdes.....	25

Tableau IV. 1 : Les masses des quatre phases organiques.....	42
Tableau IV. 2 : Protocole de l'activité antioxydante des extraits.....	46
Tableau V. 1 : Diamètres d'inhibition (mm) des extraits de <i>Bassia Indica</i>	52

Introduction Générale

Introduction générale

D'un point de vue historique, la production des médicaments et le traitement pharmacologique des maladies a commencé par l'utilisation d'herbes [1]. Autour de moyen-âge, le monde arabe médiéval été ; le premier, qui a codifié la pharmacognosie d'une manière scientifique entre les VIIIe et XIIIe siècles. C'est grâce à les plus grands savants arabes, que la pharmacologie, la phytothérapie et la médecine ont été illustrés dès cette époque. En particulier, les plus anciens et fameux de ces savants sont : Jabir Ibn Hayyan, Al-Bîrunî, Ibn al-Baytar [2].

Au fil de la dernière décennie, une attention considérable a été accordée non seulement à la façon dont les plantes sont utilisées, mais aussi à la façon dont elles sont perçues et gérées, ainsi que les relations mutuelles entre les sociétés humaines et les plantes dont elles dépendent [3]. De toute évidence, notre époque est profondément marquée par la recherche d'une vie plus saine, d'un retour à la nature, aux valeurs essentielles [2]. Aujourd'hui, le secteur des plantes médicinales concerne majoritairement l'attention des marchés tels que la parfumerie, la cosmétique, l'aromathérapie et l'agroalimentaire et il est en constante progression [4]. Grâce à cette progression, la phytothérapie a connu un succès notable en raison de l'amélioration de sa maîtrise scientifique et technique [2].

Dans le monde, l'utilisation thérapeutique des plantes médicinales est considérablement appliquée par 80% des populations humaines, malgré le développement de la pharmacologie [5]. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), en Afrique, la médecine traditionnelle fait une partie de la culture de ses sociétés [6]. Environ 4000 espèces des plantes médicinales choisis parmi 6377 plantes, sont utilisées à des fins thérapeutiques en Afrique, cela représente 90% de leur usage de la médecine traditionnelle [7]. Ces plantes médicinales sont devenues par la suite une source importante de découverte de nouveaux principes actifs, près de 170000 molécules bioactives ont été identifiés à partir des plantes [8].

En Algérie, pays qui contient une flore très riche avec plus de 3000 espèces des familles botaniques dont 15% sont endémiques [9] ; un potentiel floristique avec plusieurs plantes médicinales toxiques et aromatiques, est pas encore totalement exploré sur l'échèle phytochimique ainsi que l'échèle pharmacologique [10].

La réalisation de ce travail de mémoire de master en chimie organique s'inscrit dans le cadre de la valorisation de la flore algérienne particulièrement.

Introduction générale

Dans cette perspective, ce travail de recherche est centré sur les activités biologiques des extraits organiques de la plante « *Bassia Indica* »

Ce travail est divisé en deux parties :

Une partie bibliographique constituée de trois chapitres structurés comme suit :

- Le premier chapitre s'intéresse par l'étude bibliographique, botanique et phytochimique de la famille des *Chénopodiacée* en générale, et le genre *Bassia* en particulier.
- Le deuxième chapitre est consacré à l'étude des métabolites secondaires, les huiles essentielles et les différentes méthodes d'extraction et séparation.
- Dans le troisième chapitre, on a fait une présentation bibliographique des différentes activités biologiques : antioxydante, antibactérienne et anti-inflammatoire.

Une deuxième partie expérimentale qui représente nos travaux personnels d'extraction, séparation et identification des activités biologiques de la plante étudiée :

- Le quatrième chapitre décrit le matériel végétal et les méthodes d'extraction et séparation ainsi que les méthodes d'évaluations des activités antioxydante, antibactérienne et anti-inflammatoire.
- Le cinquième chapitre est concerné par la discussion de nos résultats et enfin notre travail de recherche se terminera par une conclusion générale et des résumés.

Références bibliographiques

- [1] Volker Schulz, Rudolf Hansel, Varro E, Tyler (2001). Rational phytotherapy: A physician's Guide to Herbal Medicine. 4th edition.
- [2] Jean-Yves Chabrier (2010). Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie. Sciences pharmaceutiques. fahal-01739123f.
- [3] Randa S. A. Youssef (2013). Medicinal and non-medicinal uses of some plants found in the middle region of Saudi Arabia. Journal of Medicinal Plants Research.
- [4] Amel Bouzabata (2015). CONTRIBUTION A L'ÉTUDE D'UNE PLANTE MÉDICINALE ET AROMATIQUE MYRTUS COMMUNIS L. Sciences pharmaceutiques. Faculté de Médecine, Université Badji-Mokhtar, Annaba, Algérie. Français. fftel-01493134ff.
- [5] Tabuti, J.R., Lye, K.A. and Dhillon, S.S., (2003). Traditional herbal drugs of Bulamogi, Uganda: plants, use and administration. *Journal of ethnopharmacology*, 88(1), pp.19-44.
- [6] Zhang, X. and World Health Organization, (2002). Traditional medicine strategy.
- [7] World Health Organization, (2000). *Principes méthodologiques généraux pour la recherche et l'évaluation relatives à la médecine traditionnelle* (No. WHO/EDM/TRM/2000.1). Organisation mondiale de la Santé.
- [8] Naima BOUTAGHANE (2013). Etude phytochimique et pharmacologique de plantes médicinales Algériennes *Genista ulicina* Spach (Fabaceae) et *Chrysanthemum macrocarpum* (Sch. Bip.) Coss. & Kralik ex Batt (Asteraceae). (Thèse de doctorat, Université de Constantine 1, Département de Chimie).
- [9] Quezel, P., Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome I, C.N.R.S. Paris

Partie synthèse bibliographique

Chapitre I

Rappel bibliographique

La phytothérapie

Le mot "phytothérapie" est étymologiquement composé de deux racines grecques qui sont : «*phuton*» et «*therapeia*» qui signifient respectivement "plante" et "traitement" [1].

Depuis la nuit des temps, les hommes apprécient les bienfaits apaisants et analgésiques des plantes. Aujourd'hui encore, la pharmacopée a recours à leurs propriétés curatives. À travers les siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales [1].

Cependant, malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre de nombreux avantages. N'oublions pas que de tout temps, à l'exception de ces cent dernières années, l'homme n'a eu que les plantes pour se soigner, qu'il s'agisse de maladies bénignes, rhume ou toux, ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria [1].

Les plantes médicinales

Ce sont toutes les plantes qui contiennent une ou des substances pouvant être utilisées pour des buts thérapeutiques ou qui sont des précurseurs dans la synthèse des médicaments [2].

Une plante médicinale, contrairement à une plante « classique » possède donc des principes actifs responsables d'une action thérapeutique mais aussi responsables d'effets indésirables appelés toxicité, tout comme les médicaments chimiques [3].

Le principe actif

C'est une molécule présentant un intérêt thérapeutique curatif ou préventif pour l'homme ou l'animal. Le principe actif est contenu dans une drogue végétale ou une préparation à base de drogue végétale. Une drogue végétale en l'état ou sous forme de préparation est considérée comme un principe actif dans sa totalité, que ses composants ayant un effet thérapeutique soient connus ou non [4].

I.1. La famille des Chénopodiacées

I.1.1. Introduction

La famille des chénopodiacées est l'un des groupes de plantes à fleurs les plus difficiles en termes de taxonomie et de diagnostic. Au cours des deux dernières décennies, notre connaissance des relations dans la famille, de son placement dans l'ordre des caryophyllés et des

particularités physiologiques ou anatomiques de son espèce a considérablement augmenté. Toutefois, il n'y a eu qu'un nombre limité de révisions taxonomiques de la famille fondées sur la taxonomie récente et l'analyse critique des collections [5].



Fig. 1 : Le chénopode blanc (*Chenopodium album* L.) Plante adulte, dessin de «Weeds of Canada» par Frankton and Mulligan 1970 [15].

I.1.2. Taxonomie

Les chénopodiacées appartiennent au grand clade des chénopodiacées-amaranthacées dans l'ordre central des caryophyllés et forment un groupe frère de la famille des amaranthacées [6]. Ces plantes, couramment appelées « Chénopodes », sont majoritairement cultivés comme des mauvaises herbes et certaines sont des plantes alimentaires comme les épinards, les blettes, les betteraves et le quinoa [7].

Le système APG (Angiosperm phylogeny group) (1998), le système APG II (2003) et APG III (2009) ont ajoutés les chénopodes dans la famille des Amaranthacées en se basant sur des évidences des phylogénies moléculaires [8].

Les différences carphologiques qui ont été découvertes ont comblé les lacunes dans l'ensemble de caractères des chénopodiacées et des amaranthacées, mais ils ne sont pas très

spécifiques au niveau familial, sauf la position horizontale de l'embryon qui a évolué dans de nombreux chénopodiacées [9].

I.1.3. Données botaniques

Lorsqu'ils sont séparés des Amaranthacées, les chénopodiacées comprennent environ 100 genres et 1600 espèces qui sont principalement réparties dans les déserts et les steppes des régions tempérées du monde [10]. Elles sont des plantes à fleurs dicotylédones, annuelles, bisannuelles ou vivaces, elles sont le plus souvent herbacées, plus rarement arbustives ou arborées. Entre les nombreux légumes, couramment cultivés et les plantes adventices, les Chénopodiacées sont liées à la vie des hommes. Ce sont des plantes spécialisées dans les terres trop riches en minéraux (chlorures et nitrates), parfois xérophytes ou halophiles : c'est l'une des principales familles qui vivent sur les sols salés. Bien adaptées aux milieux arides, elles sont parfois aussi des espèces pionnières [11].

I.1.4. Distribution

Les Chénopodiacées sont largement distribuées sur tous les continents en climat tempéré et subtropical, par contre, ils sont quasiment absents entre les tropiques. Elles croissent principalement dans les zones arides, les déserts, les sols alcalins, ou les habitats côtiers et salins [11].

I.1.5. Classification

L'organisation des genres Chenopodiaceae en sous-familles et tribus a été une source de confusion dès le début du 19^{ème} siècle [12]. La première division des chénopodiacées en groupes a été par **Meyer (1829)** qui a utilisé la structure des graines pour séparer les espèces avec des graines exalbumineuses et un embryon en spirale de ceux avec des graines albumineuses et un embryon périphérique [13].

Les études chronologiques des membres de Chénopodiacée dès la fin du 20^{ème} siècle et le début du 21^{ème} siècle ont été publiées par **Delipavlov et Cheshmedzhiev (2011)** [16]. Cinquante espèces de la famille ont été listés comme suit :

Atriplex, Bassia, Beta, Camphorosma, Ceratocarpus, Chenopodium, Corispermum, Halimione, Kochia, Petrosimonia, Polycnemon, Salicornia, Salsola, Spinacia, Suaeda.

I.1.6. Morphologie

Ce sont pour la plupart des plantes herbacées ou arbustives, principalement avec des feuilles alternes, parfois opposées. Très souvent, les feuilles et la tige sont succulentes. Cela vient que beaucoup d'espèces sont des espèces halophiles et thermophiles. Les fleurs des chénopodiacées sont généralement minuscules et verdâtres. Elles sont groupées en épis, en grappes ou en panicules lâches [14].

I.1.7. Intérêt économique des Chénopodiacées

La distribution étendue des Chénopodiacées dans le monde a leur donné une importance économique en tant qu'une source importante et à faible coût d'entités chimiques, de leurs composants chimiques et activités biologiques [26].

Nourriture :

Il surpasse tous les autres pour les «verts» ou les herbes en pot en raison de la nature succulente des jeunes tiges et des feuilles. Les plantes potagères sont *Spinacea oleracea* (épinards. H. Palak); *Chenopodium album* (White Goosefoot H. Bathua), *Basella rubra*, *Beta vulgaris* qui est une source de sucre, et même *Salsola* et *Atriplex* sp [17].

Fourrage :

La famille a une valeur fourragère considérable car aucun des membres n'est toxique. Les membres sont savoureux et nutritifs. *Salsola*, *Atriplex* sp, et la betterave sont de bonnes plantes fourragères [17].

Produit chimique et colorants :

La *Salsola foetida* est utilisée dans la préparation du bicarbonate de sodium. La sève rouge de la racine de betterave donne de la teinture [17].

I.1.8. Intérêt thérapeutique des Chénopodiacées

- L'huile essentielle obtenue à partir des graines de *Chenopodium anthelminticum* est vermifuge [17].
- Les graines de *Spinach oleracea* sont laxatives, et sont utilisées dans les difficultés respiratoires et dans la jaunisse [17].
- La *Chenopodium murale* est utile pour les douleurs d'estomac [29].

- Les racines de *Beta Vulgaris* sont efficaces pour les maux de tête, douleurs dentaires, problèmes au foie, brûlures, constipation, emménagogue, purgatif, inflammation des yeux, démangeaisons, tumeur, leucémie, anémie, gargarisme, serpent morsure, vermifuge, antirheumatoïde [29].
- Les cendres d'*Arthrocnemum indicum* sont utilisées dans les piqûres de scorpion [17].
- Aujourd'hui, plusieurs études concernent le potentiel des plantes tolérantes au sel comme source importante et peu coûteuse des constituants bioactifs [25].

I.1.9. Intérêt écologique des Chénopodiacées

La salinité des terres est devenue une question environnementale et a été reconnue comme un problème économique, écologique de nombreuses régions du monde [18]. Des études antérieures ont montré que la salinité et le stress causé par la sécheresse ont entraîné une baisse significative de la pousse des plantes, l'absorption de nutriments et le rendement des plantes d'importance agricole et médicale [19].

Planter des plantes vivaces et halophytes annuels tels que "*Bassia indica*" [20], dans les sols de forte salinité peut aider à restaurer les terres abandonnées pour une production agricole durable [21].

Indian Bassia est une plante très ramifiée qui appartient à la famille des chénopodiacées [22]. Elle a une riche valeur nutritive, peut être utilisée comme fourrage pour le bétail et est considérée comme une autre source de revenu pour les agriculteurs qui vivent dans les terres très salées des régions arides [23].

I.2. Présentation du genre *Bassia*

I.2.1. Description morphologique

Il s'agit de plantes herbacées annuelles plus ou moins pubescentes, aux feuilles alternes, sessiles, simples et entières. Les fleurs, actinomorphes et bisexuées, sont solitaires ou groupées en épis pauciflores subterminaux. Elles se composent de 5 sépales plus ou moins connés, de 5 étamines libres et d'un ovaire supère et uniloculaire. Les fruits sont des achènes aux péricarpes membraneux [24].



Fig. 2 : Un spécimen de l'herbier de Kew- *Bassia Indica* [27].



Fig.3 : Illustration de *Bassia indica* récoltée dans la région de M'sila (07.11.2021, Photos : K. Rebbas)

I.2.2. Distribution

L'espèce *Bassia Indica* est originaire de l'Inde, et introduit dans : Afghanistan, Algérie, Chypre, Égypte, État libre, Iran, Irak, Kenya, Koweït, Libye, Maroc, Pakistan, Palestine, Arabie saoudite, Sinaï, Soudan, Tunisie, Himalaya occidental [28].

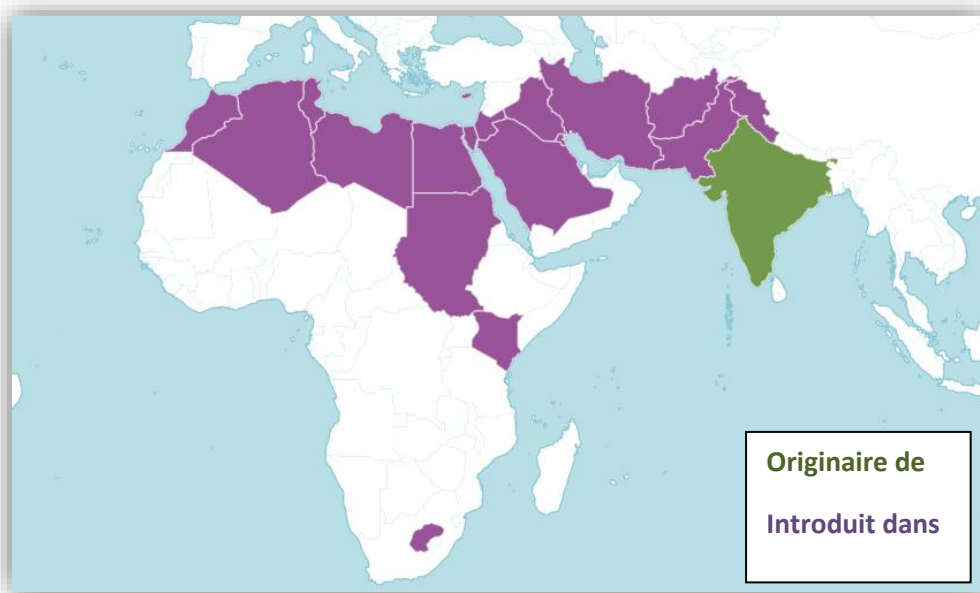


Fig.4 : Distribution de la plante *Bassia Indica* dans le monde [27].

I.2.3. Utilisation en médecine traditionnelle

Tableau I.1 : Usage médicinal, composants chimiques et mode de préparation des espèces de la plante médicinale *Bassia*, utilisées par les habitants de la province d’Onaizah [29].

Espèce	Usage médicinal	Parties utilisés	Composants chimiques	Mode de préparation
<i>Kochia indica</i>	Tonique cardiaque	Plante entière	Alcaloïdes	Décoction, huile, gargarisme
<i>Bassia eriophora</i>	Antirheumatoïde, morsure de serpent, vermifuge	Plante entière, huile de graines	-	-
<i>Bassia muricata</i>	Maladies rénales, antirhumatismaux, ulcères, gargarisme	Graines, feuilles, fleurs, huile de graines	-	-

I.2.4. Synonymes

- *Bassia joppensis* Bornm. & Dinsm
- *Kochia griffithii* Bunge ex Boiss.
- *Kochia indica* Wight [28].

I.3. Différents espèces du genre *Bassia*

Parmi les plusieurs espèces du genre *Bassia*, celles-ci sont les plus reconnus dans le monde [24]:

- *Bassia eriophora*
- *Bassia muricata*
- *Bassia scoparia*
- *Bassia dasyphylla*
- *Bassia hirsuta*
- *Bassia hyssopifolia*
- *Bassia sedoides*

I.3.1. *Bassia eriophora*



Fig.5: *Bassia eriophora* [24].

Synonyme :

Kochia eriophora, *K. latifolia*, *Londesia eriantha*, *Chenolea eriophora*, *Bassia eriantha*

Description :

Annuelle pubescente (haut : 5-25 cm). Feuilles linéaires ovales à elliptiques (long : 5-20 mm, large : 2-4 mm), à la base atténuée, à l'apex obtus ou aigu. Fleurs tomenteux, groupées en glomérules axillaires [24].

I.3.2. *Bassia muricata*

Fig.6: *Bassia muricata* - Dead Sea [27].



Fig. 7: Un spécimen de l'herbier de Kew *Bassia muricata* [27].

Synonyme :

Chenolea muricata (L), *Echinopsilon muricatus* (L), *Kochia muricata* (L), *Salsola monobractea* ; *Salsola muricata* (L), *Willemetia muricata* (L) [28].

Description :

Plante velue, très rameuse et à tiges couchées. Les feuilles sont grises, étroites et velues. Les fleurs se regroupent par deux à l'aisselle des feuilles, comprenant un ovaire à deux styles, cinq étamines et un calice laineux dont chaque sépale porte sur son dos une épine jaunâtre [30].

I.3.3. *Bassia scoparia*



Fig.8: *Bassia scoparia* [31].

Synonymes:

Bassia sieversiana; Kochia alata; Kochia trichophila; Kochia trichophylla; burningbush; Mexican fireweed; mock cypress; fireweed; mirabel; summer cypress; common kochia; Mexican summer-cypress; railroad weed; belvedere [31].

Description:

Les feuilles ont une disposition alternative et sont simples, linéaire à étroitement ovale à 5,5 cm de long et peuvent avoir poils, selon l'âge. Elles sont très courtes pétiolées ou sessiles, elles ont 1-5 veines proéminentes avec marges frangées de poils. La tige est verte, teintée [32].

Les fleurs sont des bractées vertes et entourées de touffes de poils. Elles sont soit avec 3-5 étamines ou pastilles avec les deux types ayant deux stigmates [33]. L'inflorescence est un épi et est axillaire et terminale. *Bassia scoparia* a des fruits d'utricule à graines ovales, brunes à noires [34], elle varie beaucoup en caractères morphologiques partiellement en raison de l'environnement où il est trouvé [33].

I.4. Études phytochimiques et biologiques antérieurs sur « *Bassia Indica* »

L'investigation phytochimique et l'étude bibliographique approfondi sur l'espèce « *Bassia Indica* » a montré des résultats limitées. Ceci nous a motivés pour s'intéresser de près à l'étude de sa composition chimique, tels que ses activités biologiques.

Une récente étude de la plante « *B. indica* » faite par (A. Othman et al. 2021) a permis d'isoler et d'identifier sept composés chimiques, dont un nouvel alcaloïde, un lignane et cinq lignanamides [26].

Les composés isolés ont été évalués pour leur activité anti-acétylcholinestérase, et ils ont montrés une faible inhibition [26].

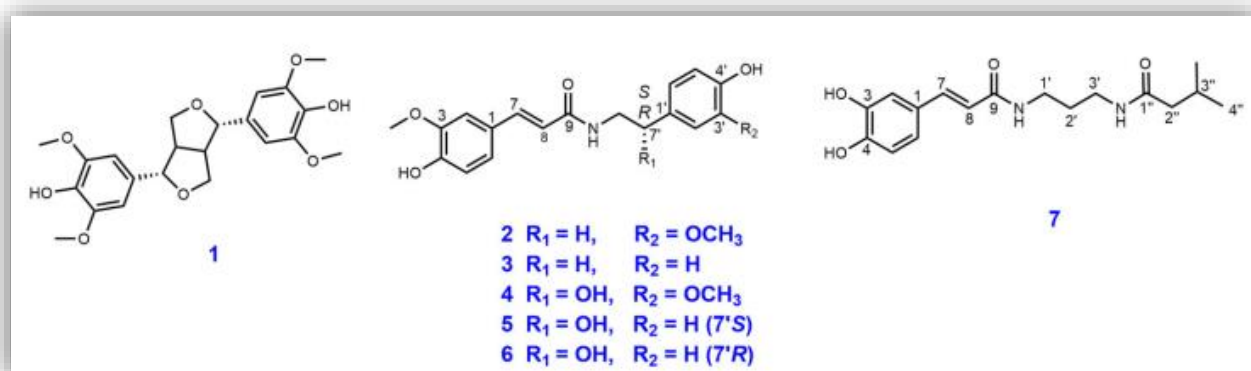


Fig.9 : Structures des composés isolés (1–7) de *Bassia indica* Wight [26].

(Bibi et al. 2020) ont conclus que l'extrait d'éthanol de « *Kochia indica* Wight » peut avoir une activité antibactérienne contre [35] :

- *S.typhi*, *Escherichia coli*
- *Shigella flexneri*
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Staphylocoque doré*

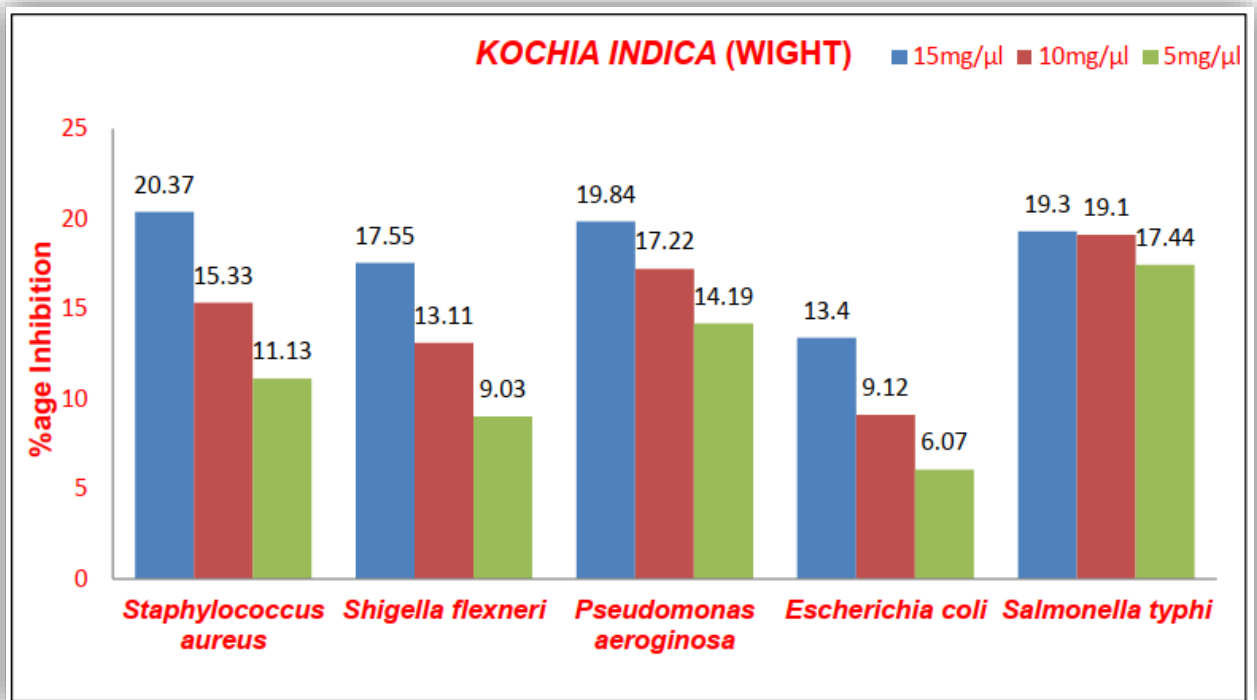


Fig.10 : Le graphique représente l'activité antibactérienne des extraits de plantes à différentes concentrations [35].

I.4.1. Place dans la systématique

- Règne : *Plantae*
- Sous-règne : *Tracheobionta*
- Division : *Magnoliophyta*
- Classe : *Magnoliopsida*
- Sous-classe : *Caryophyllidae*
- Ordre : *Caryophyllales*
- Famille : *Chenopodiaceae*
- Genre : *Bassia*
- Espèce : *Bassia Indica*

Références bibliographiques :

[1] *Encyclopédie des plantes médicinales.*

[2] Sofowora, Abayomi (2010). *Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique.* KARTHALA Editions.

[3] Anne-Sophie Limonier (2018). *La phytothérapie de demain : les plantes médicinales au cœur de la pharmacie.* (Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Marseille. Faculté de pharmacie). P : 21

[4] Jean-Yves Chabrier (2010). *Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie.* Sciences pharmaceutiques.

[5] Alexander P, Sukhorukov, Pei-Liang Liu, Maria Kushunina (2019). *Taxonomic revision of Chenopodiaceae in Himalaya and Tibet.*

[6]* Cuénoud P, SaVolainen V, Chatrou LW, Powell M, Grayer RJ, Chase MW (2002). *Molecular phylogenetics of Caryophyllales based on nuclear 18S rDNA and plastid *rbcl*, *atpB*, and *Botany* 89(1): 132-144*

* Kadereit G, Borsch T, Weising K, Fritag H (2003). *Phylogeny of Amaranthaceae and Chenopodiaceae and the evolution of C₄ photosynthesis. International Journal of Plant Sciences* 164(6): 989-986

* Brockington SF, Alexander R, Ramidal J, Moore MJ, Crawley S, Dhingra A, Hliu K, Soltis DE, Soltis PS (2009). *Phylogeny of the Caryophyllales sensu lato: Revisiting hypotheses on pollination biology and perianth differentiation in the core Caryophyllales. International Journal of Plant Sciences* 170(50): 627-643

[7] T. K. Paul (2012). *A synopsis of the Family Chenopodiaceae in India*

[8] Cronquist, A (1981). *An Integrated System of Classification of Flowering Plants.* Columbia University Press, New York.

[9] Sukhorukov AP, Mavrodiev EV, Struwig M, Nilova MV, Dzhililova KK, Balandin SA, Erst A, Krinitsyna AA (2015a). *One –seeded fruits in the core Caryophyllales : Their origin and structural diversity.*

- [10] Sukhorukov Ap (2014). *The carpology of the Chenopodiaceae with reference to the phylogeny, systematics and diagnostics of its representatives*. Grif & Co, Tula.
- [11] www.aujardin.info/plantes/famille-chenopodiaceae.php
- [12] Blackwell Jr, Will H (1977). "The *subfamilies of the Chenopodiaceae*". P: 395-397.
- [13] Maxim V. Kapralov, Hossein Akhiani, Elena V. Voznesenskaya, Gerald Edwards, Vincent Franceschi, and Eric H. Roalson (2006). *Phylogenetic Relationships in the Salicornioideae / Suaedoideae / Salsoloideae s.l. (Chenopodiaceae) Clade and a Clarification of the Phylogenetic Position of Bienertia and Alexandra Using Multiple DNA Sequence Datasets*. *Systematic Botany*, 31(3):571-585. Published By: The American Society of Plant Taxonomists.
- [14] Stanley L.W., Clifford W.C et Steven E.C (2003). *Chenopodiaceae. Flora of China*.5. P: 351-414
- [15] B, tsserr, L J. INo CnourroN, C. W. (1978). The *biology of Canadian weeds* 32. *Chenopodium album L. Can. J. Plant Sci.* 58 1061-1072.
- [16] Delipavlov D, Cheshmedzhiev I (2011). *Key to the Plants in Bulgaria*. Agrarian University Academy Press, Plovdiv. [In Bulgarian]
- [17] <https://www.biologydiscussion.com/angiosperm/dicotyledons/chenopodiaceae-characters-distribution-and-types>
- [18] Qadir, M., J.D. Oster, S. Schubert, A.D. Noble and K.L. Sahrawat (2007). *Phytoremediation of sodic and saline-sodic soils*. *Adv. Agron.*, 96: 197-247.
- [19] Alqarawi, A.A., Abeer Hashem, E.F. Abd Allah, T.S.Alshahrani and Asma A. Huqail (2014). *Effect of salinity on moisture content, pigment system, and lipid composition in Ephedra alata Decne*. *Acta Biol. Hungar.*, 65: 61-71
- [20] Shelef, O., A. Gross and S. Rachmilevitch (2012). *The use of Bassia indica for salt Phytoremediation in constructed wetlands*. *Water Res.*, 46: 3967-76
- [21] Kushiev, H., A.D. Noble, I. Abdullaev and V. Toshbekov (2005). *Remediation of abandoned saline soils using Glycyrrhiza glabra: A study for the Hungry Steppes of Central Asia*. *Int. J. Agric. Sustain.*, 3: 102-113

- [22] Zahran, M.A (1986). *Forage potentials of Kochia indica and Kochia scoparia in arid lands with particular reference to Saudi Arabia. Arab Gulf J. Scien. Res.*, 4: 53-68
- [23] Zahran, M.A., B.K. Muhammed and A.A. El-Dingawi (1992). *Establishment of Kochia forage halophytes in the salt affected lands of the Arab Countries. J. Env. Sci. Mansoura Univ. Egypt.*, 4: 93-119.
- [24] https://www.plantes-botanique.org/genre_bassia
- [25] Trampetti F, Pereira C, Rodrigues MJ, Celaj O, D'Abrosca B, Zengin G, Mollica A, Stefanucci A, Custodio L (2019). *Exploring the halophyte Cistanche phelypaea (L.) Cout as a source of health promoting products: in vitro antioxidant and enzyme inhibitory properties, metabolomic profile and computational studies. J Pharm Biomed Anal.* 165:119–128.
- [26] Ahmed Othman, Yhiya Amen, Masako Matsumoto, Maki Nagata & Kuniyoshi Shimizu (2021). *Bassiamide A, a new alkaloid from xero-halophyte Bassia indica Wight., Natural Product Research*, DOI: 10.1080/14786419.2021.1872572
- [27] <http://specimens.kew.org/herbarium/K000898887>
- [28] <https://powo.science.kew.org/>
- [29] Randa S. A. Youssef (2013). *Medicinal and non-medicinal uses of some plants found in the middle region of Saudi Arabia. Journal of Medicinal Plants Research.*
- [30] Ozenda, P (1991). *Flore de Sahara (3 édition mise à jour et augmentée) Paris. Editions du CNRS, 662.*
- [31] Vladimir Vladimirov, Feruzan Dane, Vlado Matevski & Kit Tan (2014). *New floristic records in the Balkans: 25.*
- [32] Casey, P.A (2010). *Plant guide for kochia (Bassia scoparia). USDA-Natural Resources Conservation Service, Kansas Plant Materials Center. Manhattan, KS.*
- [33] Friesen, L.F, H.J. Beckie, S.I. Warwick, and R.C. Van Acker (2009). *The biology of Canadian weeds. 138. Kochia scoparia (L.) Schrad. Can. J. of Plant Sci.* 89:141-167.
- [34] Stubbendieck, J., M.J. Coffin, and L.M. Landholt (2003). *Weeds of the Great Plains. Nebraska Dept of Agriculture. Lincoln, NE.*

[35] Hameeda Bibi, Manzoor Hussain, Gul Jan, Ghulam Mujtaba Shah, Siraj Khan and Ihsan Ullah (2020). *Phytochemical analysis and antimicrobial activities of Kochia indica (Wight), plant growing in District Karak Khyber Puhktunkhuwa, Pakistan. Pure and Applied Biology. Vol. 10, Issue 3, pp789-796. <http://dx.doi.org/10.19045/bspab.2021.100081>*

Chapitre II

Les métabolites secondaires

II. 1. Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des composés biosynthétiques naturellement fait des plantes mais qui ne sont pas directement impliqués au métabolisme végétal. Beaucoup de métabolites secondaires ont des propriétés thérapeutiques et sont utilisées en médecine traditionnel [1].

II.2. Les flavonoïdes

II. 2. 1. Définition

Les flavonoïdes sont un groupe de plus de 6 000 composés naturels que l'on trouve presque universellement dans les plantes vasculaires. Ce sont les pigments qui font apparaître divers organes végétaux en jaune, orange et rouge [2].

II. 2. 2. Structure

Tous les flavonoïdes sont dérivés du squelette benzo- γ -pyrone [3].

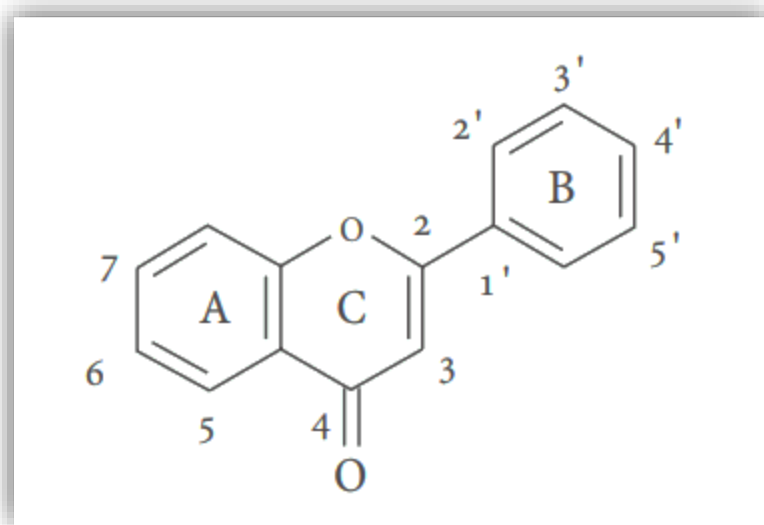


Fig.1 : Structure du benzo- γ -pyrone [3].

II.2. 3. Classification

Les flavonoïdes peuvent être classés selon la nature des différents substituants présents sur les cycles de la molécule et du degré de saturation du squelette benzo- γ -pyrone.

Les flavonoïdes au sens strict sont des composés dont la substitution par un noyau benzénique se fait en position 2. Les composés présentant une substitution en position 3 sont désignés par le terme iso-flavonoïdes [2].

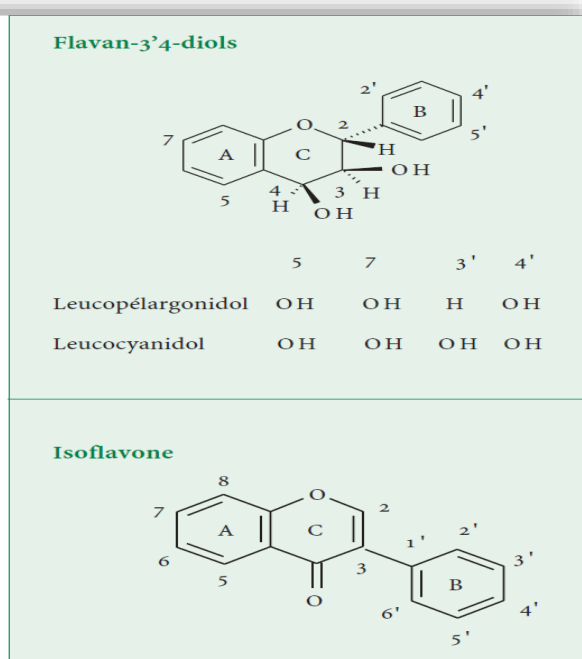
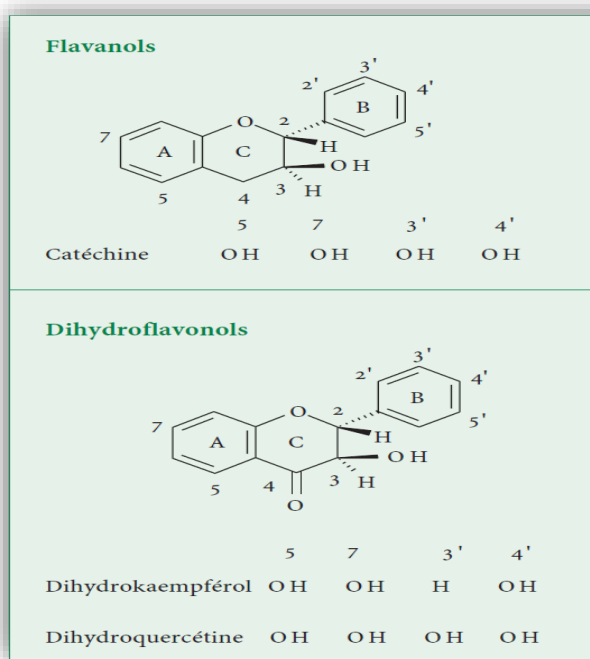
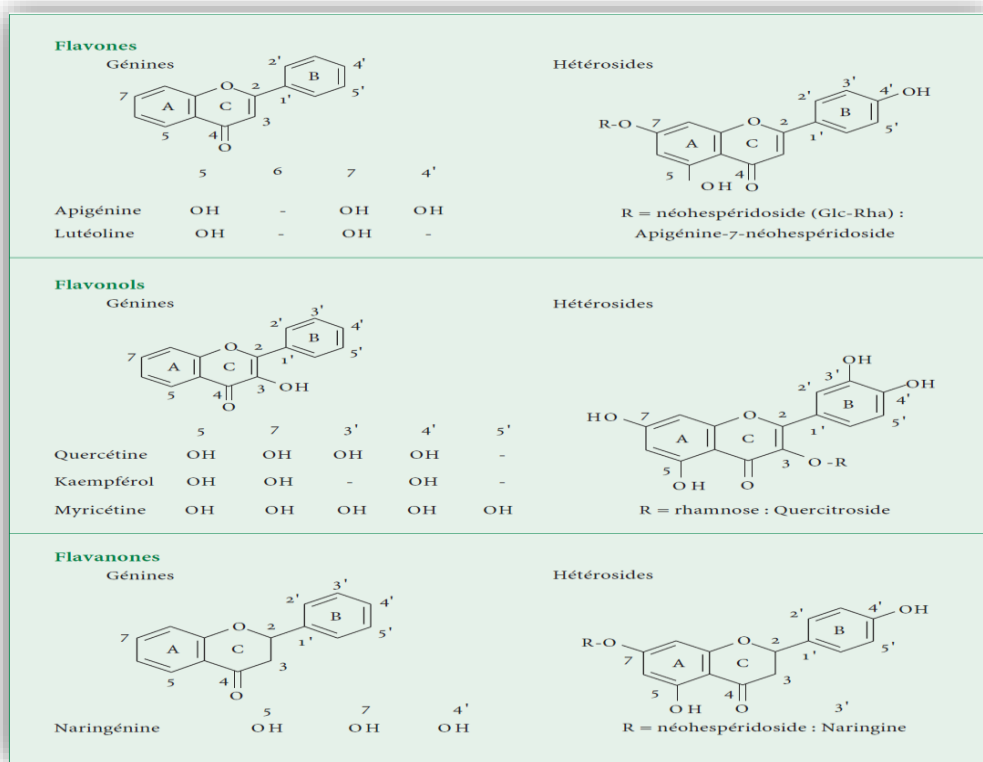


Fig.2 : Les différentes structures des flavonoïdes [3].

II.2. 4. Activités biologiques des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont responsables de la diversité des activités pharmacologiques. Leur activité dépend de leur structure, de leurs propriétés chimiques et de leur degré d'hydroxylation.

Les avantages potentiels pour la santé conférés par l'activité antioxydante de ces composés polyphénoliques ont stimulé l'intérêt récent pour ces substances. Les groupes hydroxyles fonctionnels des flavonoïdes modulent leurs effets antioxydants en éliminant les radicaux libres et/ou les ions métalliques. De nombreuses études ont montré que les flavonoïdes ont des effets protecteurs contre de nombreuses maladies infectieuses (bactéries et virus) et dégénératives telles que les maladies cardiovasculaires, le cancer et d'autres maladies liées à l'âge [7].

II.3. Les terpénoïdes

II. 3. 1. Définition

Le terme terpènes inventé par Kékulé vient de leurs origines historiques en térébinthe : "Pistacia chinensis" [4]. Ce terme est attribué à tous les composés possédant une structure moléculaire construite d'un monomère à 5 carbones appelé isoprène. Ces substances organiques comptent parmi les métabolites secondaires les plus répandus dans la nature [7].

II. 3. 2. Structure

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels à structure cyclique ou à chaîne ouverte : leur formule moléculaire d'origine est $(C_5H_X)_n$, où x varie en fonction du degré d'insaturation de la molécule, et n peut prendre des valeurs (1-8), sauf Chez les polyterpènes, il peut atteindre plus de 100. La molécule de base est l'isoprène de formule C_5H_8 [7].

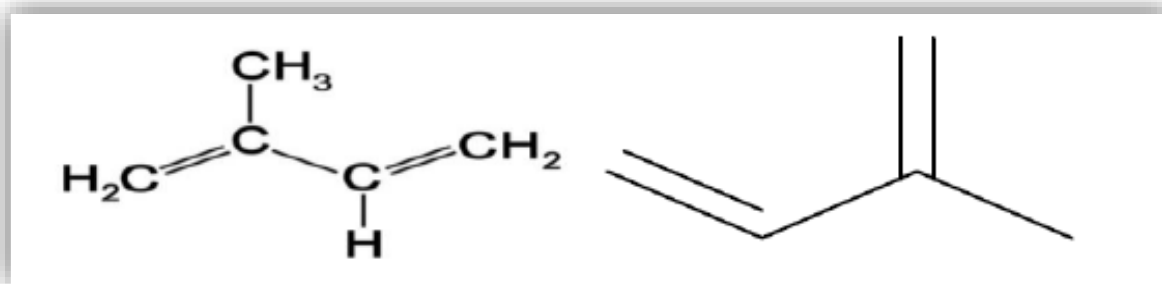


Fig.3 : Structure de base de l'isoprène [6].

II. 3. 3. Classification

Tableau II.1 : Quelques exemples des différents types de terpénoïdes [6].

N° d'unités d'isoprène	Nom	N° d'atomes de carbone	Formule générale
1	Hemiterpene	5	C ₅ H ₈
2	Monoterpène	10	C ₁₀ H ₁₆
3	Sesquiterpène	15	C ₁₅ H ₂₄
4	Diterpène	20	C ₂₀ H ₃₂
6	Triterpène	30	C ₃₀ H ₄₈
8	Tétraterpène	40	C ₄₀ H ₆₄
>8	Polyterpène	> 40	(C ₅ H ₈) _n

II. 4. Les alcaloïdes

II. 4. 1. Définition

Un alcaloïde est un composé organique naturel (le plus souvent d'origine végétale), hétérocyclique avec l'azote comme hétéroatome, de structure moléculaire complexe plus ou moins basique et doué de propriétés physiologiques prononcées même a faible dose [8]. Les alcaloïdes donnent des réactions de précipitations avec certains réactifs dits réactifs généraux des alcaloïdes [9].

II. 4. 2. Classification et structure

Les alcaloïdes sont généralement classés en fonction de la nature du cycle qui prédomine dans la molécule [10].

II 4. 2. 1. Classification selon l'origine biosynthétique

En général, les alcaloïdes se divisent en trois types selon leur précurseur Biosynthétique :

- Les alcaloïdes vrais, ce groupe représente la majorité des alcaloïdes. Biosynthétiquement, ils dérivent d'acides aminés et leur azote inclus dans un système

hétérocyclique. Ces alcaloïdes sont présents dans les plantes, soit sous forme libre, soit sous forme de sel, soit comme N-Oxyde [11].

- Les pseudo-alcaloïdes ne sont pas des dérivés des acides aminés, mais ce type d'alcaloïdes présente le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais. Il s'agit dans la majorité des cas d'isoprénoïdes [12].
- Les proto-alcaloïdes Ils sont souvent appelés « amines biologiques ». Ce sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans l'hétérocycle, ils ont un caractère basique et sont élaborés à partir d'acide aminé [12].

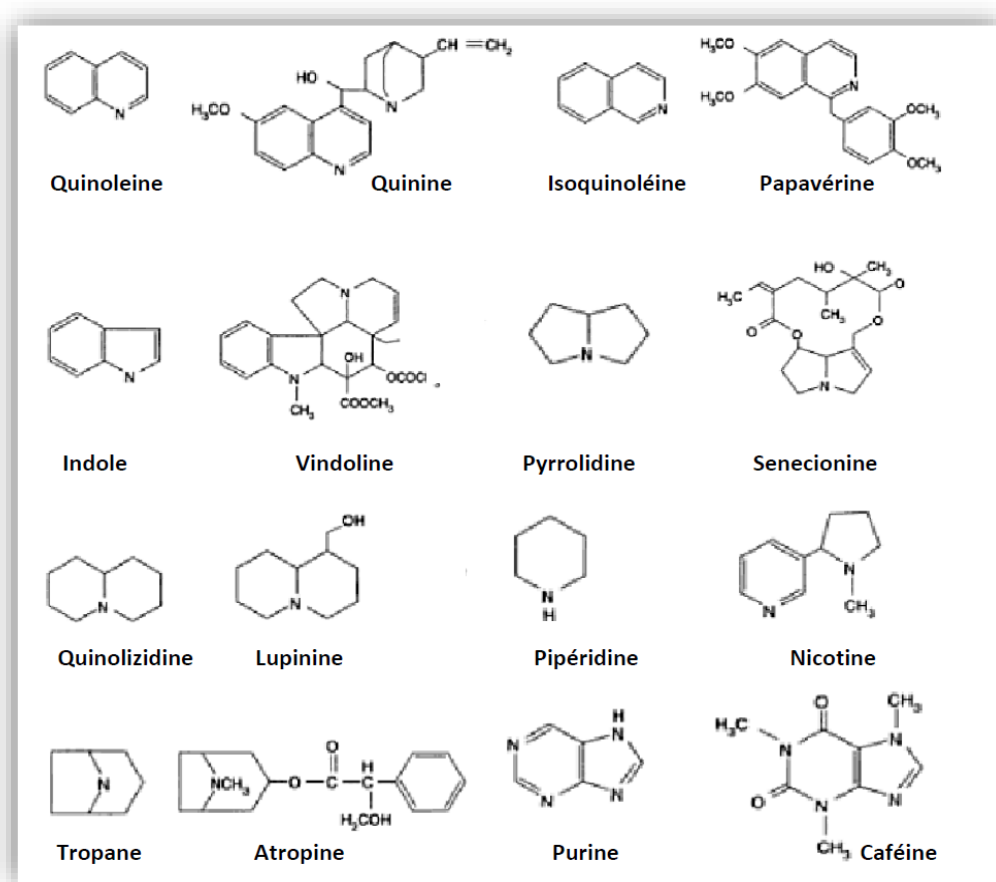


Fig.4 : Classes et exemples d'alcaloïdes [23].

II. 4. 2. 2. Classification selon la structure moléculaire et la composition chimique

Selon la position de l'atome d'azote (N) dans l'élément structurel principal, *M. Hesse* dans son livre divise les alcaloïdes en cinq catégories principales, chacune étant divisée en plusieurs sous-familles [13].

- Les alcaloïdes hétérocycliques.
- Les alcaloïdes portant un atome d'azote exocyclique.

- Les alcaloïdes de type putrescine, spermidine et spermine.
- Les alcaloïdes peptidiques.
- Les alcaloïdes terpéniques et stéroïdiens.

Les alcaloïdes hétérocycliques représentent la grande majorité des alcaloïdes. Il se divise en plusieurs familles selon les motifs hétérocycliques qui le composent (pyrrolidine, indole, pipéridine, tropane, quinoléine, imidazole, isoquinoléine...) et encore selon leur origine végétale ou animale [13].

II. 4. 3. Propriétés physico-chimiques des alcaloïdes

- Les alcaloïdes ont des masses moléculaires variant de 100 à 900 (g /mol).
- Les alcaloïdes non oxygénés sont liquides à température ordinaire (nicotine, spartéine, confine)
- Les alcaloïdes oxygénés sont des solides cristallisables, rarement colorés (berbérine) [14].

II. 5. Les huiles essentielles

II. 5. 1. Définition

Ce sont des substances volatiles et aromatiques obtenues à partir de plantes par distillation à la vapeur. Ils se forment dans un grand nombre de plantes en tant que métabolites secondaires. Les huiles essentielles sont des mélanges liquides très complexes. Ils ont des propriétés et des modes d'utilisation spécifiques, et ont donné naissance à une nouvelle branche de la phytothérapie : l'aromathérapie [15].

II. 5. 2. Répartition

L'HE peut être stockée dans tous les organes aériens des plantes (fleurs, fruits, feuilles, graines). Dans une même plante, elles peuvent apparaître simultanément dans différents organes, et pour cette raison, la composition de l'essence peut varier (qualitativement et quantitativement) d'un organe à l'autre (huiles essentielles de fleurs, feuilles et fruits...). Ils sont particulièrement riches dans certaines familles [16].

II. 5. 3. Facteurs de variabilité de la composition des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des composés aromatiques volatils aux paramètres variés peuvent affecter et modifier leur composition chimique Par exemple : « Température et

humidité, lumière, précipitations, changements saisonniers, bris de plantes, Extraire la pression et la durée...» [16].

II. 5. 4. Caractères physico-chimiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des liquides à température ambiante, mais sont également volatiles, contrairement aux huiles dites fixes. Ils sont liposolubles, solubles dans les solvants organiques courants et les alcools, entraînés à la vapeur d'eau, mais très peu solubles dans l'eau. Il faut donc impérativement un tensioactif pour permettre leur mise en suspension dans l'eau. Ils ont une densité généralement inférieure à celle de l'eau et un indice de réfraction élevé. Ils sont principalement colorés. Ils sont dégradables et sensibles à l'oxydation. Par conséquent, leur conservation nécessite l'obscurité et l'humidité. Par conséquent, les flacons en verre opaque sont recommandés [27].

II. 5. 5. Toxicité des huiles essentielles

Bien que d'origine naturelle, les huiles essentielles peuvent être nocives pour la santé. Par conséquent, il est important de comprendre le produit, de le sélectionner selon des critères qualitatifs rigoureux (les produits de bonne qualité ne sont pas falsifiés, non contaminés par des pesticides), de respecter scrupuleusement la posologie et de choisir le mode d'administration approprié pour éviter les effets secondaires, voire les interactions. Avec d'autres médicaments effet, les huiles essentielles peuvent provoquer des allergies, une photosensibilité, une cytotoxicité, une irritation, une néphrotoxicité, une hépatotoxicité, une neurotoxicité ... [27].

II. 6. Les différentes méthodes d'extraction et séparation

II. 6. 1. Méthodes d'extraction

II. 6. 1. 1. La distillation

La distillation est de loin le processus le plus courant car il fonctionne pour la plupart des plantes. Les huiles essentielles ne se dissolvent pas dans l'eau (ce sont des huiles !). D'autre part, la vapeur d'eau projetée sur les plantes avec l'huile passe à travers un dispositif spécial, la vapeur d'eau lestée de ces parfums est envoyée dans le compartiment pour être refroidie, là, la vapeur redevient liquide, et l'huile est séparée (ils flottent à la surface) [22].

Il existe deux formes de distillation :

- **L'hydrodistillation :**

L'hydrodistillation est une distillation hétérogène. L'eau recouvrant le matériel végétal est portée à ébullition sous pression atmosphérique. Une fois libérés, sous forme d'un mélange azéotropique, les composés volatils contenus dans des glandes sécrétrices, sont entraînés mécaniquement par la vapeur d'eau. Dans le « système Clevenger » préconisé par la pharmacopée européenne [17]. L'eau distillée est recyclée dans le bouilleur par cohobage [18]. Après refroidissement, le mélange eau-HE se sépare par décantation. Le système Clevenger permet ainsi la conservation d'une quantité d'eau identique durant toute la durée de l'extraction [19].



Fig. 5 : Montage d'hydrodistillation « Clevenger » [16].

- **l'entraînement à la vapeur :**

La distillation à la vapeur est l'une des méthodes officielles d'obtention des huiles essentielles. Contrairement à l'hydrodistillation, cette technologie ne met pas l'eau en contact direct avec la matière végétale traitée. La vapeur d'eau fournie par la chaudière traverse la matière végétale située au-dessus de la grille. Au fur et à mesure que la vapeur traverse le matériau, les cellules se rompent et libèrent l'huile essentielle qui s'évapore sous l'action de la chaleur, créant un mélange « eau + huile essentielle ». Le mélange est ensuite envoyé vers un condenseur et l'essence, qui est ensuite séparée en phases aqueuse et organique : les huiles

essentielles. Il n'y a pas de contact direct entre l'eau et les matières végétales et entre l'eau et les molécules aromatiques, évitant certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation qui peuvent compromettre la qualité de l'huile [20].

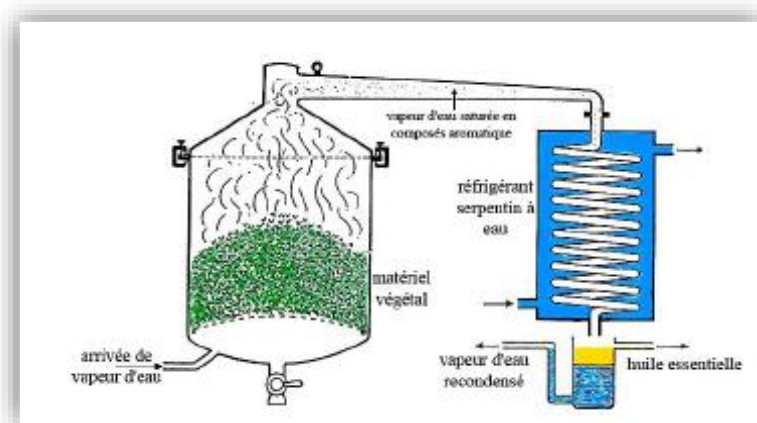


Fig.6 : Montage d'entraînement à la vapeur d'eau [20].

II. 6. 1. 2. Extraction par les solvants

Les solvants les plus largement utilisés sont l'hexane, le Cyclohexane, l'éthanol et, moins fréquemment, le dichlorométhane et l'acétone. Le solvant choisi, en plus d'être autorisé, doit également présenter une certaine stabilité face à la chaleur, à la lumière ou à l'oxygène. Son point d'ébullition est de préférence bas pour faciliter son élimination, et il ne doit pas réagir chimiquement avec l'extrait. Ces solvants ont un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau, de sorte que l'extrait contient non seulement des composés volatils, mais également de nombreux composés non volatils tels que des cires, des pigments, des acides gras, etc. [24].

II. 6. 1. 3. Expression

Méthode qui consiste à briser mécaniquement les poches de zeste frais d'agrumes pour en recueillir les essences, comme aucune modification chimique liée à la vapeur d'eau n'est intervenue, le produit final ne peut pas prendre le nom d'huile essentielle [21].

II. 6. 2. Méthodes de séparation chromatographique

II. 6. 2. 1. La chromatographie

La chromatographie est un processus de séparation physico-chimique, tel que la distillation, la cristallisation ou le l'extraction fractionnée, qui sépare les composants d'un liquide ou d'un mélange gazeux homogène. Les applications de ce procédé sont donc potentiellement

très nombreuses, d'autant plus que de nombreux mélanges hétérogènes ou sous forme solide peuvent être mis en solution en utilisant des solvants [25].

II. 6. 2. 2. Chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince (CCM) repose principalement sur le phénomène d'adsorption : la phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants qui évolue le long d'une phase stationnaire immobilisée sur une plaque de verre ou une feuille semi-solide, telle que du plastique rigide ou de l'aluminium. Après le dépôt de l'échantillon sur la phase stationnaire, la vitesse de migration des substances dépend de sa nature et de la nature du solvant [26].

Les principaux éléments d'une séparation chromatographique sur couche mince sont:

- la cuve chromatographique : un récipient habituellement en verre, de forme variable, fermé par un couvercle étanche.
- la phase stationnaire : une couche d'environ 0,25 mm de gel de silice ou d'un autre adsorbant est fixée sur une plaque de verre à l'aide d'un liant comme le sulfate de calcium hydraté (plâtre de Paris) l'amidon ou un polymère organique.
- l'échantillon : environ un microlitre (μl) de solution diluée (2 à 5 %) du mélange à analyser, déposé en un point repère situé au-dessus de la surface de l'éluant.
- l'éluant : un solvant pur ou un mélange : il migre lentement le long de la plaque en entraînant les composants de l'échantillon [26].

II. 6. 2. 3. Chromatographie sur colonne

C'est une technologie basée sur le phénomène d'adsorption. Une phase solide, généralement de l'alumine ou de la silice, est conditionnée dans une colonne de longueur et de section variables ; l'échantillon en solution concentrée est déposé au sommet de la colonne, et les composants sont séparés par le flux continu de l'éluant, soit par gravité ou en tête de colonne Traverser la colonne sous basse pression. Un seul solvant peut être utilisé comme éluant, ou la polarité de l'éluant peut être progressivement augmentée pour accélérer le déplacement du composé. Les molécules sont entraînées à des vitesses différentes selon leur affinité pour l'adsorbant et leur solubilité dans l'éluant. Le chromatogramme se déploie en formant une série de régions cylindriques qui se séparent lors de leur migration vers le bas. Au fur et à mesure que chaque région est évacuée de la colonne, elle est collectée [26].

II. 6. 2. 4. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

Le principe de séparation du C.P.G. consiste à séparer l'échantillon à analyser en deux phases. L'une des phases est un liquide stationnaire, qui est uniformément réparti sous la forme d'un film mince sur un solide inerte avec une grande surface spécifique, tandis que l'autre phase est un gaz en mobile qui s'écoule à travers les composants fixes [26].

II. 6. 2. 5. Chromatographie liquide à haute performance (CLHP)

La chromatographie liquide haute performance, souvent abrégée en CLHP – HPLC en anglais – est une technique analytique très générale d'emploi. Elle est dérivée de la plus ancienne forme de chromatographie liquide sur colonne, et ses performances ont été grandement améliorées en sélectivité et en résolution grâce à la miniaturisation et à l'utilisation de phases stationnaires très complexes. Ces phases sont constituées d'une combinaison de particules sphériques ou de monolithes poreux de diamètres compris entre 2 et 5 micromètres, entraînant des pertes de charge importantes dans la colonne. Il est donc nécessaire d'appliquer une forte pression sur la phase mobile pour obtenir un débit convenable. Pour marquer cette particularité de la technologie, la lettre P de l'acronyme HPLC a longtemps correspondu au mot pression [25].

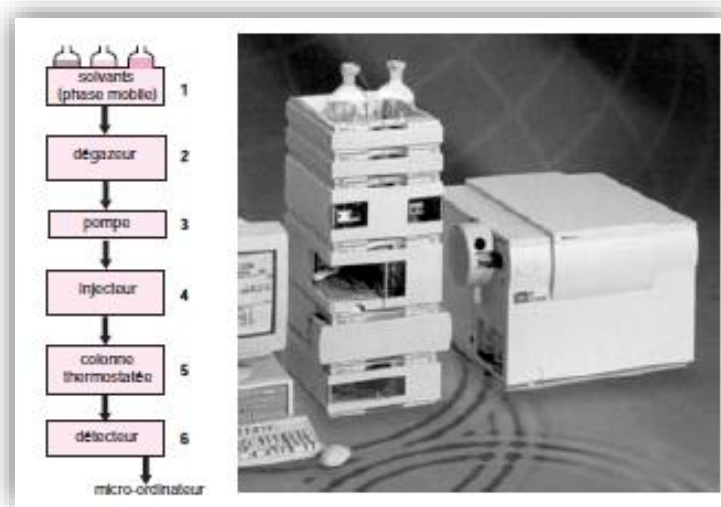


Fig.7 : Schéma d'une installation de CLHP avec double détection [25].

Références bibliographiques

- [1] Guillaume, D. and Charrouf, Z., (2005). Saponines et métabolites secondaires de l'arganier (*Argania spinosa*). *Cahiers Agricultures*, 14(6), pp.509-516.
- [2] Ghedira, K., (2005). Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 3(4), pp.162-169.
- [3] Di Carlo, G., Mascolo, N., Izzo, A.A. and Capasso, F., (1999). Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life sciences*, 65(4), pp.337-353.
- [4] Radia, A.Y.A.D., (2008). Recherche et détermination structurale des métabolites secondaires de l'espèce: *Zygophyllum cornutum* (Zygophyllacée). *Mémoire présenté pour obtenir le diplôme de magister en chimie organique option: Phytochimie, Université Mentouri de Constantine*.
- [5] Malecky, M., (2008). *Métabolisme des terpénoïdes chez les caprins* (Doctoral dissertation, Paris, AgroParisTech).
- [6] Ludwiczuk, A., Skalicka-Woźniak, K. and Georgiev, M.I., (2017). Terpenoids. In *Pharmacognosy* (pp. 233-266). Academic Press.
- [7] Kumar, S. and Pandey, A.K., (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The scientific world journal*, 2013.
- [8] Zenk, M.H. and Juenger, M., (2007). Evolution and current status of the phytochemistry of nitrogenous compounds. *Phytochemistry*, 68(22-24), pp.2757-2772.
- [9] JAIN, S.C. and PUROHIT, M., (1986). Antitumor Active Pyrrolizidine Alkaloids from *Heliotropium marifolium* RETZ (Pharmacognosy, Chemical). *Chemical & pharmaceutical bulletin*, 34(12), pp.5154-5156.
- [10] Hopkins, W.G., (2003). *Physiologie végétale*. De Boeck Supérieur.
- [11] Badiaga, M., (2011). *Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de Nauclea latifolia Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali* (Thèse de doctorat, Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II).
- [12] Jean, B., (2009). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.)*. Lavoisier.
- [13] Hesse, M., (2002). *Alkaloids: Nature's curse or blessing?* John Wiley & Sons.
- [14] Ben Moussa MT. Généralités sur les alcaloïdes. Département de pharmacie Batna, Laboratoire de pharmacognosie (3ème année)
- [15] El Haïb, A., (2011). *Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques* (Doctoral dissertation, Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier).

- [16] Meratate, F., (2016). *Détermination structurale et évaluation biologique des substances naturelles bioactives* (Thèse de doctorat, Université de m'sila).
- [17] Européenne, P., (1996). Sainte Ruffine: Conseil de l'Europe Maisonneuve SA.
- [18] Clevenger, J.F., (1928). Apparatus for the determination of volatile oil. *The Journal of the American Pharmaceutical Association* (1912), 17(4), pp.345-349.
- [19] Kapetanovic, S., Djugumovic, S. and RAMIC, S., (1984). Isolement de l'huile essentielle de rose par distillation «sèche». *Parfums, cosmétiques, arômes*, (56), pp.77-78.
- [20] El Haib, A., (2011). *Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques* (Doctoral dissertation, Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier).
- [21] Silvant, C., (2015). *L'Aromathérapie: La nature au service de l'humanité*. Editions Publibook.
- [22] Festy, D., (2014). *Les huiles essentielles à respirer*. Éditions Leduc. S.
- [23] Hopkins, W.G., (2003). *Physiologie végétale*. De Boeck Supérieur. P: 282.
- [24] BOUKHATEM, M.N., FERHAT, A. and KAMELI, A., (2019). Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles: revue de littérature. *Une*, 3(4), pp.1653-1659.
- [25] Chimique, A., (2004). *Méthodes et techniques instrumentales modernes*, 6ème édition F. Rouessac, A. Rouessac, D. Cruché.
- [26] ANTONOT, E. and MARCHAL, R., (1998). *Chromatographie*. Lycée Louis Vincent-METZ.
- [27] Lakhdar, L., (2015). *Évaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*: Etude in vitro* (Thèse de doctorat).

Chapitre III

Les activités biologiques

III.1. Activité biologique :

Les produits naturels sont une excellente source de structures chimiques possédant une large variété des activités biologiques et en particulier la propriété anticancéreuse

Les plantes contiennent fréquemment des métabolites dits « secondaires » qui représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme en pharmacologie [2]. Ces substances appelés composés phénoliques tels que les terpènes, les stéroïdes et les composés azotés dont les alcaloïdes possèdent une très large gamme d'activité biologique [3].

Les métabolites secondaires des plantes médicinales sont fameux par leurs activités biologiques nombreuses, comme antibactériennes, anticancéreuses, antifongiques, analgésiques, anti-inflammatoires [4].

III.2. Activité antioxydante

Les antioxydants sont des substances bioactifs spécialisés à la protection de l'homme, les cellules animales et végétales contre les actions nocives des radicaux libres. Un décalage entre les antioxydants et les radicaux libres résulte « le stress oxydatif ». Ce dernier provoque l'endommagement des cellules [5].

Aujourd'hui, la majorité des antioxydants sont fabriqué synthétiquement. Ces antioxydants synthétiques ont des effets secondaires s'ils sont consommés in vivo [6].

III.3. Activité antibactérienne

La plupart des flavonoïdes possèdent des propriétés antibactériennes [7]. L'enquête phytochimique certifie que les 5-hydroxyflavanones et les 5-hydroxyisoflavanones avec un, deux ou trois groupements hydroxyles en position 7', 2' et 4' bloque l'augmentation de *Streptococcus* sp, l'hydroxylation nécessaire pour cette activité étant celle en position 2'. Par contre, les méthoxylations diminuent considérablement les effets antibactériens [7].

III.4. Activité anti-inflammatoire

Une de la plus importante utilisation médicamenteuse des flavonoïdes, c'est l'inflammation [8-9]. Cette dernière, se réside dans un mécanisme cohérent et bien structuré de défense du corps humain contre tout types des organismes étrangers [10]. La dénaturation des protéines est parmi les causes de l'inflammation. La production d'auto-antigènes dans les maladies inflammatoires peut être due à la dénaturation des protéines in vivo. Le mécanisme possible de la dénaturation consiste à l'altération des liaisons électrostatique, hydrogène, hydrophobe et disulfure qui maintien la structure tridimensionnelle des protéines [11].

Il existe trois types des anti-inflammatoires :

- **Anti-inflammatoires non stéroïdiens:**

Les anti-inflammatoire non stéroïdiens (AINS) sont une des classes thérapeutiques le plus utilisées dans le monde grâce à leurs propriétés anti-inflammatoires, antipyrétique et antalgiques. Il est prouvé que les anti-inflammatoires non stéroïdiens comme la phénylbutazone et l'indométhazine inhibent pas seulement la synthèse des prostaglandines pro-inflammatoires, mais inhibent aussi la dénaturation des protéines [11].

- **Anti-inflammatoires stéroïdiens:**

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) représente une large famille de médicaments dérivés du cortisol, principal glucocorticoïde surrénalien. Les glucocorticoïdes sont des substances dérivées du cholestérol, dont la production est stimulée par l'ACTH libérée selon un cycle nyctéméral par le lobe antérieur de l'hypophyse [11].

- **Anti-inflammatoires d'origine végétale:**

Le nombre de composés phytochimiques, trouvé dans le règne végétal est très vaste, et leur spectre d'activité est tout aussi grand. Certains de ces composés phytochimiques ont des propriétés anti inflammatoire. Beaucoup sont présumés agir en bloquant les voies de la cyclooxygénase et la lipoxygénase ainsi que par d'autres mécanismes [11].

Références bibliographiques :

[1] Randa S. A. Youssef (2013). *Medicinal and non-medicinal uses of some plants found in the middle region of Saudi Arabia. Journal of Medicinal Plants Research.*

[2] Herbert R.B., (1989) .The biosynthesis of secondary metabolites. 2nd edition Chapman and Halle; 11-115.

[3] Li W. C., Zhou J., Guo S. Y. and Guo L. D., (2007). Endophytic fungi associated with lichens in Baihua mountain of Beijing, China. *Fungal Diversity*; 25: 69-80

[4] *Harborne J.B., (1998) . *Phytochemical method. A guide to modern techniques of plants analysis. Third Edition. ISBN: 0-412-57260-5 (HB) and (PB).*

*Bruneton J., (2009). *Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales. 4e éd. revue et augmentée, Paris, Tec & Doc - Éditions médicales internationales, 1288 p*

[5] Kukic J., Petrovic S., Niketic M., (2006). Antioxidant activity of four endemic *Stachys* taxa. *Biol. Pharmaceut. Bull.* 29: 725-729.

[6] Chen C., Pearson AM., Gray JI ., (1992). Effects of synthetic antioxidants (BHA, BHT and PG) on the mutagenicity of IQ-like compounds. *Food Chem*, 43: 177-183.

[7] Cushnie TP., Lamb AJ, (2005). Anti microbial activities of flavonoids. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 26: 343.

[8] Van Cauwenberge, H. and Franchimont, P., (1968). Study of the antiphlogistic properties of trihydroxyethylrutoside. *Zentralblatt fur Phlebologie*, 7 (1), pp.110-121.

[9] Brandão, M.G.L., Krettli, A.U., Soares, L.S.R., Nery, C.G.C. and Marinuzzi, H.C., (1997). Antimalarial activity of extracts and fractions from *Bidens pilosa* and other *Bidens* species (Asteraceae) correlated with the presence of acetylene and flavonoid compounds. *Journal of ethnopharmacology*, 57 (2), pp.131-138.

[10] Hufford, C.D. and Lasswell Jr, W.L., (1978). Antimicrobial activities of constituents of *Uvaria chamae*. *Lloydia*, 41 (2), pp.156-160.

[11] Haioun Amina, Hamoudi Fatima Zohra (2015). Activité antioxydante de la plante médicinale Algérienne *Anethium graveolens* et leur effet cardioprotectrice contre la toxicité de la doxorubicine. (Mémoire de master, Université frères Mentouri Constantine, LABORATOIRE DE RECHERCHE: Laboratoire de biologie faculté de science de la nature et de la vie.

Chapitre IV

Matériels et méthodes

IV. 1. Choix du matériel végétal

Le choix de cette étude en particulier, est fondé sur :

- Le manque d'études phytochimiques et biologiques concernant cette plante.
- L'abondance de cette espèce dans la région de M'sila
- Cette espèce nous a poussés à la voir comme une matière d'enquête qui peut nous orienter vers la découverte de nouvelles molécules munies des activités biologiques intéressantes.

IV. 2. Récolte du matériel végétal

Les parties aériennes de *Bassia indica* ont été recueillies en novembre 2021 dans la région de M'sila, située dans le nord de l'Algérie. Un spécimen de référence (numéro N° KR0032) a été identifié par le Pr. K. Rebbas du Département des sciences naturelles et de la vie, Université de M'Sila, Algérie. Le matériel végétal récolté a été séché à l'abri de la lumière du soleil pendant une semaine.

IV. 3. Extraction

IV. 3. 1. Extraction solide-liquide

Macération :

C'est une technique d'extraction qui fait l'objet de la séparation des composants chimiques d'une matière solide (usuellement d'une matière végétale). (200 g) de la plante qui a été déjà séchée et broyée, est macérée avec un mélange hydro-alcoolique : Éthanol / Eau distillé (70:30 ;(v/v)) pendant 24 heures à température ambiante puis filtrée. Le processus de cette macération est répété trois fois. Le mélange obtenu a subi une évaporation sous pression réduite par l'aide d'un rota-vapeur à une température de 45°C, jusqu'à l'obtention de quatre extraits aqueux.

IV. 3. 2. Extraction liquide-liquide

Décantation :

C'est une technique qui consiste à laisser reposer un mélange hétérogène en attendant que les constituants se séparent spontanément sous l'action de la gravitation. Dans notre travail on a réalisé cette opération sur les quatre phases aqueuses filtrées par l'aide de quatre solvants organiques de différentes polarités, tout en commençant par l'Éther de pétrole, Chloroforme, Acétate d'éthyle et enfin le n-Butanol. Chaque extrait a subi une décantation de 24 heures répétés 3 fois pour les 4 solvants.



Fig. 1 : L'extraction liquide-liquide par 4 solvants organiques

Les quatre phases aqueuses récupérées sont concentrées sous pression réduite à sec et pesées.

Tableau IV. 1 : Les masses des quatre phases organiques.

La phase organique	La masse en gramme
Éther de pétrole	6.42
Chloroforme	7.28
Acétate d'éthyle	5.59
n-butanolique	-

Le schéma ci-dessous représente le protocole d'extraction de plante « *Bassia Indica* » :

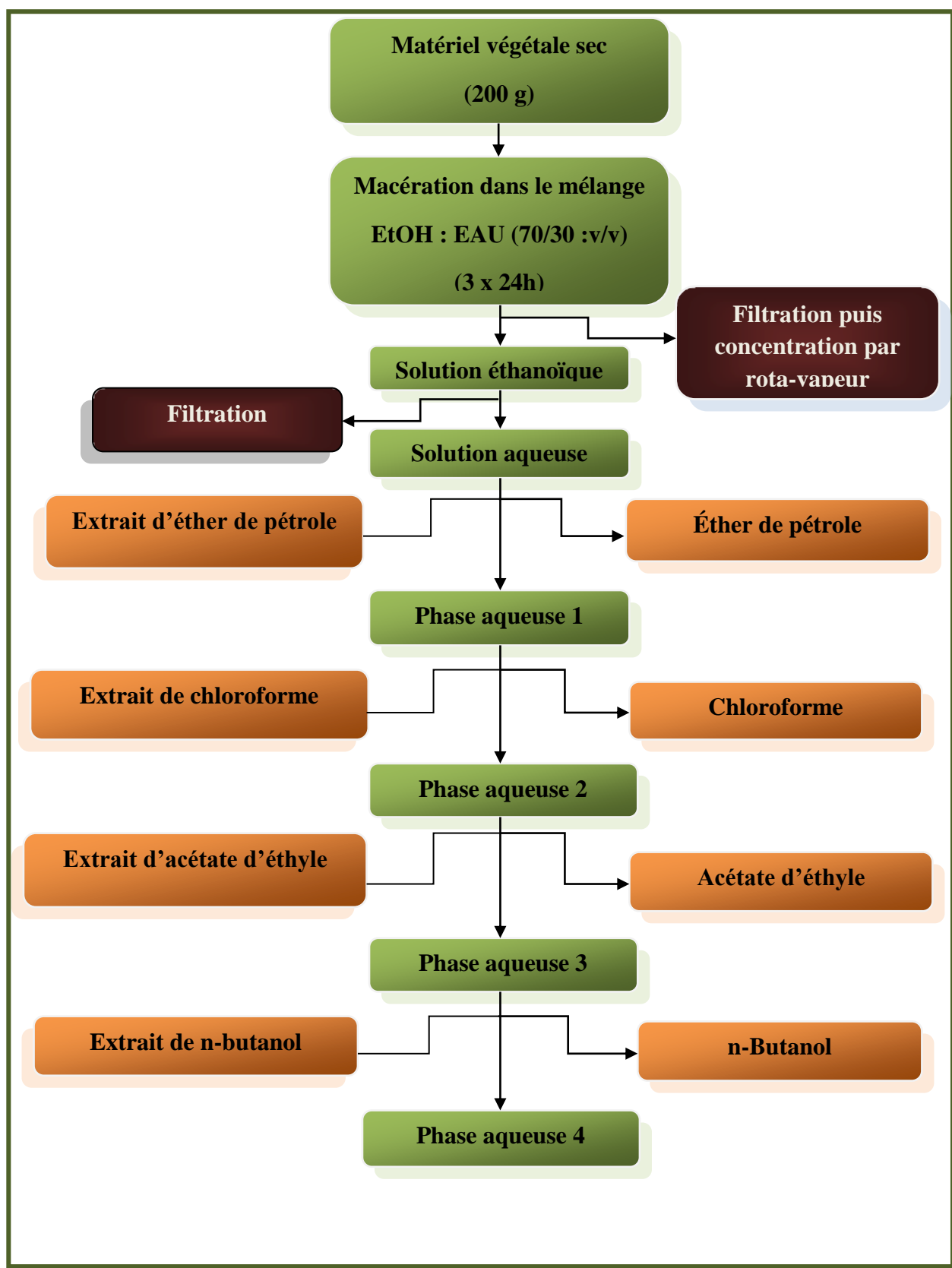


Fig.2 : Schéma d'extraction des métabolites secondaires de *Bassia Indica* par des solvants de polarité croissante.

IV. 4. Les différentes activités biologiques

IV. 4. 1. Évaluation de l'activité antibactérienne

Le but de ce travail est la détermination de l'activité antibactérienne de l'extrait d'éther de pétrole, l'extrait de chloroforme et l'extrait de n-butanol de la plante « *Bassia Indica* » contre les bactéries (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853).

L'étude est réalisée par la méthode de diffusion, qui est à l'origine doté pour les antibiotiques (antibiogramme), mais en substituant les disques d'antibiotiques par d'autres imprégnés par (l'extrait d'éther de pétrole, l'extrait de chloroforme et l'extrait de n-butanol), cette méthode consiste à déposer des disques de papiers filtres imprégnés d'extrait sur la surface des géloses ensemencées par le germe à tester et de mesurer les diamètres d'inhibition en millimètre (mm) après incubation.

IV. 4. 1. 1. Préparation des solutions

- Les différents extraits organiques de la plante étudiée sont solubilisés dans le DMSO.
- Des dilutions ont été ensuite réalisées pour obtenir des concentrations de 0,2 g/ml, pour chaque extrait testé.

IV. 4. 1. 2. Préparation de l'inoculum

D'abord et avant tout, une suspension bactérienne est préparée à partir d'une culture pure et jeune (âgée de 18 heures). Cet inoculum sert à ensemencer des géloses de Mueller Hinton coulées dans des boîtes de pétri sur une épaisseur de 4 mm puis séchées à l'étuve à 37°C avant l'emploi. L'ensemencement est effectué par écouvillonnage, à partir de l'inoculum fraîchement préparé. Il consiste à tremper un écouvillon de coton stérile dans la suspension puis le frotter, après l'avoir essoré à l'intérieur du tube, à trois reprises sur la totalité de la surface gélosée de façon à former des stries serrées, en tournant la boîte à environ 60° après chaque application pour obtenir une distribution égale de l'inoculum.

Des disques de papiers watman de 6 mm de diamètre, préalablement stérilisés sont déposés à la surface de gélose ensemencée après avoir été chargé de 10 µl d'extrait. Après 24 heures d'incubation à 37°C, le diamètre d'inhibition est mesuré.

IV. 4. 2. Évaluation de l'activité antioxydante

L'activité antiradicalaire des extraits a été évaluée par la capacité de balayage du radical libre DPPH. Cette méthode consiste à suivre la réduction du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picryl hydrazyl) par un antioxydant à l'aide de spectrophotométrie UV-visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par la présence des extraits.

DPPH est un radical libre stable de couleur violet, Il devient réduit à la diphenyl picrylhydrazine de couleur jaune [1]. Cette décoloration explique la capacité des composés de l'extrait à piéger ces radicaux libres (Figure 3). Ce test nous permet donc d'obtenir des informations sur ce pouvoir.

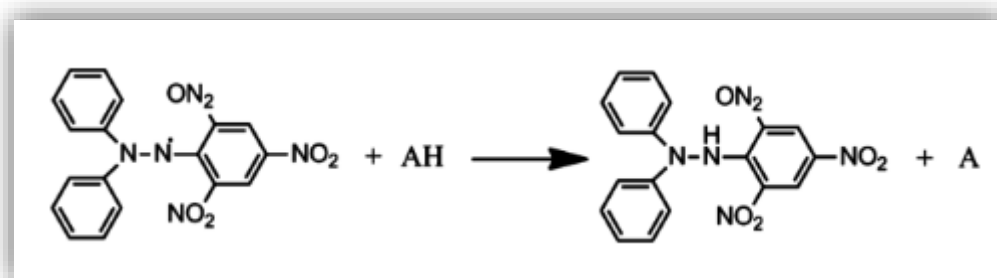


Fig.3 : Réaction entre le DPPH et un antioxydant [2].

IV. 4. 2. 1. Préparation de la solution DPPH

Le DPPH 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl ($C_{18}H_{12}N_5O_6$; Mr : 394.33), est solubilisé dans du méthanol absolu (4mg/100ml).

IV. 4. 2. 2. Solution d'extrait

Pour le test les échantillons ont été préparés par dissolution dans le méthanol absolu. Pour tous les extraits, on a préparé des solutions dans du méthanol absolu. Ces solutions dites solutions mères, subiront ensuite des dilutions pour en avoir différentes concentrations.

IV. 4. 2. 3. L'essai du DPPH

Le protocole utilisé pour l'évaluation de l'effet scavenger des extraits de la plante contre le radical DPPH est celle de "Cuendet" avec une petite modification [3]. Ce protocole a été résumé dans le tableau ci-dessous.

Tableau IV.2 : Protocole de l'activité antioxydante des extraits.

	DPPH	MeOH	Extrait
Contrôle	2500µl	100µl	
Échantillon	2500µl		100µl

Dans des tubes secs et stériles, on introduit 100µl de la solution à tester, on ajoute 2500µl de solution au DPPH. Après agitation par un vortex, les tubes sont placés à l'obscurité, à température ambiante pendant 30 minutes. Pour chaque concentration, le test est répété 5 fois. La lecture est effectuée par la mesure de l'absorbance à 517 nm par un spectrophotomètre. Le contrôle négatif est composé de 2500 µl de la solution méthanoïque au DPPH et de 100 µl de méthanol.

IV. 4. 2. 4. Expression des résultats

Pour obtenir la concentration efficace qui réduit la concentration initiale de DPPH de 50% ; les résultats sont exprimés en activité antioxydante, qui exprime la capacité de piéger le radical libre, elle est estimée par le pourcentage de décoloration du DPPH en solution dans le méthanol. L'activité antioxydante "AA%" est donnée par la formule suivante :

$$AA \% = 100 - \{[(Abs_{test} - Abs_{Blanc}) \times 100] / Abs_{control}\}$$

$$Inhibition \% = (Abs_{control} - Abs_{test}) / Abs_{control} \times 100$$

AA: Activité antioxydante.

Abs: Absorbance à la longueur d'onde de 517 nm.

Les résultats ont été exprimés par la moyenne de trois mesures \pm écart type. La valeur IC 50 a été déterminée pour chaque extrait, est défini comme étant la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH (couleur).

IV. 4. 3. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire in vitro des trois extraits (extrait d'éther de pétrole, extrait d'acétate d'éthyle et l'extrait de n-butanol) du *Bassia Indica*, a été effectuée selon la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines. La méthode consiste à préparer quatre solutions.

IV. 4. 3. 1. Préparation des solutions

Les trois solutions mères de 2 ml des extraits d'éther de pétrole, l'extrait d'acétate d'éthyle et l'extrait n-butanol avec 3 différentes concentrations ont été préparés respectivement comme suit : 20 mg/ml, 10 mg/ml et 5 mg/ml. On a pris les valeurs de 40 mg, 20 mg et 10 mg de chaque extrait afin de les solubiliser dans 1000 µl d'une solution tampon Tris-HCL (Ph=6.48 ; 20mM) qui a été déjà préparée. Chaque solution mère est répartie dans quatre tubes à essai, c'est-à-dire chaque tube contient 500 µl de solution mère avec 1 ml d'albumine d'œuf, le quatrième tube est considéré comme test blanc, il contient 500 µl de la solution mère avec 1000 µl de solution tampon.

La solution contrôle test négatif est préparée dans trois tubes à essai, composée de 500 µl de Tris-HCL et 1 ml d'albumine d'œuf. Ces tubes ont subi à une agitation puis ils ont été incubés pendant 20 min à 70°C. Après chaque ajout, les tubes ont subi une agitation à l'aide d'un vortex pour bien solubiliser les solutions.



Fig.4 : Préparation des échantillons des trois extraits de l'activité anti-inflammatoire

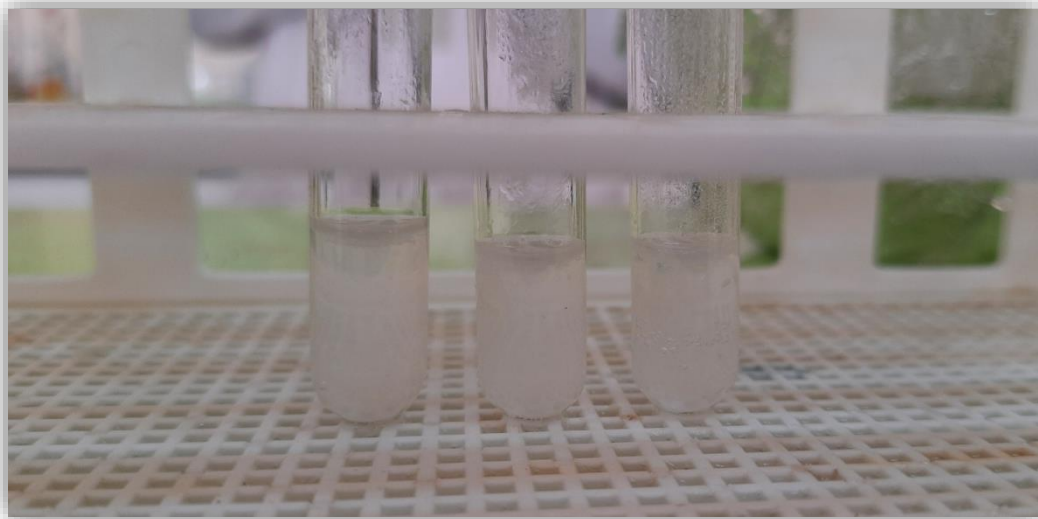


Fig. 5 : Les trois échantillons du control test négatif.

IV. 4. 3. 2. Expression des résultats

Après le refroidissement des tubes, l'absorbance des échantillons a été mesurée par le spectrophotomètre UV-visible à 650 nm.

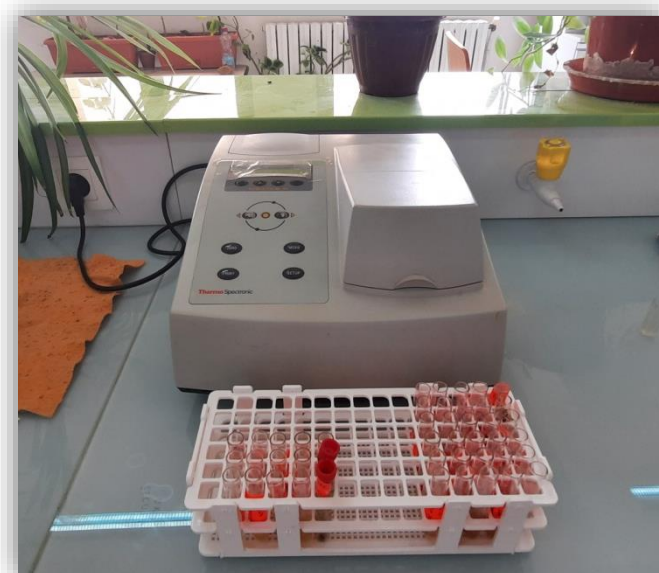


Fig. 6 : La détermination des valeurs d'absorbance par le spectrophotomètre UV- visible

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines est calculé, en utilisant la formule suivante [4] :

$$\% \text{ d'inhibition} = 100 \times [V_t / V_c - 1]$$

V_t : absorbance de l'échantillon d'essai

V_c : absorbance du contrôle négatif

Le résultat obtenu est la moyenne de trois répétitions de chaque extrait. La concentration (C₁₅₀) des extraits pour une inhibition de 50% est déterminée par la courbe dose-réponse.

Références bibliographiques

- [1] Prior R.L., Wu X. and Schaich K., (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 4290-4302
- [2] Kitima SIRIVIBULKOVIT, Souksanh NOUANTHAVONG, Yupaporn SAMEENOI (2018). Paper-based DPPH Assay for Antioxidant Activity Analysis.
- [3] Cuendet M., Hostettmann K., Dyatmiko W. and Potterat O. (1997). Iridoid glucosides with free radical scavenging properties from *Fagraea blumei*. *Helvetica Chimica Acta*. 80: 1144 - 1152.
- [4] Samira FETNI, Nabil BERTELLA (2020). Etude in vitro des propriétés anti-inflammatoires de l'extrait méthanolique des fruits de *Rosa canina* L. (Rosacées).

Chapitre V

Résultats et discussion

V.1 . L'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne est déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition produite autour des disques après 24 h d'incubation à 37° C. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau V.1 : Diamètre de la zone d'inhibition (mm) des extraits de *Bassia Indica*.

Souches bactériennes	Diamètre des zones d'inhibition (mm)		
	L'extrait d'éther de pétrole	L'extrait de chloroforme	L'extrait de n-butanol
Staphylococcus aureus (ATCC 6530)	6	12	6
Pseudomonas aeruginosa (ATCC 27853)	6	6	8
Escherichia coli (ATCC 25922)	6	6	6

Nous avons étudié l'activité antibactérienne des extraits (éther de pétrole, chloroforme et l'extrait de n-butanol) du *Bassia Indica*, vis-à-vis plusieurs souches de références.

Les tests que nous avons effectués montrent que :

- L'extrait de chloroforme a une activité vis-à-vis « *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) » avec une zone d'inhibition de (12 mm), alors que le même extrait ne présente aucune activité vis-à-vis « *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 2785) » et « *Escherichia coli* (ATCC 25922) ».
- L'extrait de n-butanol a montré une faible activité contre « *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) » avec une zone d'inhibition de (8mm), et aucune activité avec les souches bactériennes « *Staphylococcus aureus* (ATCC 6530) » et « *Escherichia coli* (ATCC 25922) ».
- L'extrait d'éther de pétrole n'a pas montré aucune activité vis-à-vis toutes les souches bactériennes.

Les résultats obtenus sont représentés dans la figure suivante :



Fig.1 : Activité antibactérienne des extraits 1,2 et 4.

V. 2. L'activité antioxydante

L'activité antioxydante exprime la capacité de réduction des radicaux libres. Nous avons utilisé la méthode du DPPH pour les trois extraits de la plante, ce radical libre montre une coloration violet sombre, lorsqu'il est piégé par les substances antioxydantes, la forme réduite confère à la solution une coloration jaune pâle, le virage vers cette coloration et l'intensité de la décoloration de la solution du forme libre dépend de la nature, la concentration et la puissance de la substance antiradicalaire.



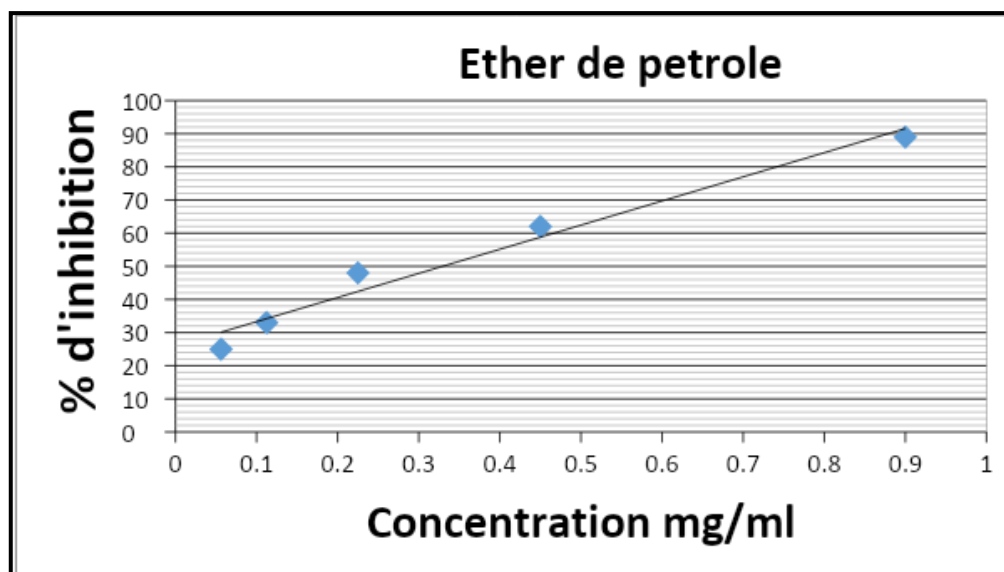
Fig.2 : L'activité antioxydante de l'extrait d'éther de pétrole.



Fig.3 : L'activité antioxydante de l'extrait de chloroforme.

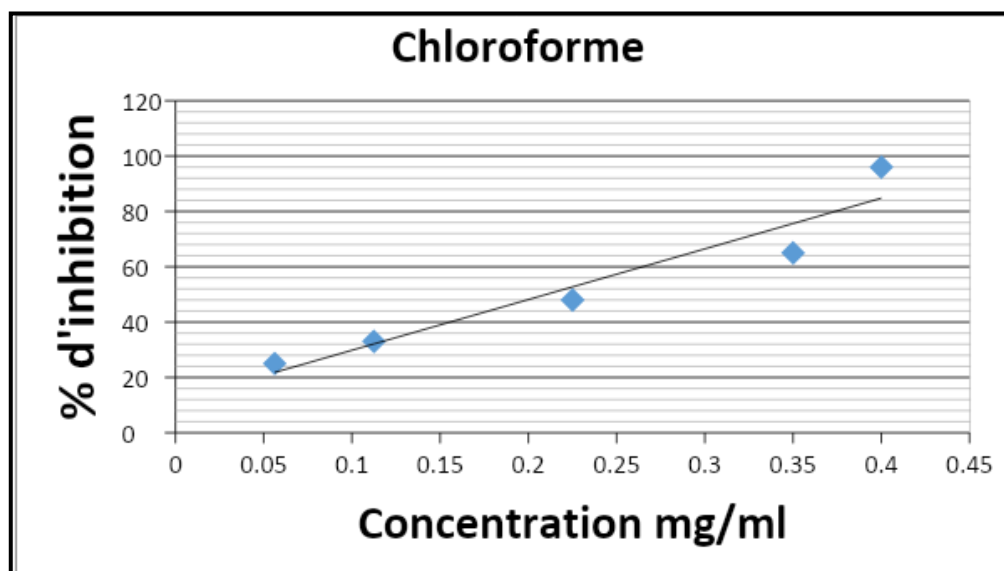
L'activité antioxydant des différents extraits à été évaluée par le test DPPH, par la réduction de ce radical libre qui a été contrôlée par différentes doses de l'extrait, la transition du violet au jaune peut être mesurée par spectrophotométrie UV-Visible 517nm.

Les résultats obtenus pour les différents extraits sont présentes dans les figures suivantes :



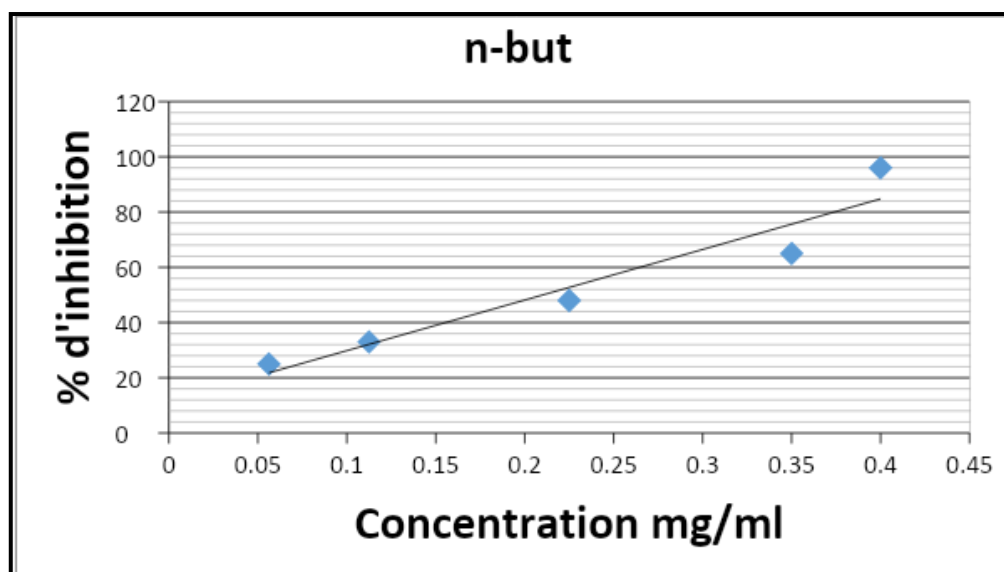
IC = 0,329 mg/ml

Fig.4 : Activité inhibitrice du radical DPPH par l'extrait éther de pétrole.



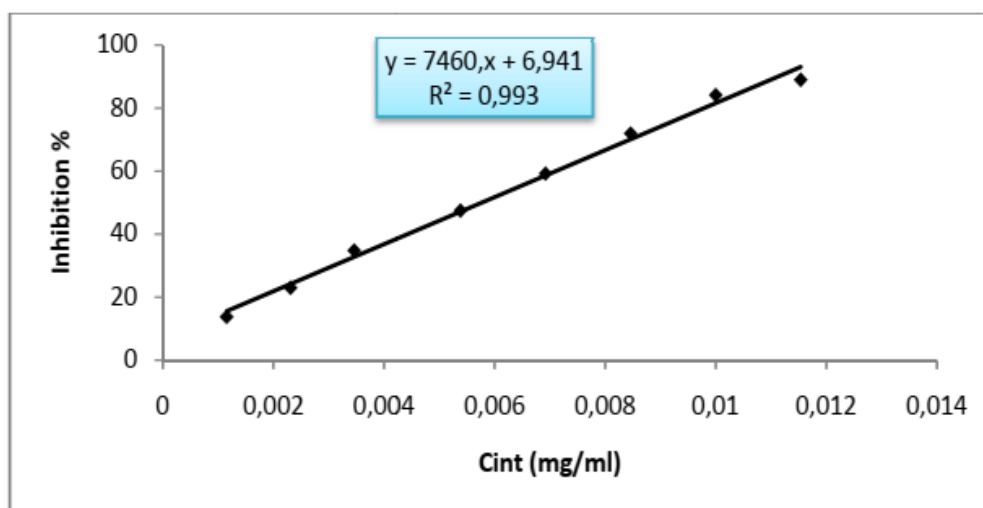
IC = 0,31 mg/ml

Fig.5 : Activité inhibitrice du radical DPPH par l'extrait de chloroforme.



IC = 0,203mg/ml

Fig.6 : Activité inhibitrice du radical DPPH par l'extrait n-butanolique



IC50 = 5,771 µg/ml

Fig.7 : Activité inhibitrice du radical DPPH par la rutine « standard »

Les valeurs d'IC50 des différents extraits ont été déterminées à partir de la courbe qui représente le pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations utilisées.

Nos résultats montrent que la rutine « standard » est le plus actif, sa valeur est **IC50= 0.0057mg/ml** par la suite vient l'extrait n-butanolique, sa valeur est **IC50= 0,203mg/ml** par la suite vient l'extrait de Chloroforme avec une valeur de **IC50=0,31mg/ml** et enfin l'extrait d'éther de pétrole présente un **IC50=0,329mg/ml**.

La forte activité d'extrait n-butanolique pourrait s'expliquer par la présence des polyphénols et des flavonoïdes en quantité considérable.

V. 3. L'activité anti-inflammatoire

La dénaturation des protéines est une cause d'inflammation bien démontrée [1-2]. Dans le perspective de l'investigation sur le mécanisme de l'activité anti-inflammatoire, le potentiel inhibitrice des extraits (éther de pétrole, acétate d'éthyle et n-butanol) de la plante *Bassia Indica* a été étudié contre la dénaturation des protéines de l'albumine d'œuf. Nos résultats ont clairement démontrés que l'extrait d'acétate d'éthyle à une concentration 20 mg/ml présente une bonne activité inhibitrice de la dénaturation de protéine.

Les résultats obtenus pour les différents extraits sont présentes dans les figures suivantes :

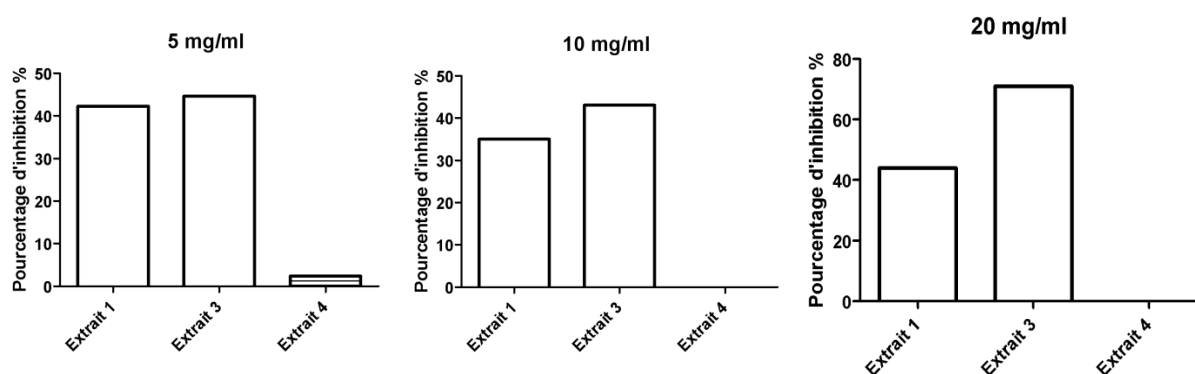


Fig.8 : Activité inhibitrice de la dénaturation par les extraits 1,2 et 3.

Références bibliographique :

[1] Medina MB (2011) . Simple and rapid method for the analysis of phenolic compounds in beverages and grains. *J Agricult Food Chem* 59: 1565- 71

[2] Brooks P (2006). The burden of musculoskeletal disease: A global perspective. *Clin Rheumatol* 25: 778-81

Conclusion générale

Conclusion :

Malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie qui propose des remèdes naturels et bien acceptés par l'organisme humain revient au premier plan. Aujourd'hui, les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les patients, qui se tournent vers des traitements moins agressifs des maladies bénignes, rhumes et toux, ou plus sérieuses comme l'asthme, l'arthrite ou bien la malaria, tout en utilisant des plantes médicinales qui ont toujours restées une source fiable des principes actifs, connus par leurs effets thérapeutiques. Mais, même s'il paraît que les plantes sont faciles à utiliser, il ne faut surtout pas tomber dans ce piège, car certaines de ces plantes provoquent aussi des effets secondaires. Comme tous les médicaments, les plantes médicinales doivent être employées avec précaution, il est donc recommandé de n'utiliser une plante que sur les conseils d'un spécialiste.

Dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales et aromatiques en Algérie, on a consacré ce travail de recherche pour la révélation des nouvelles molécules bioactifs d'origines végétale à intérêt thérapeutiques.

Et comme la phytothérapie en Algérie a donné naissance un nouveau intérêt, on a concentrés cette étude sur l'investigation phytochimique et l'évaluation des activités antibactérienne, antioxydante et anti-inflammatoire de la plante médicinale algérienne « *Bassia Indica* », qui appartient à la famille des Chénopodiacees.

Nous avons choisis cette espèce en raison de son abondance dans la région de M'sila, leur richesse en métabolites secondaires et le manque de travaux de recherches concernant cette plante.

L'étude de l'activité antibactérienne de ce chénopode par la méthode de diffusion sur des milieux gélosés, montre que les extraits (éther de pétrole, chloroforme et n-butanol) ont une très faible sensibilité contre les souches bactériennes.

L'étude du potentiel antiradicalaire de ces trois extraits, réalisé par la méthode du DPPH, a montré que cette espèce possède une bonne activité antioxydante.

L'activité anti-inflammatoire in vitro des extraits isolés de *Bassia Indica*, a été effectuée selon la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines présentent le pourcentage d'inhibition des trois extrais éther de pétrole, acétate d'éthyle et n-butanol.

Résumé :

La plante algérienne « *Bassia Indica* » appartient à la famille des Chénopodiacées, répandue dans les zones arides, les déserts et les sols alcalins. Notre étude est fondée sur l'évaluation des activités antibactérienne, antioxydante et anti-inflammatoire de quatre extraits organiques isolés de cette plantes.

L'obtention de ces quatre extraits est effectuée par une macération hydro-éthanoïque, suivi d'une extraction liquide-liquide à fin de séparés l'extrait brute en quatre phases par des solvants organiques de différentes polarités (l'éther de pétrole, le chloroforme, l'acétate d'éthyle et le n-butanol).

Les différents extraits (éther de pétrole, chloroforme et n-butanol) de cette plante possèdent une très faible activité antibactérienne, alors que le pouvoir antioxydant de ces extraits est significative et surtout la forte activité d'extrait n-butanolique qui pourrait s'expliquer par la présence des polyphénols et des flavonoïdes en quantité considérable contre le radical libre DPPH.

L'activité anti-inflammatoire des extraits (éther de pétrole, acétate d'éthyle et n-butanol) a montré que l'extrait d'acétate d'éthyle à une concentration de 20mg/ml possède une activité inhibitrice contre la dénaturation de protéine, alors que les autres extraits ont des résultats très faibles comparés avec celle du standard.

Mots clés : *Bassia Indica*, plante médicinale, activité antibactérienne, activité antioxydante, activité anti-inflammatoire.

Abstract:

The Algerian plant *Bassia Indica* belongs to the family of Chenopodiaceae, widespread in arid zones deserts and alkaline soils. Our study is based on the evaluation of antibacterial, antioxidant and anti-inflammatory activities of the organic extracts isolated from this plant.

The four extracts were obtained by hydro-ethanoic maceration, followed by liquid-liquid extraction to separate the crude extract into four phases using organic solvents with different polarities (Petroleum ether, chloroform, ethyl acetate and n-butanol).

The different extracts (Petroleum ether, chloroform and n-butanol) possess a very weak antibacterial activity, whereas the antioxidant potential of these extracts is significant against the free radical DPPH

The anti-inflammatory activity of the extracts (petroleum ether, ethyl acetate and n-butanol) showed that ethyl acetate extract at a concentration of 20mg/ml has an inhibitory activity against protein denaturation, whereas the other extracts have very weak results compared with that of the standard.

Key words: *Bassia Indica*, medicinal plant, antibacterial activity, antioxidant activity, anti-inflammatory activity.

الملخص :

ينتمي النبات الجزائري *Bassia Indica* إلى عائلة *Chenopodiaceae* و هي عائلة منتشرة في المناطق القاحلة، الصحاري و الأراضي القلوية. دراستنا تعتمد على تقييم كل من النشاط المضاد للبكتيريا، النشاط المضاد للأكسدة و النشاط المضاد للالتهاب للمستخلصات التي تم أخذها من هذه النبتة.

المستخلصات الأربعة تم التحصل عليها باستعمال تقنية الاستخلاص الهيدرو-إيثانولي ، من أجل الحصول على مستخلص خام حيث تم فصله لأربعة أطوار باستعمال مذيبات مختلفة القطبية وهي : إيثر البترول ، الكلوروفورم ، أسيتات الإيثيل و البيوتانول.

مستخلصات كل من إيثر البترول ، الكلوروفورم و البيوتانول تمتلك نشاط مضاد للبكتيريا ضعيف جدا ، بينما تبين دراسة النشاط المضاد للأكسدة أن مستخلصات نبات *Bassia Indica* لها قدرة تثبيط عالية ضد الجذور الحرة DPPH.

أظهر النشاط المضاد للالتهابات للمستخلصات (إيثر البترول أسيتات الإيثيل البيوتانول) أن مستخلص أسيتات الإيثيل بتركيز 20 ملغم/مل له نشاط مثبط ضد تشويه البروتين، في حين أن المستخلصات الأخرى لها نتائج ضعيفة للغاية مقارنة بالمعيار.

الكلمات المفتاحية : *Bassia Indica* ، نبات طبي ، نشاط مضاد للبكتيريا ، نشاط مضاد للأكسدة ، نشاط مضاد للالتهاب.