

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE M'SILA
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE CHIMIE



N°...../2015

MEMOIRE

Présenter pour l'obtenir du diplôme de :

MASTER

Spécialité : synthèse organique et substances naturelles

Option : chimie

Par

SEGHIR BIREM Karima

Thème

**Etude phytochimique et biologique des extraits
aqueux d'une plante médicinale "*Juglans regia*"**

Soutenu publiquement le : 16/06/2015 devant le jury composé de :

-Debih L.	MC (B)	Université de M'sila	Président
- Benzeggouta N.	MC (B)	Université de M'sila	Rapporteur
- Raffas A.	MC (B)	Université de M'sila	Examineur
-Laadjel N.	Magister	Université de M'sila	Invité

Année : 2014 / 2015

Remerciement

*Avant toute chose, je remercie Dieu, le tout puissant,
pour m'avoir donnée la force et la patience.*

*J'exprime mes profonds remerciements et ma vive
connaissance à Melle BENZEGGOUTA Nairouz, pour
avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur
scientifique, sa disponibilité, ses conseils et la confiance
qu'elle m'a accordé et qui m'ont permis de réaliser ce
travail.*

*J'adresse mes sincères remerciements à tous les membres de
jury.*

*Je tiens également à adresser mes vifs remerciements au
chef de département de chimie et tous les enseignants
techniciens, secrétaires et étudiants.*

*C'est un grand merci que j'adresse à tous les membres du
Laboratoire de chimie laboratoire de microbiologie de
l'Université de Msila.*

Dédicace

A mes chers parents

En témoignage de ma reconnaissance pour leur patience, leurs sacrifices et leur soutien tout au long de mes études, que dieu leurs prête santé.

A ma petite fille "Hayat"

A mes chers sœurs et frères

En témoignage de mes sentiments les meilleurs

A mon mari en témoignage de son affection Et ma reconnaissance pour leur encouragement

J'adresse un clin d'œil à mes neveux

et mes nièces pour tous les moments de joie et de rigolade

Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je vous dis merci.

SOMMAIRE

Introduction générale	1
------------------------------------	----------

Partie bibliographique

Chapitre1: La plante étudiée "Juglans regia "

1. Genre: <i>Juglans</i>	3
2. Espèce: <i>Juglansregia</i>	5
1. Historique.....	5
2. Description botanique.....	6
3. Répartition géographique.....	6
4. Composition iochimique de <i>Juglas regia</i>	7
5. Composition de noix et valeur nutritionnelle.....	7
6. Utilisation Populaire de <i>J. regia</i>	10
7. La composition chimique de <i>J. regia</i>	12

Chapitre2 :Les composés phénoliques

1 Généralités.....	13
2 Biosynthèse.....	14
3 Classes des polyphénols.....	15
1) Flavonoïdes.....	16
2) Anthocyanosides.....	19
3) Tannins.....	19
3.1. Tannins hydrolysables.....	19
3.2. Tannins condensés (tannins catechiques ou Proanthocyanidol).....	20
4) Phénols simples et les acides phénoliques.....	20
4.1. Acides phénols dérivés de l'acide benzoïque.....	20
4.2. Acide phénols dérivés de l'acide cinnamique.....	21
4.3. Phénols simples.....	21

5) Coumarines.....	21
6) <i>Quinones</i>	21
7) <i>Stilbène</i>	21
8) <i>Lignanes</i>	22
4. <i>Propriétés biologiques des polyphénols</i>	22

Partie expérimentale

Matériel et Méthodes

1- Matériel végétal.....	25
2- Préparation des extraits	25
3- Screening phytochimique.....	25
A .Sopnosides.....	25
B .Coumarines.....	26
C .Tanins.....	26
D .Flavonoides	26
E .Tritéropènes et stéroïdes	26
G .Recherche des anthocyanes	27
H .Recherche de l' amido.....	27
I .Recherche des acides gras	27
4- L'activité antibactérienne.....	27
1. Détermination de la Concentration Minimal Inhibitrice	28
2. L'inculum.....	29
5- L'évaluation de la phytotoxicité	29

Résultats et Discussions

1- Screening phytochimique.....	31
A. Sopnosides.....	31
B. Coumarines.....	32
C. Tanins.....	32
D. Flavonoïde.....	33

E. Tritéropéne.....	33
F. Stéroïdes.....	33
G. Amidon	34
H. Anthocyanes.....	34
I. Recherche des acides gras	35
2- L'évaluation de la phytotoxicité.....	38
3- L'activité anti bactérienne.....	38
4- Le spectre UV.....	41
Conclusion.....	42

Liste des figures

Figure 1: <i>Juglans regia</i>	3
Figure 2: les feuilles de <i>J.regia</i>	4
Figure 3: les fruits de <i>J.regia</i>	4
Figure 4: l'écorce de <i>J.regia</i> " <i>M'iswak</i> ".....	4
Figure 5: structure de juglone.....	12
Figure 6: Biosynthèse des composés phénoliques le plus largement distribués Par la voie de shikimate.....	15
Figure 7: Structure du 2-phényle chromane.....	17
Figure 8: Structure générale des flavonoïdes.....	17
Figure 9: Structures des squelettes de base des flavonoïdes.....	18
Figure 10: Structure des anthocyanosides.....	19
Figure 11: Structure chimique des acides gallique (A) et ellagique (B)....	20
Figure 12: Matériel utilisé pour la méthode de la CMI.....	27
Figure 13: :photo après 5 jours de croissance da <i>Cicer sp</i>	29
Figure 14: photo après 5 jours de croissnse de <i>Vigna sp</i>	30
Figure 15: le test des saponosides.....	31
Figure 16: le test des tannins.....	32
Figure 17: le test de l'amidon.....	34
Figure 18: le test d'anthocyanes.....	35
Figure 19: le test de l'acide organique.....	35
Figure 20: photo après 2 semaines de début de l'expérience.....	37

Figure 21: <i>test de l'activité antibactérienne de l'extrait A</i>	39
Figure 22: <i>test de l'activité antibactérienne de l'extrait B</i>	40
Figure 23: le spectre d'absorption sous UV.....	41

Liste des tableaux

Tableau 1: <i>la place dans la systématique</i>	5
Tableau 2: <i>Valeur nutritionnelle de Juglans regia L</i>	9
Tableau 3: <i>Structure des squelettes des polyphénols</i>	16
Tableau 4: <i>les métabolites secondaires dans l'extrait A</i>	36
Tableau 5: <i>les métabolites secondaires dans l'extrait B</i>	36
Tableau 6: <i>résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait A</i>	38
Tableau 7: <i>résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait B</i>	40

Introduction

Depuis la nuit des temps, les hommes ont apprécié les vertus apaisantes des plantes médicinales. Aujourd'hui encore, les deux tiers de la pharmacopée ont recours à leurs propriétés curatives. A travers les siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales. Si certaines pratiques médicales paraissent étranges et relèvent de la magie, d'autres au contraire semblent plus fondées, plus efficaces. Pourtant, toutes ont pour objectif de vaincre la souffrance et d'améliorer la santé des hommes . [1]

Beaucoup de métabolites secondaires sont également important pour notre alimentation (goût, couleur), alors que d'autres parmi alcaloïdes, anthocyanines, flavonoïdes, quinine, lignanes, les stéroïdes, et les terpenoïdes ont une application commerciale dans les domaines pharmaceutiques et biomédicaux et font partie des drogues, colorants, arômes, parfums et des insecticides [3].

Toutefois, malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre de multiples avantages. N'oublions pas que de tout temps, à l'exception de ces cent dernières années, les hommes n'ont 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 [2].

La phytothérapie, qui propose des remèdes naturels et bien acceptés par l'organisme, est souvent associée aux traitements classiques. Elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en Occident, spécialement dans le traitement des maladies chroniques, comme l'asthme ou l'arthrite. De plus, les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs, qui se tournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme [2].

Le continent africain est un des continents dotés d'une biodiversité la plus riche dans le monde, avec une avalanche de beaucoup de plantes utilisées comme herbes, aliments naturels et pour des buts thérapeutiques. Malgré la nature hétérogène du continent, il y a eu peu d'efforts consacrés au développement des agents chimio thérapeutiques et phytothérapeutiques de ces plantes [4].

L'exploitation des ressources naturelles, et notamment du monde végétal, est encore capitale à l'heure actuelle. Elle est réalisée par :

Etude chimiotaxonomique qui consiste à rechercher des catégories de molécules dans les plantes en fonction de leur appartenance botanique. Ainsi les Apocynaceae, les Rutaceae, les Rubiaceae renferment souvent des alcaloïdes et c'est parmi ces familles que l'on recherche d'abord les alcaloïdes [2].

Etude ethnopharmacologique qui consiste à recueillir des renseignements sur l'utilisation des plantes auprès des populations vivant encore près de la nature en Amérique du Sud, dans les îles du Pacifique, en Afrique ou dans le Sud- Est Asiatique[2].

Etude pharmacologique est caractérisée par l'observation du comportement des plantes dans leur environnement naturel. Les interactions plantes-plantes (allélopathie), plantes-microorganismes, plantes-insectes, plantes-animaux sont associées à des signaux chimiques [2].

On effectué une étude phytochimique et biologique de deux extraits de plante très connue en Algérie : *Juglans regia* "noyer commun"

- ü Le premier chapitre présente une description générale de la plante utilisé et ses constituent chimiques
- ü Dans la second chapitre on parle de composes phénoliques et ses propriétés biologiques
- ü Dans la partie expérimentale on a fait la screening phytochimique des deux extrait aqueux à deux différents températures et on a effectué une étude de l'activité antibactérienne
- ü On a termine par une conclusion générale

Chapitre 1:
La plante étudiée
"Juglans regia"

Juglans regia:**1*Genre : Juglans**

Juglans est un genre de plante de la famille *Juglandaceae*, connu par ses graines ou noix. Ce genre compte 21 espèces réparti en Europe et au Japon.

Parmi eux, quatre espèces essentielles :

**Juglans mandshurica*

* *Juglans regia*

* *Juglans cathayensis*

**Juglans hopriensis* d'origine chinoise

J. mandshurica et *J. regia* sont les plantes les plus populaires. *Regia* principalement envahie le sud de Rivière Changjiang de la Chine [5].



Figure 1: *Juglans regia*



Figure2: les feuilles de J.regia [15].



Figure3: les fruits de J.regia[15].



Figure 4: l'écorce de J.regia"M'iswak"

2*Espece: Juglans regia

La plante que nous allons étudier est *Juglans regia* est sa place dans la systématique botanique est dans le tableau n°1

Tableau 1: la place dans la systématique [6.37].

Règne	<i>Plantae</i>
Classe	<i>Dicotylédones</i>
Sous classe	<i>Apitales</i>
Embranchement	<i>Phanérogames</i>
s/embranchement	<i>Angiospermes</i>
Ordre	<i>Amentales</i>
Famille	<i>Juglandacées</i>
Genre	<i>Juglans</i>
Espèce	<i>Juglans régia</i>

2*1*Historique :

Les noix sont la nourriture d'arbres la plus vieille connue à l'homme, datant 7000 av. J.-C les Romains appelaient des noix *Juglans regia* "le gland royal du Jupiter." La première histoire indique que des noix anglaises sont venues de la Perse antique, où elles ont été réservées pour la redevance. Ainsi, on connaît souvent la noix comme "la Noix persane." On a négocié des Noix le long du parcours de Route de la soie entre l'Asie et le Moyen-Orient. Les caravanes ont porté des noix à loin des pays et finalement par le commerce de mer, étendant la popularité de la noix dans le monde entier. Des marines marchandes anglaises ont transporté le produit pour le commerce aux ports dans le monde entier et ils sont devenus et connus comme "des Noix anglaises." L'Angleterre, en fait, n'a jamais cultivé des noix

commerciallement. La coquille extérieure a fourni une couche protectrice naturelle aidant la maintenance la qualité de la noix. Aujourd'hui le commerce de noix continue à être un bien établi, ordonné et la noix de Californie est bien connue comme la noix de qualité supérieure pour le monde [7].

2*2*Description botanique de *Juglans regia* :

Juglans regia est un arbre grand, à feuilles caduques atteignant les hauteurs de 25 à 35 m et un tronc en hausse de 2 m de diamètre, généralement avec un tronc court et une large couronne, quoique plus grand et plus étroit à compétition forestière dense. C'est une espèce claire exigeante, surtout la lumière solaire pour bien grandir. L'écorce est lisse, olive-brune quand l'arbre est jeune et argentée-grise sur des branches plus vieilles, et montre de larges fissures avec une texture plus lourde. Comme toutes les noix, la moelle des brindilles contient des espaces aériens; cette moelle chambrée est brunâtre en couleurs. Les feuilles sont alternativement arrangés, 25 à 40 cm de long, étrange-penné avec 5 à 9 prospectus, appareillés alternativement avec un prospectus terminal. Les plus grands prospectus sont les trois à l'apex, 10 à 18 cm de long et 6- 8 cm large; la paire basale de prospectus est beaucoup plus petite, 5 à 8 cm de long, avec les marges des prospectus entiers. Les fleurs masculines sont dans des chatons penchants 5 à 10 cm de long, Et les fleurs féminines sont terminales et dans les groupes de deux à cinq, mûrissant en automne dans un fruit avec une cosse verte, semi charnue brun et ondulée, Le fruit entier, y compris la cosse, tombe en automne; la graine est grande, avec une coquille relativement mince et comestible, avec une saveur riche [7, 12].

2*3*Répartition géographique:

Juglans regia est natal aux chaînes de montagnes de l'Asie Centrale, s'étendant de la provinc Xinjiang de Chine occidentale, les parties du Kazakhstan, Ouzbékistan et le Kirghizistan du sud et de chaînes de montagnes inférieures au Népal, Bhoutan, le Tibet, l'Inde du nord, le Pakistan et Sri Lanka, par l'Afghanistan, le Turkménistan et l'Iran aux parts de l'Azerbaïdjan, l'Arménie, la Géorgie et la Turquie orientale. Dans ces pays, il y a une grande diversité génétique, en formes héréditaires particulières avec la latérale fruitier. Pendant sa migration en Europe occidentale, la noix commune a perdu ce caractère et est devenue de grands arbres avec le terminal fruitier.

Une petite population des arbres d'espece *J. Regia* a échappé de la dernière période glaciaire en Europe du Sud, Mais la plus grande partie de matière végétale sauvage trouvée dans la Péninsule balkanique et une grande partie de Turquie a été très probablement présentée de la Turquie orientale par le commerce et le règlement il y a plusieurs milliers d'années[9].

2*4* Composition biochimique de Juglas regia

Le noyer (*Juglans regia L.*) est cultivé commercialement partout dans l'Europe du Sud, l'Afrique du nord, l'Asie orientale, les USA et l'Amérique du Sud occidentale. Dans cette dernière région, l'Argentine est le producteur principal, avec environ 8500 tonnes métriques par an.

La graine de noix représente de 40 à 60 % du poids de noix, dépendant principalement sur la variété. La graine a un haut niveau d'huile (52-70 %) dans laquelle les acides gras polyinsaturés prédominent en plus de l'huile, les noix fournissent les quantités appréciables de protéines (en hausse de 24 % du poids de graine de noix), des glucides (12-16 %) fibre (1.5-2 %) et minéraux (1.7-2%)[13].

Légèrement astringent, le goût de fruit de noix a été associé à la présence de composés phénoliques. La plupart des composés phénoliques généralement identifiés dans la noix sont des acides phénoliques et des tanins condensés. La haute concentration des composés phénoliques se trouve dans la coque (la pellicule qui entoure le grain). Les composés phénoliques sont intéressants de leurs effets positifs et favorables sur la santé humaine par suite de leurs antiathérogènes apparents et propriétés d'antioxydant[10].

2*5*Composition de la noix et valeur nutritionnelle

La noix a été utilisée globalement dans la nutrition humaine depuis l'Antiquité. La quantité haute en protéine et le contenu de huile des grains de *Juglans regia L.* (*Juglandaceae*) font ce fruit indispensable pour la nutrition humaine. Donc, la noix est classifiée comme une espèce stratégique pour la nutrition humaine et est incluse dans

la liste de FAO (de Food and Agriculture Organization) de plantes prioritaires. La partie de graine du fruit (le grain) est consommée fraîche, grillée, ou mélangée avec d'autres confiseries.

Des noix du Moyen-Orient sont ajoutées seules ou avec des amandes, de la date et le raisin sec comme une préparation de pâtisserie spéciale appelée Ma'moul.

Les noix sont riches en substances nutritives (graisses, protéines, vitamines et des minéraux.). Elles sont aussi la bonne source de flavonoïdes, stérols, des substances pectiques, des acides phénoliques et des polyphénols liés. Le contenu nutritionnel diffère d'une variété cultivée à une autre qui peut être influencé par le génotype, le cultivateur, l'écologie différente et le sol différent[13]

Les composants majeurs d'huile de noix sont triacylglycerols (980 huile g/kg), dans lesquels des acides gras monoinsaturés (principalement oléique l'acide) et (polyinsaturé; Linoléique et des acides linoléiques) sont présent dans de grandes quantités (dans tous les génotypes, en général, la composition d'huile de noix ressemble à celle d'huile de soja, mais l'huile de noix contient une concentration plus grande d'acide linoléique. En fait, parmi des huiles végétales, l'huile de noix a la quantité la plus haute de PUFAS polyinsaturé acides gras) (en hausse de 78 % du total FA(acide gras) le contenu)[9].

Les noix ont une quantité haute d'oméga 6 et l'oméga 3, PUFA (polyinsaturé acide gras) o qui sont des acides gras diététiques essentiels. Des études cliniques suggèrent que l'oméga 3 PUFA aurait le rôle significatif dans la prévention d'insuffisance coronarienne. Huile riche en acide oléique montre la stabilité oxydative plus grande donc; il pourrait être largement utilisé comme l'huile de friture. Selon une enquête conduite par plusieurs chercheurs, Il a été trouvé que la valeur moyenne pour la protéine était 18.1 % Ils sont principalement composés de glutens (environ 70 % des protéines de graine totales) ensemble avec les quantités moindres de globulines (18 %), des albumines (7 %) et (5 %) prolamines. Les résidus AA(acide aminé) acides dominant l'acide aminé (AA) la composition de farine de noix d'aspartate et glutamate ensemble avec relativement hauts niveaux d'arginine. Les protéines de noix contiennent tout l'élément essentiel AA exigé pour les besoins d'un adulte humain. Le ratio lysine/arginine dans des protéines de noix est inférieur que ceux observés dans

d'autres protéines végétales communes et ce fait ont a été identifié comme une caractéristique positive dans la réduction de développement d'athérosclérose .les noix contiennent une quantité haute de potassium, le phosphore et le magnésium et une petite quantité de sodium . Ces éléments jouent un rôle important pour beaucoup d'activités d'enzymes d'autant plus que cofacteur [9]

Tableau 2: la Valeur nutritionnelle de *Juglans regia L* [9].

Les vitamines principales	Valeur par 100 g
Folates	98 mcg
Niacin	1.125 mg
Pantothenic acid	0.570 mg
Pyridoxine	0.537 mg
Riboflavine	0.150 mg
Thiamine	0.541 mg
Vitamine A	20 IU
Vitamine C	1.3 mg
Vitamine E-y	20.83 mg
Vitamine K	207 mcg
Minéraux	
Potassium	441 mg
Phosphores	346 mg
Calcium	98 mg
Magnésium	158 mg
sodium	2 mg
Iron	2.9 mg
Copper	1.5 mg
Manganèse	3.8 mg
zinc	3.09 mg
Aluminium	0.58 mg
Les acides gras	

Acide gras insaturé	
Palmitoleic acide C16:1	
acide oléique C18:1	0.77
Acide Gadolieque C20:1	25.26
Total MUFA	0.05
Acide Linoléique C18:2	22.37
Acide Linoléique C18:3	57.10
Total PUFA	10.34
Acide gras saturée	4.29
Acide Myristique C14:0	
Acide Palmitique C16:0	0.24
Acide Stéarique C18:0	4.28
Acide Arachidonique C20:0	1.85
Total SFA PUFA/SFA	0.19
	7.21

2*6*Utilisation Populaire de J.regia

traditionnelles mondiales comme antimicrobien, anthelminthique, l'astringent, kératolytique, anti diarrhéique, hypoglycémique, dépuratoire, tonifiant, carminative et pour le traitement de sinusite, le froid et le mal d'estomac[13].

Dans la médecine populaire turque, des feuilles fraîches appliquées sur le corps nu ou le front pour réduire la fièvre ou sur le joint gonflé pour soulager la douleur rhumatismale[13] Le grain de *J. regia* a été utilisé pour le traitement de la maladie d'intestin incendiare (inflammatoire) dans la médecine traditionnelle iranienne. En Palestine, il est utilisé pour le traitement de diabète et l'asthme et traite la prostate et la perturbation vasculaire. En médecine chinoise Traditionnelle, son péricarpe extérieur vert séché nommé 'Qinglongyi' en chinois, a été rapporté pour traiter la douleur [9]

La plante est utilisée comme un remède d'actualité à l'inflammation dermique et la transpiration excessive des mains et des pieds. C'est aussi un remède domestique commun au traitement d'eczéma chronique et scrofule. Les feuilles de cette plante sont utilisées actuellement pour traiter la démangeaison de cuir de scalp et des pellicules, le coup de soleil et des brûlures superficielles aussi bien qu'un émollient complémentaire dans des affections cutanées. Il a aussi un haut anti-atherogenic et un potentiel et une activité ostéoblaste remarquable qui ajoute à l'effet avantageux d'une noix le régime enrichi sur cardioprotection et la perte osseuse[11].

L'écorce est utilisée comme miswaks pour le nettoyage de dents. Dans Le Népal la pâte d'écorce est utile dans l'arthrite, des maladies de peau, le mal de dents et la croissance de cheveux. Le manteau de graine est utilisé pour guérir des blessures. La coquille de *Juglans regia* est utilisée dans la médecine de gens de la Calabre pour guérir la malaria [11].

2*7* La composition chimique de J. regia :

Juglone (5hydroxy-1,4-naphtagulone)

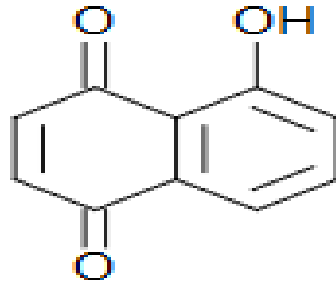


Figure 5 : structure de juglone[5].

Alphahydrojuglone (1,4,5-trihydroxynaphtalene)

Et glucoside β hydrojuglone, acide ellagique trace des minéraux, acide caféique,

Protéine, tannin[14].

Partie

Bibliographique

Chapitre 2:
Chapitre 2:
les Composés
les Composés
Phénoliques
Phénoliques

Composés phénoliques

1. Généralités :

Les polyphénols ou composés phénoliques, sont des molécules spécifiques du règne végétal. Cette appellation générique désigne un vaste ensemble de substances aux structures variées qu'il est difficile de définir simplement . A l'heure actuelle, plus de 8000 molécules ont été isolés et identifiés . Selon leurs caractéristiques structurales, ils se répartissent en une dizaine de classes chimiques, qui présentent toutes un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH). Ces espèces sont des monomères, des polymères ou des complexes dont la masse moléculaire peut atteindre 9000 . [17]

Ils sont divisés en plusieurs catégories : anthocyanes, coumarines, lignanes, flavonoïdes, tannins, quinones, acides phénols, xanthones et autres phloroglucinols où les flavonoïdes représentent le groupe le plus commun et largement distribué . La grande diversité structurale des composés phénoliques rend difficile une présentation globale des méthodes qui permettent leur extraction et leur isolement, des processus mis en jeu au cours de leur biosynthèse, de leurs propriétés physico-chimiques et biologiques . [18]

Les polyphénols sont présents partout dans les racines, les tiges, les fleurs, les feuilles de tous les végétaux. Les principales sources alimentaires sont les fruits et légumes, les boissons (vin rouge, thé, café, jus de fruits), les céréales, les graines oléagineuses et les légumes secs. Les fruits et légumes contribuent environ pour moitié à notre apport en polyphénols, les boissons telles que jus de fruits et surtout café, thé ou vin apportant le reste . [19]

Les recherches des dix à quinze dernières années ont démontré que les composés phénoliques ne sont nullement des produits inertes du métabolisme. Ils subissent dans les tissus végétaux d'importantes variations quantitatives et qualitatives et interviennent dans de processus vitaux les plus divers. Le mode de leur action et sa signification physiologique ne sont pas encore toujours claires. Un rôle important est attribué aux

phénols dans la résistance des plantes aux maladies, comme c'est le cas de la résistance du cotonnier à la maladie de flétrissement, la verticilliose.

Le phénomène d'accumulation des substances phénoliques dans les tissus végétaux infectés ou dans les zones proximales est également observé à la suite de blessures causées par des facteurs mécaniques et dans le cas de carence en certains éléments minéraux comme l'azote et le soufre. [20]

Des travaux plus anciens ont montré que les phénols seraient associés à de nombreux processus physiologiques : croissance cellulaire, différenciation organogène, dormance des bourgeons, floraison, tubérisation. Les polyphénols sont aussi connus pour leurs effets protecteurs contre le rayonnement UV, l'effet attracteur sur les insectes et les oiseaux pollinisateurs et pour ces propriétés antifongiques et antibactériennes. Ils interviennent dans la qualité alimentaire des fruits en déterminant la saveur, nous citons : les flavanones sont responsables de l'amertume des Cistus et peuvent donner naissance par transformation chimique à des dihydrochalcones à saveur sucrée, les anthocyanes, composés de couleur rouge à violet, participent à la coloration des fruits mûrs et les tannins sont à l'origine de la sensation d'astringence des fruits non mûrs.

A partir des années quatre-vingt, c'est la découverte du rôle des radicaux libres dans les processus pathologiques qui a relancé l'intérêt des polyphénols en particulier les flavonoïdes dont les propriétés antioxydantes sont très marquées [26].

2. Biosynthèse :

L'origine biosynthétique des composés phénoliques des végétaux est proche, tous dérivant de l'acide shikimique. Cette voie shikimate conduit à la formation des oses aux acides aminés aromatiques (phénylalanine et tyrosine) puis par désamination de ces derniers, aux acides cinnamiques et à leurs très nombreux dérivés : acides benzoïques, acétophénone, lignanes et lignines, coumarines. [18]

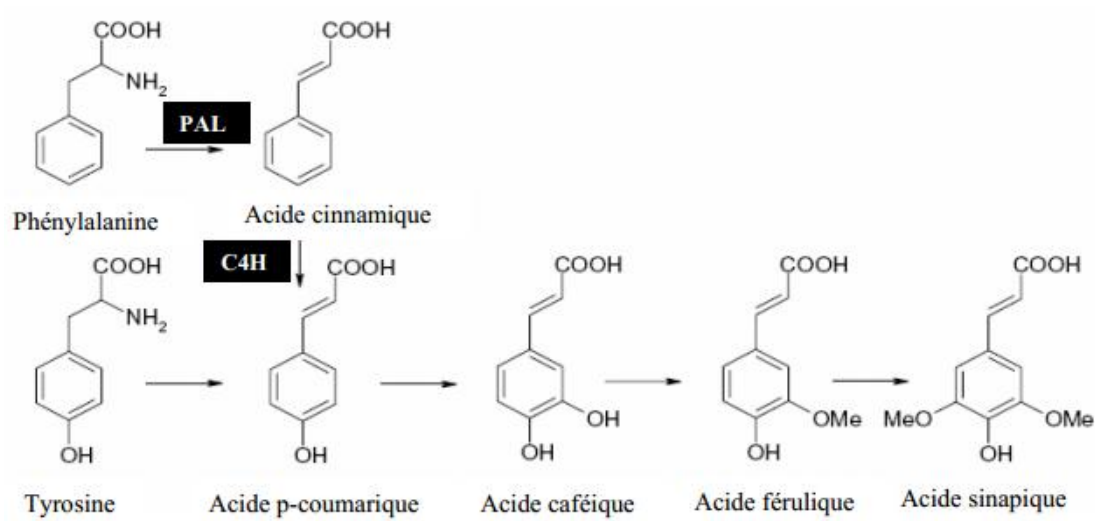


Figure 6 : Biosynthèse des composés phénoliques le plus largement distribués par la voie de shikimate : phénylalanine ammonia-lyase ;CH₄ : cinnmate 4-hydroxylase[31]

3. Classes des polyphénols :

Les polyphénols forment un très vaste ensemble de substances chimiques, ils peuvent être classifiés selon le nombre et l'arrangement de leurs atomes de carbones (Tableau). Ces molécules sont généralement trouvés conjuguées aux sucres et les acides organiques.

Tableau 3 : Structure des squelettes des polyphénols[25]

Nombre de carbones	Squelette	Classification
7	C ₆ -C ₁	Acides phénols
8	C ₆ -C ₂	Acétophénones
8	C ₆ -C ₂	Acide phénylacétique
9	C ₆ -C ₃	Acides hydroxycinamiques
9	C ₆ -C ₃	Coumarines
10	C ₆ -C ₄	Naphthoquinones
13	C ₆ -C ₁ -C ₆	Xanthones
14	C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbènes
15	C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoïdes

3.1. Flavonoïdes :

C'est le groupe le plus représentatif des composés phénoliques. Ces molécules ont des structures chimiques variées et des caractéristiques propres. Elles sont omniprésentes dans les fruits, les légumes, les graines, les boissons tels le thé et le vin rouge et d'autres parties de la plante. Elles sont considérées comme des pigments quasi universels des végétaux qui peuvent participer dans les processus photosynthétiques, dans la régulation de gène et dans le métabolisme de croissance. Actuellement, environ de 4000 composés flavoniques

sont connus et ont tous le même squelette de base à quinze atomes de carbones qui sont arrangés à une configuration C6-C3-C6 de type phényl-2-benzopyrane ce qui est synonyme avec la structure 2-phényle chromane . [21]

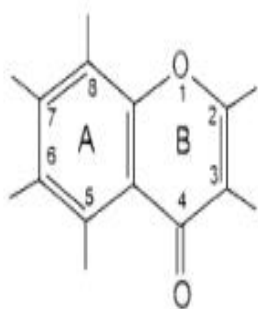


Figure 7: Structure du 2-phényle chromane [31]

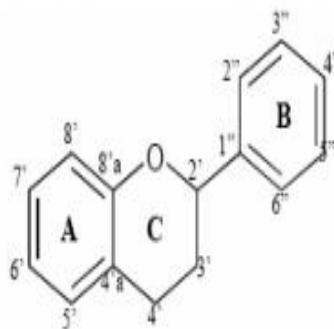


Figure 8: Structure générale des flavonoïdes [31]

La nature chimique des flavonoïdes dépend de leur classe structurale, de degré d'hydroxylation et de méthylation, de degré de polymérisation, des substitutions et des conjugaisons sur le cycle C c'est-à-dire la présence : de double liaison C2-C3, du groupe 3-Oet la fonction 4-oxo [21] . En basant sur leur squelette, les flavonoïdes peuvent être divisés en différentes classes : anthocyanidines; flavonoles; isoflavonoles ; flavones ; isoflavones ; flavanes ; isoflavanes ; flavanols ; isoflavanols; flavanones ; isoflavanones ; auronnes .[22]

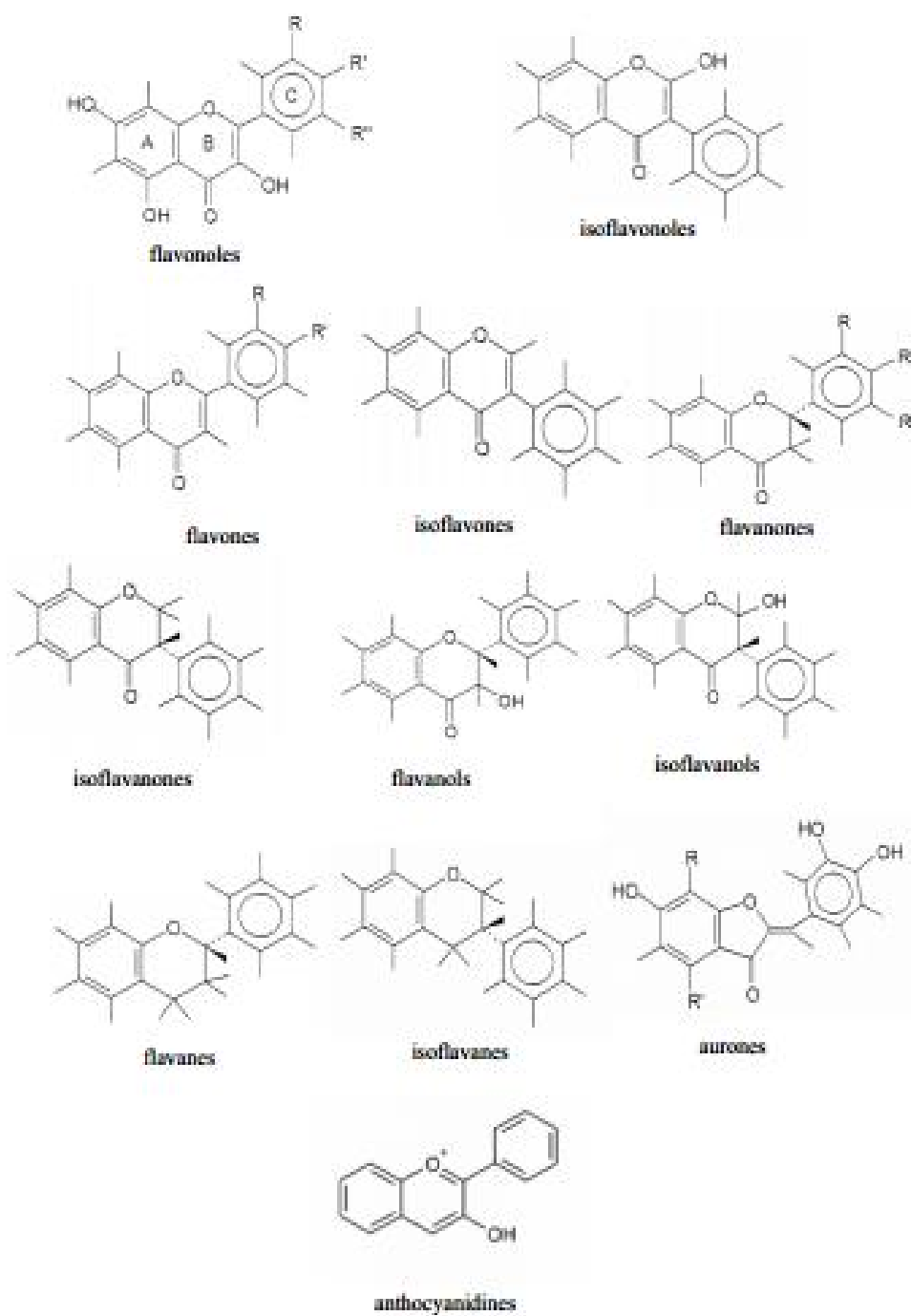


Figure 9: Structures des squelettes de base des flavonoïdes[31]

3.2. Anthocyanosides :

Ce sont des pigments vacuolaires rouges, roses, mauves, pourpres, bleus ou violets de la plupart des fleurs et des fruits . Ils sont caractérisés par l'engagement de l'hydroxyle en position 3 dans une liaison hétérosidique (les anthocyanosides). Leurs génines (les anthocyanidols) sont des dérivés du cation 2-phényl-benzopyrylium plus communément appelé cation flavylum. Ces pigments représentent des signaux visuels qui attirent les animaux pollinisateurs (insectes, oiseaux) . [23]

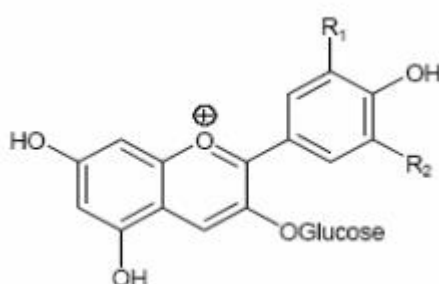


Figure 10: Structure des anthocyanosides

3.3. Tannins :

Cette classe désigne le nom général descriptif du groupe des substances phénoliques polymériques, ayant une masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 qui présente, à côté des réactions classiques des phénols, la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines . Les tannins sont caractérisés par un goût astringent et sont trouvés dans toutes les parties de la plante : l'écorce, le bois, les feuilles, les fruits et les racines . [24]

On distingue deux groupes de tannins différents par leur structure et par leur origine biogénétique :

3.3.1. Tannins hydrolysables :

qui sont des oligo ou des polyesters d'un sucre et d'un nombre variable d'acide phénol. Le sucre est très généralement le D-glucose et l'acide phénol est soit l'acide gallique dans le cas des gallotannins soit l'acide ellagique dans le cas des tannins classiquement dénommés ellagitannins [18,26].

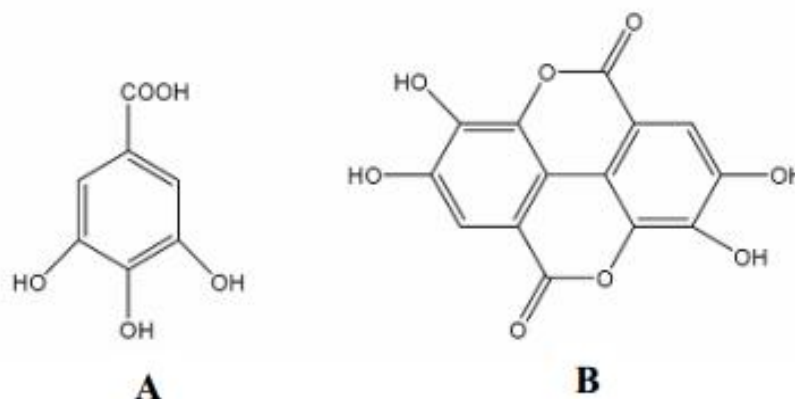


Figure 11: Structure chimique des acides gallique (A) et ellagique (B)

3.3.2. Tannins condensés ou tannins catechiques ou proanthocyanidols: qui se différencie fondamentalement des tannins hydrolysables car ils ne possèdent pas de sucre dans leur molécule et leur structure est voisine de celle des flavonoïdes. Il s'agit de polymères flavaniques constitués d'unités de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone. Les proanthocyanidols ont été isolés ou identifiés dans tous les groupes végétaux, Gymnospermes et Fougères [18].

3.4. Phénols simples et les acides phénoliques :

Le terme d'acide phénol peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. En phytochimie, l'emploi de cette dénomination est réservé aux seuls dérivés des acides benzoïque et cinnamique [18].

3.4.1. Acide phénols dérivés de l'acide benzoïque : les acides phénols en C₆-C₁, dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque, sont très communs, aussi bien sous forme libre que combinés à l'état d'ester ou d'hétéroside. L'acide gallique et son dimère (l'acide hexahydroxydiphénique) sont les éléments constitutifs des tannins hydrolysables. D'autres aldéhydes correspondants à ces acides, comme la vanilline, est très utilisé dans le secteur pharmaceutique [18].

3.4.2. Acide phénols dérivés de l'acide cinnamique : la plupart des acides phénols en C6-C3 (acides o-coumarique, caféique, férulique, sinapique) ont une distribution très large ; les autres (acides o-coumarique, o-férulique) sont peu fréquents [18].

Les acides cinnamique et caféique sont des représentants communs du groupe de dérivés phénylpropaniques qui diffère par son degré d'hydroxylation et de méthylation [26].

3.4.3. Phénols simples : tels que le catéchol, guaiacol, phloroglucinol... sont plutôt rares dans la nature à l'exception de l'hydroquinone qui existe dans plusieurs familles (Ericaceae, Rosaceae...). Les deux phénols hydroxylés, le catéchol avec deux groupes OH et le pyrogallol avec trois, ont été montré pour sa toxicité vis-à-vis des microorganismes [26].

3.5. Coumarines :

Les coumarines qui sont aussi les dérivés de C6-C3, appartiennent au groupe des composés connus par des benzo- α -pyrone et toutes sont substituées en 7 par un hydroxyle. Elles se trouvent dans la nature soit à l'état libre ou bien combiné avec des sucres. Elles sont responsables de l'odeur caractéristique du foin [26].

3.6. Quinones :

Ce sont des composés oxygénés qui correspondent à l'oxydation de dérivés aromatiques avec deux substitutions cétoniques. Elles sont caractérisés par un motif 1,4-dicéto cyclohexa-2,5-diéniq (para-quinones) ou, éventuellement, par un motif 1,2-dicéto cyclohexa-3,5-diéniq (ortho-quinones) . Elles sont ubiquitaire dans la nature, principalement dans le règne végétal et sont fortement réactifs [18,26].

3.7. Stilbène :

Les membres de cette famille possèdent la structure C6-C2-C6 comme les flavonoïdes, ce sont des phytoalexines, composés produits par les plantes en réponse à l'attaque par les microbes pathogènes fongiques, bactériens et viraux. Les sources principales des stilbènes sont les raisins, les vins, le soja et les arachides [27].

3.8. Lignanes :

Ce sont des composés dont la formation implique la condensation d'unités phénylpropaniques (C6-C3). Leur distribution botanique est large, plusieurs centaines de composés ont été isolés dans environ soixante dix familles.

4. Propriétés biologiques des polyphénols :

Les recherches récentes sur les composés phénoliques en générale et les flavonoïdes en particulier sont très poussées en raison de leurs divers propriétés physiologiques comme les activités antiallergique, anti-atherogénique, anti-inflammatoire, hépatoprotective, antimicrobienne, antivirale, antibactérienne, anticarcinogénique, anti-thrombotique, cardioprotective et vasodilatatoire . Ces actions sont attribuées à leur effet antioxydant qui est due à leurs propriétés redox en jouant un rôle important dans la destruction oxydative par la neutralisation des radicaux libres, piégeage de l'oxygène, ou décomposition des peroxydes [27].

Les effets bénéfiques des polyphénols intéressent particulièrement deux domaines : la phytothérapie et l'hygiène alimentaire. D'après les études multiples attestant de l'impact positif de la consommation de polyphénols sur la santé et la prévention des maladies, les industriels commercialisent maintenant des aliments enrichis en polyphénols ou des suppléments alimentaires. De plus, leur activité antioxydante assure une meilleure conservation des denrées alimentaires en empêchant la peroxydation lipidique. Dans l'industrie cosmétique, les composés phénoliques trouvent leur application pratique en luttant contre la production des radicaux libres néfastes dans la santé et la beauté de la peau. En phytothérapie, même si certaines indications sont communes à plusieurs classes (les propriétés vasculoprotectrices, sont par exemple aussi bien attribuées aux flavonoïdes qu'aux anthocyanes, tanins et autres coumarines), chaque classe chimique semble être utilisée pour des bénéfices spécifiques [28].

En ce qui concerne les flavonoïdes, ces composés peuvent empêcher les dommages oxydatifs par différents mécanismes d'actions : soit par capture des radicaux hydroxyles, superoxydes, alkoxydes et peroxydes; soit par chélation des métaux (le fer et le cuivre) qui

sont d'importance majeure dans l'initiation des réactions radicalaires ; soit l'inhibition des enzymes responsables de la génération des radicaux libres. Ils jouent un rôle très important dans le traitement du diabète (inhibant l'aldose réductase), de la goutte (inhibant la xanthine oxydase), des inflammations (inhibant la lipoxigénase, la phospholipase et la cyclooxygénase), des hépatites, des tumeurs, de l'hypertension (quercétine), des thromboses (flavonols), des allergies et des affections bactériennes et viraux (anti-HIV) [24]. Mais, on attribue également aux flavonoïdes des propriétés neurosédatives, antispasmodiques, diurétiques, anti-œstrogènes (isoflavones), contre la sénescence cérébrale et ses conséquences telle l'altération de la mémoire et la confusion. D'autres part, les citroflavonoïdes (flavonoïdes provenant de divers Citrus) et la fragilité capillaire (insuffisance veino-lymphatique, crise hémorroïdaire) [27].

Les anthocyanes sont également utilisés dans les troubles de la fragilité capillaire (vigne rouge, *Vitis vinifera* L.), mais aussi comme diurétiques, voire même antiseptiques urinaires. Leur plus grande spécificité reste cependant leur propriété d'améliorer la vision nocturne en facilitant la régénération du pourpre rétinien (myrtille, *Vaccinium myrtillus* L. ; cassis, *Ribes nigrum* L.) . Présente comme des couleurs brillant dans les fruits et les légumes, les anthocyanidines ont montré leur effet inhibiteur de la croissance des lignées cellulaires humaines . [28]

Les tanins sont considérés comme des anti-nutriments grâce aux divers effets nuisibles à savoir la digestion réduite des aliments, la faible biodisponibilité des micronutriments et les dommages du foie (. Ils sont dotés d'un certain pouvoir astringent, par lequel on explique leurs propriétés vasculoprotectrices, cicatrisantes et anti-diarrhéiques. Les proanthocyanidines dimères de l'aubépine seraient de bons sédatifs cardiaques . Concernant le pouvoir antioxydant des tannins, cette propriété est très remarquable due à leurs noyaux phénols et la présence des groupes di- ou trihydroxyles sur le cycle B et les groupes méta 5, dihydroxyles sur le cycle A. Les tannins catéchiques du thé vert : gallate d'épicatéchine, gallate d'épigallocatechine et l'épicatéchine sont des puissants extracteurs des radicaux libres, ils inhibent les ions Cu^{2+} qui catalysent l'oxydation des lipoprotéines dans les macrophages in vitro [28].

Les coumarines sont utilisées pour leurs propriétés vasculoprotectrices, neurosédatives, diurétiques, stomachiques et carminatives . Ils ont la capacité de capter les radicaux

hydroxyles, superoxydes, et peroxydes. Ils préviennent également la peroxydation des lipides membranaires . [29]

Les acides phénols et ces dérivés sont considérés comme responsables de l'activité cholérétique de l'artichaut et les propriétés antipyrétiques et anti-inflammatoires des dérivés salicylés . Les composés possédant les activités antioxydantes et antiradicalaires sont l'acide caféique, l'acide gallique et l'acide chlorogénique . Pour l'acide caféique, il se montre très efficace contre les virus, bactéries et champignons [20]. Alors, l'acide gallique a pour pouvoir de réduire la viabilité des cellules cancéreuse du poumon chez les souris in vitro et que la combinaison de cet acide avec les médicaments anticancéreux tels la cisplatine peut être un traitement efficace pour ce type de cancer . Il peut aussi prévenir les dommages oxydatifs d'ADN cellulaire à une faible concentration et exerce une forte activité antiproliférative tels que la quercétine sur les cellules humaines cancéreuses du colon et les cellules épithéliales du foie chez les rats normaux . [29]

Certaines quinones, dérivant de l'antraquinone, sont des laxatifs stimulants. Elles sont rencontrées dans la bourdaine (*Rhamnus frangula* L.), les sénés et les aloès . D'autres activités antidépressives (hypericin), anti-protozoaires, antivirales, antibactériennes, fongicides et antiallergiques ont été décrites et plusieurs molécules du groupe ont une toxicité non négligeable . [17,30]

Partie
Partie

Expérimentale
Expérimentale

Matériel
et méthodes

:

1- MATÉRIEL VÉGÉTAL:

La plante utilisée dans ce travail se vend chez les marchands traditionnels tout au long de l'année pour son importance et son usage quotidien dans la médecine locale comme nettoyant buccal.

2- PRÉPARATION DES EXTRAITS:

La décoction convient pour l'extraction de matières végétales dur ou très dur : bois, écorce et racines. Elle consiste à faire bouillir les plantes fraîches ou séchées dans de l'eau pendant 10 à 30 min à 100°C (appelée A) et à 120°C (dans l'autoclave appelée B). On prépare la décoction selon un dosage suivant: 5g de la plante et mis dans 125ml d'eau distillé jusqu'à l'ébullition[32] .

3-SCREENING PHYTOCHIMIQUE:

Le screening phytochimique ne renseigne pas sur la structure d'une molécule bien déterminée. Il met seulement en évidence la présence de telle ou telle famille chimique pouvant contenir des molécules différentes, mais de structures apparentées en générale, en présentant un ou des caractères communs[32].

A/Saponosides:

Leur présence est déterminée quantitativement par le calcul de l'indice de mousse, degré de dilution d'un décocté aqueux donnant une mousse persistante dans des conditions déterminées, deux grammes de matériel végétale sec broyé à tester sont utilisée pour préparer une décoction avec 100 ml d'eau. On porte à ébullition pendant 30 min. après refroidissement et filtration, on réajuste le volume à 100 ml. A partir de cette solution mère[33].

B/Coumarines :**Test de confirmation**

1g de poudre végétal est placé dans un tube, en présence de quelques gouttes d'eau. Les tubes sont recouverts avec du papier imbibé de NaOH dilué et sont portés à l'ébullition. Toute fluorescence jaune témoigne de la présence de coumarines après examen sous UV [33].

C/Tanins

1,5g de matières végétal sec sont placés dans 10 ml de MeOH 80%. Après 15 minutes d'agitation, les extraits sont filtrés et mis dans des tubes, l'ajout de FeCl₃ 1% permet de détecter la présence ou non de tanins. La couleur vire au bleu noir en présence de tanins galliques et au brun verdâtre en présence de tanins catéchétiques [34].

D/Flavonoïdes

Test de Wilstater : HCl concentré en présence de trois ou quatre tournures de magnésium et une petite quantité du produit E1 (solubilisée dans 1ml de MeOH). Le changement de coloration est observé: virage au rouge (flavones), virage au rouge pourpre (flavonols), rouge violacée (flavanones et flavanols) [34].

E/Triterpènes et stéroïdes

Ø **Test de Salkowski :** incliner le tube à 45°, ajouté 1 à 2 ml de H₂SO₄. Le changement de coloration est noté immédiatement. Agiter le mélange légèrement et noter le changement de coloration est noté le changement [].

graduel de coloration : une coloration rouge indique la présence de stéroïdes insaturés.

Ø **Test de Libermann-Burshard:** sont ajoutés à trois gouttes d'anhydride acétique puis agiter légèrement, ajouter une goutte de H₂SO₄ concentré, le changement de coloration est observé pendant une heure: une coloration bleu-vert indique la présence des triterpènes [34].

F/Recherche des anthocyanes

Deux millilitres d'infusion sont ajoutés à 2ml d'acide chlorhydrique 2N. L'apparition d'une coloration rose-rouge qui vire au bleu-violacé par addition d'ammoniac indique la présence d'anthocyanes [34].

G/Recherche de l'amidon

On ajoute quelques gouttes de l'iode (I_2) à la décoction contenue dans un tube à essai et on observe le changement de la couleur vers le bleu, ce que indique la présence d'amidon [34].

H/Recherche des acides organiques

Ø **Etude qualitative:** mettre quelques gouttes du bleu de bromothymol dans un tube à essai contenant la décoction, si la couleur change au jaune canari, l'extrait contient des acides organiques [34].

Ø **Etude quantitative :** on fait un dosage acido-basique classique avec du NaOH (0,1N) [34].

4-ACTIVITE ANTI-BACTERIENNE :

Ce procédé a été réalisé suivant la référence, qui est une standardisation de la technique d'étude des agents antibactériens [35].



Figure 12: Matériel utilisé pour la méthode de la CMI.

1-Détermination de la Concentration Minimal Inhibitrice

Cette technique se pratique soit sur milieu solide ou en milieu liquide, mais la plus économique est celle sur solide, qui permet de tester plusieurs souches bactériennes dans la même boîte (il est possible d'ensemencer une trentaine de souches dans une seule boîte par la méthode de touches) [35].

Elle consiste à réaliser des dilutions fraîchement préparées, et l'incorporer dans le milieu gélosé fondu et refroidi à 45°C, et tester sur ces milieux sur les bactériennes à étudier. Ce test donne un intervalle de la concentration minimal inhibitrice de chaque souche. Cette méthode est utilisée comme un indicateur de l'activité antibactérienne, en plus de la recherche de la valeur réelle lorsque c'est possible [35].

Après la réalisation des différents extraits. Ils sont mis avec le milieu de culture pour le calcul de la CMI :

- Ø Mettre 2 ml de chaque solution dans une boîte pétri en lui rajoutant 18 ml du milieu de culture Muller-Hinton fondu et ramené à 45°C.
- Ø Homogénéiser le mélange par mouvement rotatoire. Laisser prendre la gélose et si c'est possible la faire sécher plus longtemps pour éviter les gouttes d'eau qui se forment.
- Ø Ensemencer les boîtes pétries par l'inoculum, à l'aide d'une anse en platine ou pipette pasteur par stries. Les boîtes de pétri sont partagées suivant le nombre de bactéries.
- Ø Ne pas oublier une boîte témoin ensemencée sans aucun extrait.
- Ø Enfin, incuber à 37°C pendant 18 à 24 heures.
- Ø La lecture et l'interprétation des résultats est le calcul de CMI qui est la concentration de l'extrait où il n'y a pas de culture visible (inhibition totale) [35].

2-L'inoculum

- Ø maximum 24 heures), racler à l'aide d'une anse de platine ou d'une pipette pasteur A partir d'une culture pure des bactéries à tester sur milieu d'isolement (ayant au scellé, quelque colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- Ø Décharger l'anse ou la pipette pasteur dans 5 ml l'eau physiologique stérile, s'il est trop fort.
- Ø L'ensemencement doit se fait en moins de 15 min après la préparation de l'inoculum [35].

5-EVALUATION DE LA PHYTOTOXICITE :

On a étudié la toxicité de la décoction sur d'autres plantes *Cicer sp.* et *Vigna sp.*

D'abord il faut faire pousser les bourgeons dans l'eau ordinaire, et après moins d'une semaine de sa croissance et lorsque les tiges sont bien dressées, on change l'eau utilisé par l'extrait de plante. Puis il faut suivre l'évolution de la plantule pendant au moins une semaine. [36]



Figure13 :photo après 5 jours de croissance da *Cicer sp*



Figure 14: photo après 5 jours de croissance de Vigna sp

Résultats
et discussion

1-SCREENING PHYTOCHIMIQUE:

Le screening phytochimique ne renseigne pas sur la structure d'une molécule bien déterminée. Il met seulement en évidence la présence de telle ou telle famille chimique pouvant contenir des molécules différentes, mais de structures apparentées en générale, en présentant un ou des caractères communs.

a- Saponosides

- Matériels utilisés:
Tube à essai
- Principe :

Leur présence est déterminée par la présence ou non de mousse persistante.

Après refroidissement des extraits on prend une quantité et on le verse dans un tube qui est agité vigoureusement pendant 30 secondes on laisse le contenu au repos 15min, on tenant compte le tube témoin "agitation de l'eau"

- Observation:
Présence de la mousse environ 1.5cm pour les deux extraits A et B, l'indice de mousse de l'extrait A est 167, l'extrait B 200



Figure 15; le test des saponosides

b- Coumarines

- Matériels utilisés
Tube à essai
Papier filtre
Lampe UV
- Principe:

On imbibait le papier filtre par une solution de NaOH, puis on ajoutait quelques gouttes de l'extrait puis on l'examine sous lampe UV

- Observation :

Aucune fluorescence jaune sur le papier filtre pour les deux extraits.

c- Tanins

- Matériels utilisés :
Tube à essai
- Principe:

Quantité de FeCl_3 (2 gouttes) est ajoutée à la tube qui contient 2ml de l'extrait dilué

- Observation:

Une couleur brun verdâtre

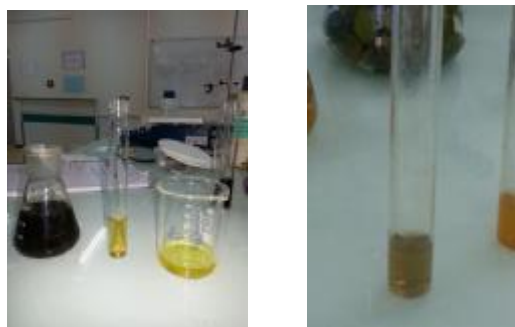


Figure 16: le test des tanins

d- Flavonoïdes

- Matériels utilisés :
Tube à essai
- Principe:

Quelques gouttes d'HCl concentré en présence de trois ou quatre tournures de magnésium

- Observation:
Aucun changement de couleur pour les deux extraits.

e- Triterpènes

- Matériels utilisés
Tube à essai
- Principe:

Trois gouttes d'anhydride acétique puis agite légèrement ajouter une goutte de H₂SO₄

- Observation :

Aucun changement des extraits A et B.

f- Stéroïdes

- **Matériels utilisés :**
Tube à essai
- Principe:

On ajoute à la tube qui contient l'extrait diluée 1 à 2ml de H₂SO₄

- Observation:

Aucun changement de couleur pour les deux extraits.

g- Amidon

- **Matériels utilisés :**

Tube à essai

- Principe:

Quelques gouttes de l'iode sont ajoutées à la décoction contenue dans le tube

Extrait A:

- Observation:

Changement de la couleur au verre bleu



Figure 17: le test de l'amidon

Extrait B:

- Observation :

Aucun changement de couleur.

h- Anthocyanes

- Matériels utilisés :

Tube à essai

On ajoute 2ml d'acide d'HCl à l'extrait puis une base NaOH

Extrait A:

- Observation :

La couleur change au bleu.



Figure 18: le test d'anthocyanes

Extrait B:

- Observation :

Aucun changement.

i-Acides Organiques

- Matériels utilisés :

Tube à essai

- Principe

Mettre 2ml de BBt (bleu de bromothymol) dans un tube contenant 2ml de l'extrait dilué.

- Observation:

La couleur change au jaune pour les deux extraits

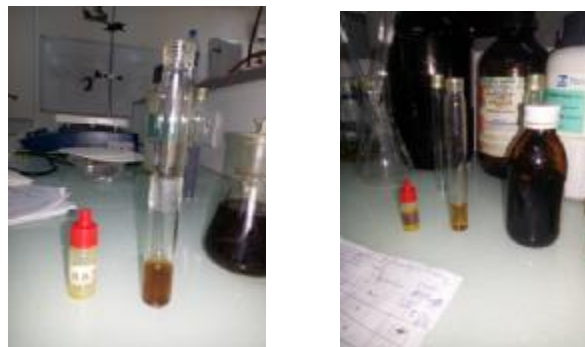


Figure 19: le test de l'acide organique

Les tests qualitatifs phytochimiques effectués sur des extraits aqueux de la plante "*Juglans regia*", ont permis de détecter l'existence d'une variété de métabolites secondaires (Tableaux 4 et 5).

Tableau 4: les métabolites secondaires dans l'extrait A

Saponines	++
Acides organiques	+
Amidon	-
Anthocyanes	-
Commarines	-
Flavonoïdes	-
Tannins	++
Triterpènes	-
Stéroïdes	-

(+):présence ; (++):abondance ; (-) absence

Tableau 5: les métabolites secondaires dans l'extrait B

Saponines	++
Acides organiques	+
Amidon	-
Anthocyanes	-
Commarines	-
Flavonoïdes	-
Tannins	++
Triterpènes	-
Stéroïdes	-

(+):présence ; (++):abondance ; (-) absence

2-L'EVALUATION DE LA PHYTOTOXICITE:

Le suivi de la toxicité de l'extrait des plantes pendant deux semaines montre que cet extrait n'est pas toxique pour la plantule, car elle est restée dans son état normal pendant une durée de deux semaines. Ce qui peut être expliqué par le fait du dosage faible des plantes utilisées, ou bien l'extrait est sélectif pour une plante et pas une autre.

Cet extrait ne peut être utilisé comme herbicide en agronomie sauf après des tests



Figure 20: photo après 2 semaines de début de l'expérience

3-L'ACTIVITE ANTI-BACTERIENNE

Les tests de l'activité antibactérienne ont été faits sur sept souches bactériennes. Les tests ont été répétés trois fois (Tableaux 6 et 7).

Tableau 6: résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait A

	Témoin	J1 (4mg/ml)	J2 (2mg/ml)	J3 (1mg/ml)
<i>Staphylococcus epidermidis1</i>	+	-	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis2</i>	+	-	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis3</i>	+	-	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis4</i>	+	-	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis5</i>	+	-	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis6</i>	+	-	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis7</i>	+	-	-	-

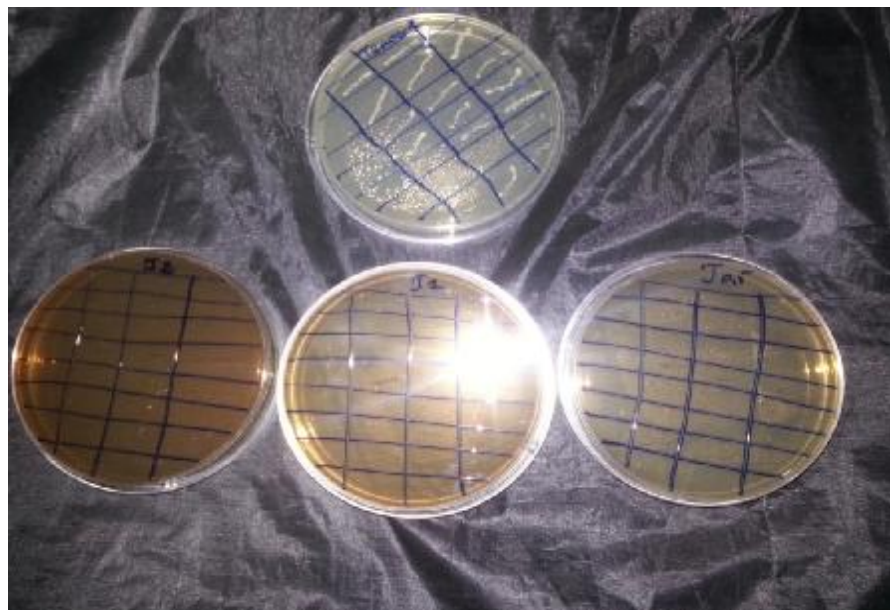


Figure 21 : test de l'activité antibactérienne de l'extrait A

L'activité antibactérienne de l'extrait A s'est avérée puissante sur toutes les souches testées, puisque les boîtes sont vides et aucune croissance bactérienne apparente. Et la concentration minimale inhibitrice (CMI) est inférieure à 1mg/ml.

Tableau 7: résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait B

	Témoin	JS1 (4mg/ml)	JS2 (2mg/ml)	JS3 (1mg/ml)
<i>Staphylococcus epidermidis</i> 1	+	±	±	±
<i>Staphylococcus epidermidis</i> 2	+	-	-	±
<i>Staphylococcus epidermidis</i> 3	+	-	-	±
<i>Staphylococcus epidermidis</i> 4	+	-	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i> 5	+	-	-	±
<i>Staphylococcus epidermidis</i> 6	+	-	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i> 7	+	-	-	-

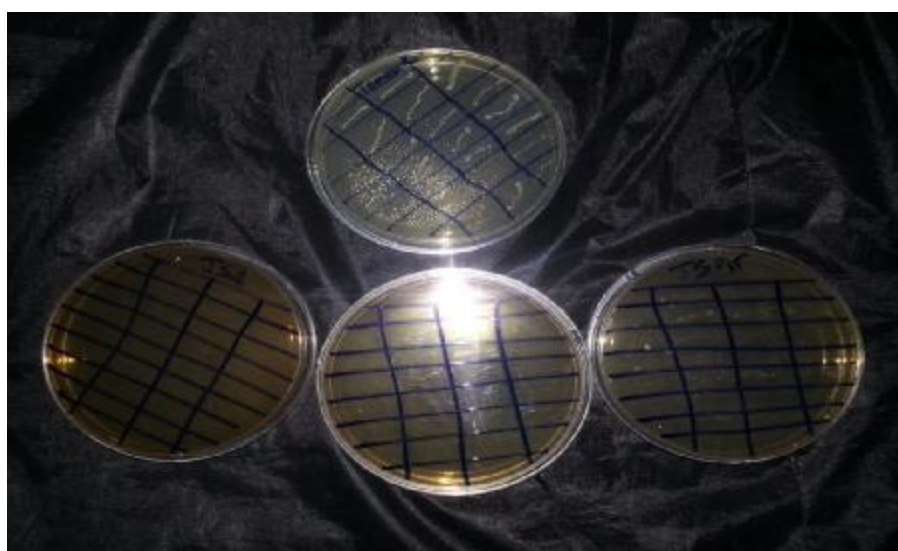
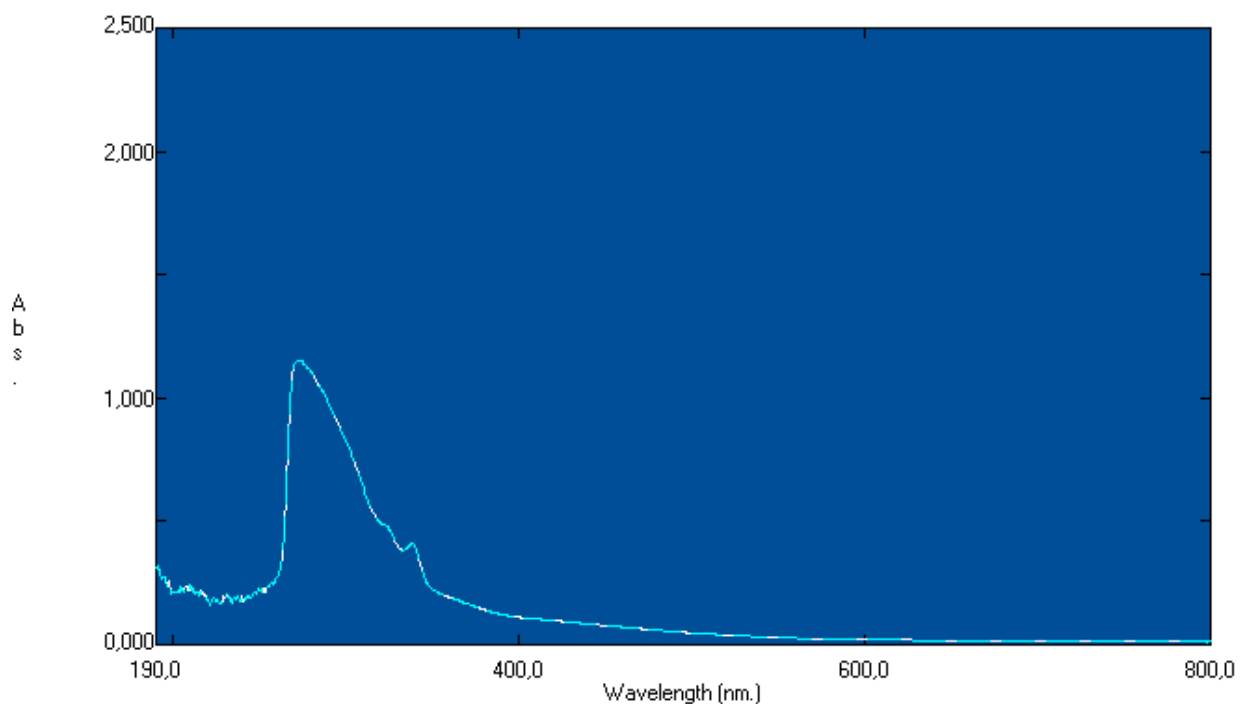


Figure 22: test de l'activité antibactérienne de l'extrait B

L'activité antibactérienne de cet extrait B est plus faible que celle de l'extrait A du fait qu'il y a croissance bactérienne à 1mg/ml pour certaines souches, la CMI pour les souches N° 4, 6 et 7 est inférieur à 1mg/ml. Alors que la CMI pour les souches N° 2, 3 et 5 est de l'ordre de 2mg/ml. La souche N° 1 est résistante car il y a croissance bactérienne avec toutes les dilutions et la CMI est supérieur à 4mg/ml.

Spectre de l'extrait A:



La figure 23: représente après balayage le spectre d'absorption sous UV, la longueur d'onde maximale 272.8 nm avec une absorbance 1.1543 , ces valeurs prouvent que l'extrait possède des molécules polyphénoliques qui absorbent dans cet intervalle.

Conclusion

Conclusion

L'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale; une telle thérapie prévient l'apparition des effets secondaires observées lors de l'utilisation des médicaments de synthèse chimique.

L'étude de screening phytochimie, la phytotoxicité et l'activité antibactérienne de les extraits (à 100C° :l'extrait "A", 120C° : l'extrait "B") du *Juglans regia* a permis d'obtenir des résultats intéressants.

L'étude de screening phytochimique des décoctions du *Juglans* on montré une similitude de composition entre les deux extrait "A et B" est sans aucun différences . la présence de ces métabolites : saponines, acide organique et tannins dans les deux extraits et l'absence des autres métabolites.

Alors que l'activité antibactérienne nous a permis de différencier entre les deux extraits par la puissance de l'extrait A contrairement à l'extrait B qui est moins puissant. Même que nous avons trouvé aucun effet toxique de l'extrait A sur un autre plante .

Ces résultats sont encourageant mais nécessitent des études supplémentaires pour connaître la composition exacte en utilisant des méthodes plus performantes comme l' HPLC et le GC-MS . une étude supplémentaire de la phytotoxicité est importante pour voir l'effet de ces extraits sur d'autres plantes.

Les Références:

- [1] Schiller C. et Schiller D ;1994 ; 500 formulas aromatherapy (mixing essential oils for every use) ; ed : *sterling publishing* ; P:11-22
- [2] Iserin P. et al ; 2001 ; encyclopédie des plantes médicinales ; ed 2: *larousse* ; P : 1-14
- [3] Teixeira Da Silva J-A ; 2004 ; mining the essential oils of the anthemideae ; *african journal of biotechnology* ; 3(12), 706-720
- [4] Farombi E-O ;2003 ; african indigenous plants with chemotherapeutic potentials and biotechnological approach to the production of bioactive prphylactic agents ; *african journal of biotechnology*;2(12),662-671.
- [5] Hongjin Du . et al ; 2014 ; secondary metabolites from pericarp of *Juglans regia*; *boichimical systematics and ecology* ; 54(2014) 88-91
- [6] José Alberto Pereira . et al ; 2007 ; walunt (*Juglans regia .L*) leaves : phenolic compounds, antibacterial activity and antioxidant potential of different cultivars ; *food and chimecal toxicology* ; 45(2007), 2287-2295
- [7] Tajamul Islam Sahah .et al ; *Juglans regia* Linn :A phytopharmacological review ; *world journal of pharmaceutical sciences* ; 2321-3086.
- [8] Rahul R .et al ;2011 ;antimicrobial activity of differnt extrats of *Juglans regia* L. against oral microflora ; *international journal of pharmacy and pharmaceutical scinces* ; 3(2),0975-1491
- [9] Sylvie Sabatler . et al ; 1998 ; modalités d'allaongement et morphologie des pousses annuelles chez la noyer commun *Juglans regia* L.; *Canadian Journal of Botany* ; 76(1998),1253-1264
- [10] Nael Abu Taha .et al ;2011 ; utility and importance of walnut , *Juglans regia* linn: a review; *African Journal of Microboilogy Research* ; 5(32),5796-5805

- [11] Diaina O. et al ; 2007 ; phenolics from walnut (*Juglans regia L.*) kernels : antioxidant activity and interactions with proteins ; *Food Chemistry* ; 107(2008),607-612
- [12] Ram S Verma .et al ; 2013 ; Phytochemical analysis of the leaf volatileoil of walnut tree (*Juglans regia L.*) from western Himalaya ; *Industrial Corps and Products* ; 42(2013),195-201
- [13] André Santos; 2013; Leaves and decoction of *Juglans regia L.*: Different performances regarding bioactive compounds and in vitro antioxidant and antitumor effects; *Industrial Crops and Products*; 51 (2013) 430–436.
- [14] Huardu Plessis Files; 1847; traité de la culture du Noyer dans les départements du centre; d'argenton cultivateur p(15-17)
- [15] Sasha W. Eisenman, David E.Zaurov, Lena Struwe; 2013; Medicinal plants of central Asia: Uzbekistan and Kyrgyzstan; Springer; USA.
- [16] Fritz Hans Schweingruber, Annett Borner Ernst, Detlef Schulze; 2011; Atlas of stem Anatomy in herbs, shrubs and trees ; Springer ; USA
- [17] Harbone J-B; 1993; Introduction to ecological biochemistry; 4ed ; Academic press ; london
- [18] Bruneton J; 1993; Pharmacognosie : phytochimie , plantes médicinales; 2eme edd; lavoisier techniques et documentation; Paris
- [19] Middleton E. et al; 2000; The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implication for inflammation, heart disease and cancer; *Pharmacol Review*; 52.673-839
- [20] Loche J; 1966; Contribution à l'étude des polyphénols de la plante de tabac (Seita, ed). Annde la direction des études et de l'équipement; France; 3 : 15.
- [21] Yao L H.et al; 2004; Flavonoids in Food and their health benefits. Plant; *Plant Foods for Human Nutrition*; 59 :113-122.
- [22] Havsteen B H. ; 2002; The biochemistry and medical significance of the flavonoids; *Pharmacology & Therapeutics*; 96: 67– 202

- [23] Bahorun T; 1997; Substances naturelles actives : La flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle; *Food and Agricultural Research Council, Réduit, Mauritius* ; 83-94.
- [24] Scalbert A; 1991; Antimicrobial properties of tannins; *Phytochemistry*; 30: 3875-3883.
- [25] Cowan M M; 1999; Plant Products as Antimicrobial Agents; *Clinical Microbiological Reviews*; 12 (4), 564- 582.
- [26] Crozier A. et al; 2006; Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet; Edt Blackwell Publishing Ltd.
- [27] Middleton E ; 2000; The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, *Heart Disease and Cancer*; *Pharmacol Rev*, 52: 673-839
- [28] Havsteen B H; 2002; The biochemistry and medical significance of the flavonoids; *Pharmacology & Therapeutics*; 96: 67– 202
- [29] Hennebelle T. et al ; 2007; Phenolic compounds and diterpenoids from *Marrubium peregrinum*. *Biochemical Systematics and Ecological*; 35: 624-626.
- [30] Anderson C M. et al ; 1996; Advances in development of pharmaceutical antioxidants. *Advances in Drug Research* ; 28 : 65-180
- [31] Benhammou N. ; 2012; Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-ouest Algérien; Thèse de doctorat e Biologie; Université de Tlemcen
- [32] Benzeggouta N. ; 2014;; Evaluation des effets biologiques des extraits aqueux de plantes médicinales seules et combinées ; Thèse de Doctorat en Science; Université de Constantine
- [33] Siddique A, Sayed M, Mizanur R , Amazadhossain M , Abd rachid M ; 2014; Phytochemical screening and comparative antimicrobial potential of different extracts of *Stevia rebaudians* Bertoni; *Journal of Tropical Disease* ; 4:275-280
- [34] Senhaji O, Faid M, Ellyachioui M; 2005; Etude de l'activité antifongique de divers extrait de cannelle; *Journal de Micrologie Médicale*; 15:220-229

[35] Rahal K. et al ; 2003; Standardisation de l' antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS ; 3eme édition

[36] Yakhlef G.; 2010; Etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de *Thymus vulgaris L.* et *Laurus nobilis L.*; thèse de magister en Biochimie Appliquée; Universiré de Batna.

[37] Chadda D; 2008; influence de matière organique du noyer (*Juglans regia*) sur le comportement de jeunes plants de pommier (*Malus domestica Borkh*) dans la région de R'haouat; thèse de magister en sciences agronomiques; Universiré de Batna.

Résumé

Les extraits aqueux (décoction) du *Juglans regia* à deux différentes températures 100°C et 120°C ont été soumis à une analyse phytochimique qui a montré une similitude de composition entre les deux extraits, L'évaluation de la phytotoxicité a montré aucun effet toxique de ces extraits, l'effet antibactérien de deux extraits était très intéressant mais celui préparé à 100°C est plus puissant, mais nécessite une étude plus poussée.

Mots clé: *Juglans regia*, décoction, screening phytochimique, effet phytotoxique, effet antibactérien.

Dəzgi

تم اخضاع المستخلصات المائية (المغلى) للجوز الشائع في درجتى حرارة مختلفتين (100م- 120م) للتحليل الكيمياءى النباتى و قد اظهر هذا التحليل وجود نفس المكونات فى كلا المستخلصين. كما انه لا يوجد لها اى تأثير سمي على نباتات اخرى. و للمستخلصين نشاط مهم مضاد للبكتيريا بالنسبة للمستخلص المحضر بدرجة حرارة 100م هو اكثر فاعلية مما يتطلب دراسة بشكل معمق.

الجوز الشائع, المغلى, التحليل الكيمياءى النباتى, التأثير السمي النباتى, النشاط المضاد للبكتيريا .