

N° d'Ordre :

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

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



UNIVERSITÉ DJILLALI LIABES DE SIDI BEL ABBES

FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE

Mémoire

De fin d'études pour l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la nature et de la vie (S.N.V.)

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Intitulé du thème :

Effet antimicrobien des extraits de *Retama dasycarpa* et *Thymelaea hirsuta* récoltées de la région de Djelfa

Présenté par : **Mme** Belgacem Hanane

Mémoire soutenu devant l'honorable jury composé de :

Président de jury : **Mr** Marroki Ahmed (M.C.A/UDL/SBA)

Examinatrice : **Mme** Zahzah Meriem Rabea (M.C.B/UDL/SBA)

Promoteur : **Mme** Bousmaha-Marroki Leila (M.C.A/UDL/SBA)

Année universitaire 2019 - 2020

Session : « Septembre »





Dédicace

Je dédie ce modeste travail à:

☆ - *La lumière de mes jours, la source de mes efforts, ma vie et mon bonheur que dieu le garde dans son vaste paradis.*

Mon père

☆ - *La femme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et la source de joie et de bonheur, la flamme de mon cœur, celle qui s'est toujours sacrifiée pour me voir réussir, que dieu la garde pour moi.*

Ma mère

☆ - *Le personne qui a toujours été présent à mes côtés, et qui n'a jamais cessé de m'encourager, de me soutenir pour mener à terme le présent projet de recherche.*

Mon marié

☆ - *personnes qui m'ont énormément aidée et Pour leur soutien morale et leurs sacrifices le long de ma formation.*

Mes très chères sœurs et mes frères

Belgacem Hanane





Remerciements

Avant de présenter ce travail, nous tenons à remercier Dieu le tout puissant dont nous avons ressenti sa présence tout au long de notre travail.

*Je remercie vont au Mme. **Bousmaha Leila**, maître de conférences à l'université Djillali liabes pour le sujet qui m'apporte beaucoup de chose à mes études, pour l'encadrement permanent, et pour ses précieux conseils.*

J'adresse mes sincères remerciements à Mr Marrouki Ahmed, maître de conférences à l'université Djillali liabes d'avoir accepté de présider le jury.

Je tiens également mes vifs remerciements à Mme Zahzah Meriem Rabea, maître de conférences à l'université Djillali liabes pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant d'examiner ce mémoire.

*Mes plus chaleureux remerciements vont également à Mr **Derdour maamar** docteur en chimie à l'université de Djelfa pour son aide et encouragement permanent et l'intérêt accordé à ce travail.*

Ainsi que Tous les enseignants de Département de biologie.



الملخص.

تكون هذا العمل من توصيف المستخلص المائي للنباتات النباتية *Thymelaea hirsuta* و *Retama dasycarpa* العفوية في الجلفة. يتم حصاد المادة النباتية وتجفيفها وطحنها إلى مسحوق لزيادة محصول المستقلبات الثانوية. ينتج المستخلص المائي عن نتيجة *Thymelaea hirsuta* و *Retama dasycarpa* 0.93% و 1.74% على التوالي ، مما يشير إلى أن *Thymelaea hirsuta* أكثر ربحية من *Retama dasycarpa* . فحص كيميائي نباتي أظهر وجود مركبات الفلافونويد والعفص والصابونين. يحتوي *Retama dasycarpa* أيضاً على مستوى منخفض من الكومارين بينما تم إثبات خلو *Thymelaea hirsuta* من هذه المجموعة من المركبات. تم النظر في تقييم التأثير المضاد للميكروبات للمستخلصات المأخوذة من *Thymelaea* و *Retama dasycarpa* في هذه الدراسة. كانت الكائنات الحية الدقيقة المستهدفة هي *Pseudomonas aeruginosa* و *Staphylococcus aureus* ، وهما نوعان من البكتيريا الممرضة الانتهازية. لم يتم تنفيذ هذا الجزء بسبب الأزمة الصحية المرتبطة بوباء كوفيد 19.

الكلمات المفتاحية: المستخلصات النباتية، الفحص الكيميائي النباتي، *Thymelaea*، *Retama dasycarpa*، *hirsuta*، قوة مضادات الميكروبات، *Pseudomonas aeruginosa*، *Staphylococcus aureus*.

Résumé

Ce travail consiste à caractériser l'extrait végétal aqueux de *Retama dasycarpa*, et *Thymelaea hirsuta* plantes spontanées de Djelfa. Le matériel végétale est récolté séché et broyé en poudre afin d'augmenter le rendement en métabolites secondaires. Les résultats de rendement d'extrait aqueux de *Retama dasycarpa*, et *Thymelaea hirsuta* sont de l'ordre 0,93% et 1,74% respectivement, ce qui indique que la *Thymelaea hirsuta* est plus rentable que *Retama dasycarpa*. Le screening phytochimique qui a révélé la présence des flavonoïdes, des tanins, et des saponines. *Retama dasycarpa* renferme également un faible taux de coumarine tandis que *Thymelaea hirsuta* s'est révélée exempte de cette famille de composés.

L'évaluation de l'effet antimicrobien des extraits obtenues à partir de *Retama dasycarpa*, et *Thymelaea hirsuta* été envisagé dans cette étude. Les microorganismes ciblés étaient *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*, deux espèces bactériennes pathogènes opportunistes. Cette partie n'a pas été réalisée par le fait de la crise sanitaire liée à la pandémie du Covid 19.

Mots clés : Extraits végétaux, screening phytochimique, *Retama dasycarpa*, *Thymelaea hirsuta*, pouvoir antimicrobien, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*.

Abstract

This work consists in characterizing the aqueous plant extract of *Retama dasycarpa*, and *Thymelaea hirsuta* spontaneous plants of Djelfa. The plant material is harvested, dried and ground into a powder to increase the yield of secondary metabolites. The aqueous extract yield results of *Retama dasycarpa*, and *Thymelaea hirsuta* are in the order of 0.93% and 1.74% respectively, indicating that *Thymelaea hirsuta* is more profitable than *Retama dasycarpa*. Phytochemical screening which revealed the presence of flavonoids, tannins, and saponins. *Retama dasycarpa* also contains a low level of coumarin while *Thymelaea hirsuta* has been shown to be free from this family of compounds.

The evaluation of the antimicrobial effect of extracts obtained from *Retama dasycarpa*, and *Thymelaea hirsuta* was considered in this study. The target microorganisms were *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*, two opportunistic pathogenic bacterial species. This part was not carried out due to the health crisis linked to the Covid 19 pandemic.

Keywords: Plant extracts, phytochemical screening, *Retama dasycarpa*, *Thymelaea hirsuta*, antimicrobial power, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*.

Sommaire

Dédicace et remerciement

Résumé

Liste des abréviations

Liste des Figures

Liste des tableaux

Liste des photos

Liste des schémas

Introduction.....01

Chapitre I : Les agents antimicrobiens

I-1- Définition.....04

I-2-Les antibiotiques.....04

I-3-Les sulfamides.....07

I-4-Les antiseptiques et les désinfectants.....08

I-5-Molécules antimicrobienne d'origine végétale.....09

Chapitre II : Métabolites secondaires

II.1. Généralité.....12

II.2. Classement des métabolites secondaires.....12

II.2. 1. Terpènes.....12

II.2. 1.1. Classification des terpène.....13

II.2. 1.1. Biosynthèse des terpènes.....15

II.2. 2. Flavonoïdes.....16

Chapitre III : Aperçu sur les plantes étudiées : *Retama dasycarpa*, et *Thymelaea hirsuta*

III.1. *Retama dasycarpa*

III.1.1. Historiques	19
III.1.2. Généralité sur le genre <i>Retama</i>	19
III.1.3. Origine et répartition géographique.....	20
III.1.4. Description botanique.....	21
III.1.5. Classification du genre <i>Retama</i>	21
III.1.6. Usage pharmacologique.....	22
III.1.7. Activité antibactérienne de l'extrait de <i>Retama</i>	22
III.1.8. Activité antioxydante	23
III.2. <i>Thymelaea hirsuta</i>	23
III.2.1. Généralité.....	23
III.2.2. Présentation et origine.....	24
III.2.3. Classification et noms de la plante	24
III.2.4. Répartition géographique.....	25
III.2.5. Propriétés et usages thérapeutiques.....	25
III.2.6. Effet antioxydant.....	26
III.2.7. Toxicité.....	26

Chapitre IV : Matériel et Méthodes

IV.1. Présentation de la zone d'étude	28
IV.2. Préparation des extraits végétaux.....	28
IV.2. 1. Matériels végétaux.....	28
IV.2.2. Matériels	29
IV.2.3. Solvants et Réactifs	30
IV.2.3 Préparation de l'extrait aqueux	30
IV.2.2. Rendement	30

IV.3. Criblage phytochimique.....	30
IV.4. Etude de l'activité antimicrobienne des extraits végétaux.....	31
IV.4.1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	32
IV.4.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	32
IV.4.3. Méthode de diffusion des disques en milieu solide.....	33
Chapitre V : Résultats	
V.1. Caractéristique de poudres obtenues.....	35
V.2. Caractérisation des extraits obtenus.....	35
V.3. Rendement de l'extrait aqueux.....	35
V.4. Screening phytochimique.....	35
Conclusion.....	38

Liste des abréviations

ARNm : Acide ribonucléique messenger.

cm : centimètre.

CMI : concentration minimale inhibitrice

DHAP : Phospho-dihydroxy-acétone

DMSO : Diméthyle sulfoxyde

DPPH : 2,2-diphényl-1-pirylylhydrazyl

FeCl₃ : Chlorure de fer

UV-Vis : Ultraviolet-Visible

UV : Ultraviolet

g : gramme

h : heure

ml : millimètre

°C : degré Celsius

Liste des Figures

Figure I.1. Cibles de l'action des antibiotiques	04
Figure I.2. Structure de la pénicilline	05
Figure I.3. Structure de base des quinolones	05
Figure I.4. Structure de tétracycline	05
Figure I.5. Noyau central des aminosides	06
Figure I.6. Structure d'érythromycine.....	06
Figure I.7. Structure de rifamycine.....	06
Figure I.8. Structure de vancomycine ...	07
Figure I.9. Structure de chloramphénicol	07
Figure I.10. Structure de sulfamides	08
Figure I.11. Composés terpéniques oxygénés identifiés dans l'huile essentielle de <i>Thymus ciliatus</i>	11
Figure II.1. Isoprène (2-méthyl-1,3-butadiène)	13
Figure II.1. Mono Terpènes	13
Figure II.2. Sesquiterpènes	14
Figure II.3. diterpènes	14
Figure II.4. sesterpènes.....	14
Figure II.5. triterpènes.....	15
Figure II.6. tétraterpènes	15
Figure II.7. polyterpènes.....	15
Figure II.7. Structures de base des flavonoïdes	17
Figure. III.1. Mécanisme réactionnel intervenant lors de test DPPH· entre l'espèce radicalaire DPPH·et un antioxydant.....	29
Figure IV.1. Présentation de la zone d'étude.....	32
Figure IV.2. Observation microscopique de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	36
Figure IV.3. <i>Staphylococcus aureus</i> en amas.....	37

Liste des Tableaux

Tableau 01 : Nature chimique des antiseptiques et désinfectants usuels.....	09
Tableau 02 : composés phénolique.....	09
Tableau 03 : les alcaloïdes.....	10
Tableau III.1: Les espèces du genre <i>Retama</i>	21
Tableau III.2 : usage pharmacologique du genre <i>Retama</i>	23
Tableau III.3: l'activité antioxydante de l'extrait <i>Retama</i>	24
Tableau V.1: caractéristiques des extrait obtenus (couleur et aspect).....	35
Tableau V.2 : les différents tests de criblage phytochimique.....	35

Liste des photos

Photo III.1: <i>Thymelaea hirsut Endel</i>	25
Photo III.2: <i>Thymelaea hirsut Endel</i>	25
Photo IV.1 : Les plantes étudiées : <i>Retama dasycarpa</i> et <i>Thymelaea hirsuta</i> ...	30
Photo IV.2. Préparation de l'extrait aqueux.....	31

Liste des schémas

Schéma II.1. Biosynthèse des terpènes.....	16
Schéma II.2. Biosynthèse des flavonoïdes.....	18

Introduction

Introduction

La phytothérapie désigne le traitement fondé, la connaissance, et l'utilisation des extraits de plantes et les principes actifs naturels : les composés phénoliques, les alcaloïdes et les huiles essentielles [1].

On utilise soit les plantes telles quelles ou des préparations (formulations) réalisées à partir de la plante entière ou d'une partie d'intérêt (racines, fleurs...) choisies pour leur richesse en métabolites secondaires particuliers.

L'utilisation des plantes, à des fins thérapeutiques, est rapportée dans les littératures antiques arabe, chinoise, égyptienne, hindou, grecque, romaine [2]. En Afrique, le pouvoir thérapeutique des plantes était connu par nos ancêtres et nos parents de façon empirique [3]. Ainsi on ignorait tout de la composition chimique des médicaments utilisés tous les jours par de nombreuses populations, pour les soins de santé. Ensuite, l'homme exploite les propriétés de ces métabolites à son profit dans différents domaines (médecine, pharmacologie, agroalimentaire, etc....).

Nombreuses recherches ont montré les propriétés biologiques diverses de ces composés particulièrement des composés phénoliques et des huiles essentielles, qui ont une activité anti fongique, et anti bactérienne vis-à-vis de certaines bactéries résistantes aux antibiotiques [4, 5].

En outre, les espèces végétales et les savoirs traditionnels (savoirs traditionnels) sont importants pour le commerce de la phytothérapie et l'industrie pharmaceutique, les plantes fournissant les matières premières, et les savoirs traditionnels les informations préalables [6].

La diversité du climat et du sol en Algérie rend ses plantes riches en métabolites, notamment les composés phénoliques, les huiles essentielles et autres. Pour cette raison nous nous sommes intéressés à caractériser les espèces végétale *Retama dasycarpa* et *Thymelaea hirsuta*, poussant à l'état spontané dans la région de Djelfa.

Ce manuscrit est subdivisé en deux grandes parties. Une partie théorique qui est consacrée à une synthèse bibliographique mettant l'accent sur trois chapitres, le premier

chapitre détaille les agents antimicrobiens classiques, le deuxième chapitre donne des notions théoriques sur les métabolites secondaires, et le troisième chapitre rassemble des données bibliographiques sur les plantes étudiées, soit *Retama dasycarpa*, et *Thymelaea hirsuta*. La partie pratique englobe trois aspects : le premier est une étude phytochimique des extraits de *Retama dasycarpa*, et *Thymelaea hirsuta* récoltées dans la région de Djelfa. Le second aspect est consacré à l'étude des effets antimicrobiens des extraits obtenus à partir de ces deux plantes contre *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*. Cette partie pratique a été interrompue par le fait de la crise sanitaire liée à la pandémie du Covid19. Le troisième aspect est de présenter les résultats obtenus.

Nous terminerons ce travail par une conclusion.

PREMIERE PARTIE

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Agents Antimicrobiens

I-1- Définition

Les termes « antimicrobiens » ou « agents antimicrobiens » font simplement référence à tous les types de médicaments naturels et/ou synthétiques susceptibles de diminuer la multiplication de microorganismes ou de les détruire sans endommager les tissus de l'organisme [7]. Les agents antimicrobiens sont nombreux et variés, parmi eux, on retrouve notamment les agents physiques comme : la température, les radiations, la filtration et la centrifugation, et aussi les agents chimiques comme : les antiseptiques et désinfectants, les sulfamides, et les antibiotiques.

I-2-Les antibiotiques

Un antibiotique terme issu du Grec (*anti* : contre, et *bios* : la vie). Sont des substances naturelles ou synthétiques qui détruisent ou bloquent la croissance des bactéries. Il existe plus de 10 000 molécules antibiotiques connues, la plupart d'entre elles sont des produits naturels, synthétisés par des procaryotes, des champignons, des végétaux supérieurs, des animaux ou des lichens [8].

Les principales structures bactériennes peuvent être le site d'action d'un ou de plusieurs antibiotiques de la même famille (Figure I.1) :

- La synthèse de la paroi bactérienne.
- Les fonctions de la membrane cytoplasmique.
- La synthèse protéique.
- La synthèse des acides nucléiques et le transfert de l'information génétique du chromosome vers les ribosomes (ARNm) [9].

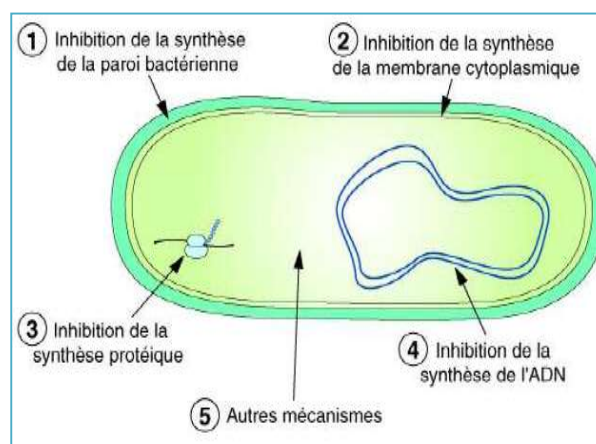


Fig. I.1. Cibles de l'action des antibiotiques [9]

a) **Les *beta*-lactamines** : Ces produits sont constitués de Pénicillines qui sont différents l'une de l'autre de diverses manières et de Céphalosporines qui sont des antibiotiques proches des pénicillines [10]. La structure du noyau bêta lactame est donnée dans la figure I.2.

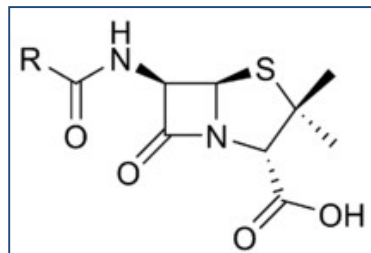


Fig. I.2. Structure de la pénicilline [10]

b) **Les Quinolones** : Les quinolones (Figure I.3) comprennent un grand nombre de molécules de bonne efficacité : acide nalidixique, acide oxolinique, acide pipémidique, piromidique et fluméquine. Elles sont très efficaces contre les bactéries entériques comme *E. coli* et *Klebsiella pneumoniae* et contre *Haemophilus*, *Neisseria*, *Pseudomonas aeruginosa* et d'autres bactéries pathogènes Gram négatives [11].

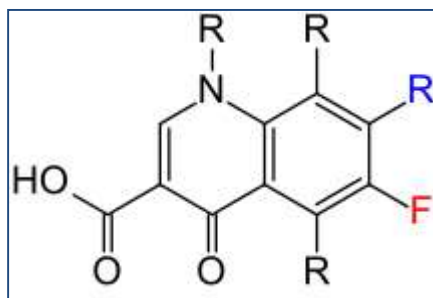


Fig. I.3. Structure de base des quinolones [11]

c) **Les Tétracyclines** : Les tétracyclines (Figure I.4) sont des antibiotiques à large spectre, actives sur différents germes notamment les chlamydies et les mycoplasmes, des bactéries particulières qui ne se multiplient qu'à l'intérieur des cellules [12].

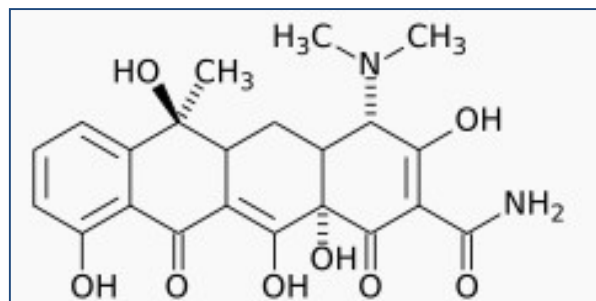


Fig. I.4. Structure de tétracycline [12]

g) La Vancomycine et la Teichoplanine : La vancomycine (Figure I.8) est un glycopeptide produit par *Streptomyces orientalis*. C'est un antibiotique bactéricide pour *Staphylococcus* et quelques membres des genres *Clostridium*, *Bacillus*, *Streptococcus* et *Enterococcus* [16]

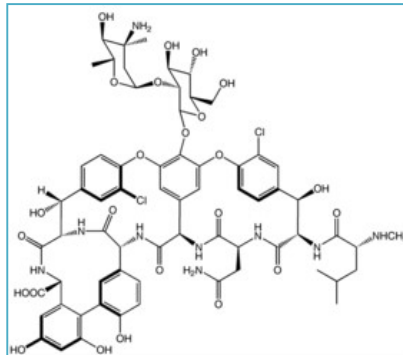


Fig. I.8. Structure de vancomycine [16]

h) Le Chloramphénicol : Le chloramphénicol a été initialement produit à partir de cultures de *Streptomyces venezuelae*, il est maintenant obtenu par synthèse chimique. Cet antibiotique a un large spectre mais malheureusement, il est assez toxique [17].

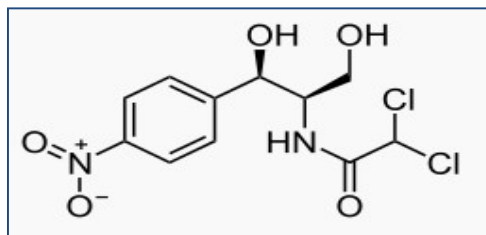


Fig. I.9. Structure de chloramphénicol [17].

I-3-Les sulfamides

Les sulfamides (Figure I.10) sont les premiers agents antimicrobiens de synthèse à avoir été découverts en 1935. La structure moléculaire de ces antimicrobiens est identique à celle de l'acide *para*-amino benzoïque (PABA). Ils sont utilisés dans le traitement de diverses infections bactériennes, ils diffèrent quant à leur activité, leur degré d'absorption, leur métabolisme et leur excrétion, ainsi que dans leurs manifestations toxiques [18]

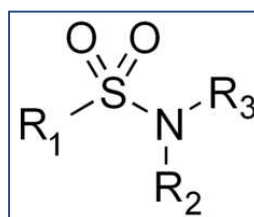


Fig. I.10. Structure de sulfamides [18]

I-4-Les antiseptiques et les désinfectants

Les antiseptiques et les désinfectants sont des produits chimiques antimicrobiens capables de tuer les micro-organismes (bactéries, champignons, protozoaires ou virus) ou d'inhiber leur croissance. Leur utilisation permet de réduire le nombre de micro-organismes indésirables à un niveau tel que le risque de transmission d'une infection puisse être éliminé. Ils sont utilisés sur les tissus vivants (peau saine, muqueuses et plaies). Les désinfectants sont utilisés sur les matières inertes (sol, surface de travail, mobilier, instruments et matériel médical, eau...) [19]. Nous rapportons dans le tableau 1 la nature chimique des antiseptiques et désinfectants usuels.

Tableau 01 : Nature chimique des antiseptiques et désinfectants usuels [20]

Nom MD= marque déposée	Formule chimique	Utilisation comme antiseptique (A) désinfectant (D)
Alcools		
éthanol		A - D
Alcool isopropylique		A - D
Aldéhydes		
Glutaraldéhyde		D
Amines		
Alkylamine		D
Ammoniums quaternaires		
Cétrimide		A
Chlorure de benzalkonium		A - D
Chlorure de didécyl diméthylammonium		D
Biguanides		
Chlorhexidine		A
Oxydants		
Acide peracétique		D
Eau oxygénée contenant du peroxyde d'hydrogène		A - D
Halogénés (chlorés) Eau de Javel contenant des ions hypochlorite	ClO^{\ominus}	D
Liquueur de Dakin ^{MD} contenant des ions hypochlorite et du permanganate de potassium	ClO^{\ominus} ion hypochlorite	A
Halogénés (iodés) Alcool iodé contenant du diiode	I_2	A
Bétadine ^{MD} : complexe composé d'iode et de polyvinylpyrrolidone (polyvidone ou povidone iodée)		A
Ozone ou trioxygène	O_3	D
Permanganate de potassium	KMnO_4	A - D
Composés phénoliques		
Crésol ou méthylphénol mélange des trois isomères ortho, méta et para du méthylphénol		D
Eugénol ou 2-méthoxy-4-(prop-2-ényl)phénol ou 4-allyl-2-méthoxyphénol		A

I-5-Molécules antimicrobienne d'origine végétale

Les propriétés antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis l'antiquité. Des études récentes ont montré que les huiles essentielles et leurs constituants présentent un potentiel important en tant qu'agents antimicrobiens et dans plusieurs domaines industriels et médicaux [21].

Les principaux groupes de métabolites secondaires rencontrés dans les plantes et qui possèdent généralement une activité antimicrobienne sont : les composés phénoliques, les alcaloïdes, et les terpénoïdes [22]. Les tableaux 2 et 3, ainsi que la figure I.2 donnent certaines structures de composés à activité antimicrobienne.

Tableau 02 : composés phénoliques [23]


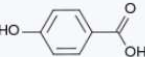
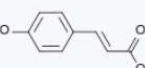
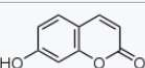

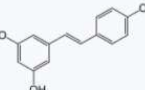
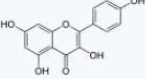
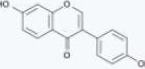
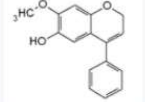
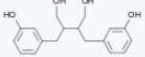

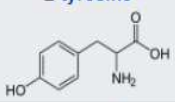
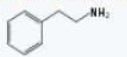
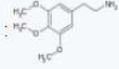
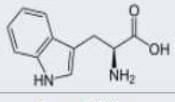
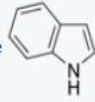
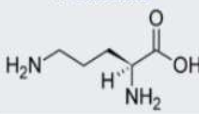

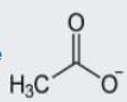

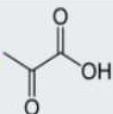
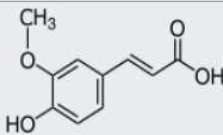
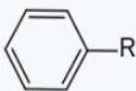
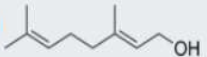
Composés phénoliques				
Squelette carboné	Classe	Exemple	Structure	Origine
C ₆	Phénols simples	hydroquinone		Busserole
C ₆ -C ₁	Acides hydroxybenzoïques	acide parahydroxybenzoïque		Épices, fraises
C ₆ -C ₃	Acides hydroxycinnamiques	acide paracoumarique		Tomates, ail
	Coumarines	ombelliférone		Carottes, coriandre
C ₆ -C ₄	Naphtoquinones	juglon		Noix
C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbénoides	trans-resvératrol		Raisin
C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoïdes <i>lato sensu</i>	kaempférol		Fraises
	Isoflavonoïdes	daïdzéine		Graines de soja
	Anthocyanes	dalphinol		<i>Dalbergia sissoo</i> , petits fruits rouges
(C ₆ -C ₃) ₂	Lignanes	entérodiol		Bactéries intestinales, lin
(C ₆ -C ₃) _n	Lignines			Bois, fruits à noyau
(C ₆ -C ₃ -C ₆) _n	Tanins condensés	procyanidine		Raisins, kaki

Tableau 03 : les alcaloïdes [24, 25]

Précurseur	Groupe d'alcaloïdes	Noyau caractéristique	Exemples
L-tyrosine 	Alcaloïdes phényléthylaminés	Phényléthylamine 	Adrénaline, Anhalamine, Dopamine, Noradrénaline, Hordenine, Mescaline : 
L-tryptophane 	Alcaloïdes indoloterpéniques	Indole 	Yohimbine
L-ornithine 	Alcaloïdes pyrrolizidiniques	Pyrrolizidine 	4-hydroxy-stachydrine, Stachydrine

Précurseur	Groupe d'alcaloïdes	Noyau caractéristique	Exemples
acétate 	Alcaloïdes pipéridiniques	Pipéridine 	Coniine, Conicéine, Pinidine
	Alcaloïdes sesquiterpéniques	Sesquiterpène	Cassinine, Évonine, Maymysine, Wilforine
acide pyruvique 	Alcaloïdes de l'Ephédra	Phényle C	Cathine, Cathinone, Éphédrine, Noréphédrine
acide férulique 	Alcaloïdes aromatiques	Hényle 	Capsaïcine
géraniol 	Alcaloïdes terpéniques	Terpénoides	Aconine, Aconitine, Méthyllycaconitine, Actinidine, Atisine, Gentianine
saponines	Alcaloïdes stéroïdiques		Cholestane, Conessine, Jervine, Etioline, Prégnénolone, Solanidine

Les terpènes qui sont les principaux composants des huiles essentielles sont également connues pour leur action antimicrobienne. Les terpènes oxygénés sont les plus actifs, ce qui confère à certaines huiles essentielles telle l'huile de *Thymus ciliatus* un fort potentiel antimicrobien [5, 26]. Les structures chimiques de terpènes oxygénés sont données dans la figure I.11.

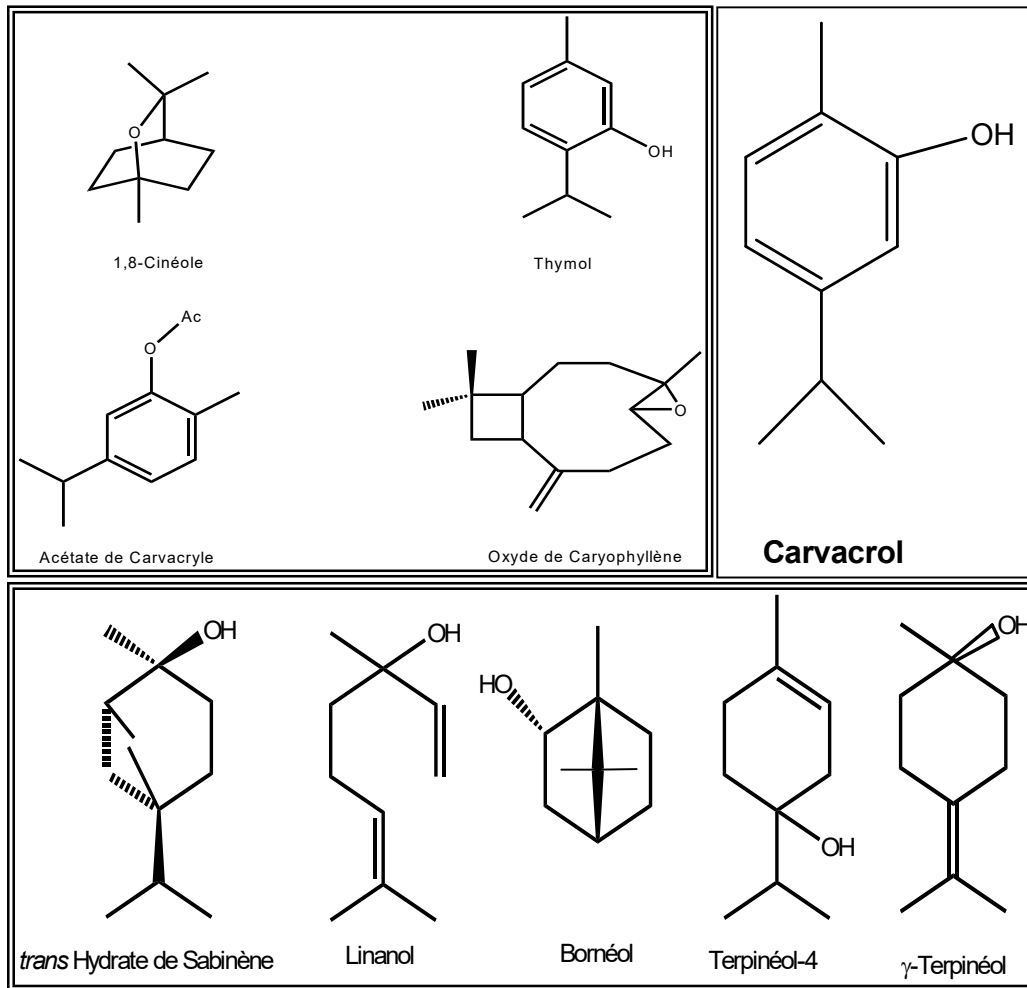


Fig. I.11. Composés terpéniques oxygénés identifiés dans l'huile essentielle de *Thymus ciliatus* [27].

II. Métabolites secondaires

II.1. Généralité

Un métabolite secondaire est une molécule qui, par exclusion, n'appartient pas au métabolisme primaire. Ce dernier est indispensable à la nutrition, il assure la croissance, le développement d'un organisme. Par opposition les métabolites secondaires ne sont pas issus directement lors de la photosynthèse mais sont synthétisés à partir du métabolisme primaire et résultent des réactions chimiques ultérieures [28].

Les métabolites secondaires sont historiquement plus spécifiques aux plantes, bactéries et champignons, mais on découvre également des métabolismes spécifiques à certains groupes animaux ; Ces composés sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes. Exercent un rôle majeur dans l'adaptation des végétaux à leur environnement. Ils assurent des fonctions clés dans la résistance aux contraintes biotiques (phytopathogènes, herbivores, etc.) et abiotiques (UV, température...etc) [29].

II.2. Classement des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires se classent en de nombreux groupes, dont trois grands groupes chez les plantes :

- de type *phénol* : tanins, lignine, flavonoïdes
- de type *azoté* : alcaloïdes, bétalaïne, hétérosides cyanogènes et glucosinolates
- de type *terpène* : hémiterpènes

Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine. Par exemple le menthol et le limonène sont naturellement présents dans des huiles essentielles. Ils sont utilisés comme antiseptiques et dans certains domaines comme la cosmétique [30].

II.2. 1. Terpènes

Les terpènes sont une classe d'hydrocarbures produits par de nombreuses plantes, en particulier les conifères et les Labiacées. La structure de base de ces composés est l'isoprène (Figure II.1), disposé sous forme linéaire ou cyclique [31].

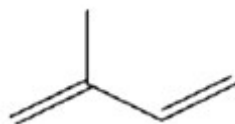


Figure II.1. Isoprène (2-methyl-1,3-butadiène) [31]

II.2. 1.1. Classification des terpènes

Les terpènes sont classés selon leur structure (C₅), monoterpènes (C₁₀), sesquiterpènes (C₁₅), diterpènes (C₂₀), triterpènes (C₃₀), tétraterpènes (C₄₀) et polyterpènes (+ que C₄₀).

a)- mono terpènes: Les mono terpènes (Figure II.1) contiennent plus de 900 composés sous trois formes, linéaires, monocycliques, et à deux cycles [32].

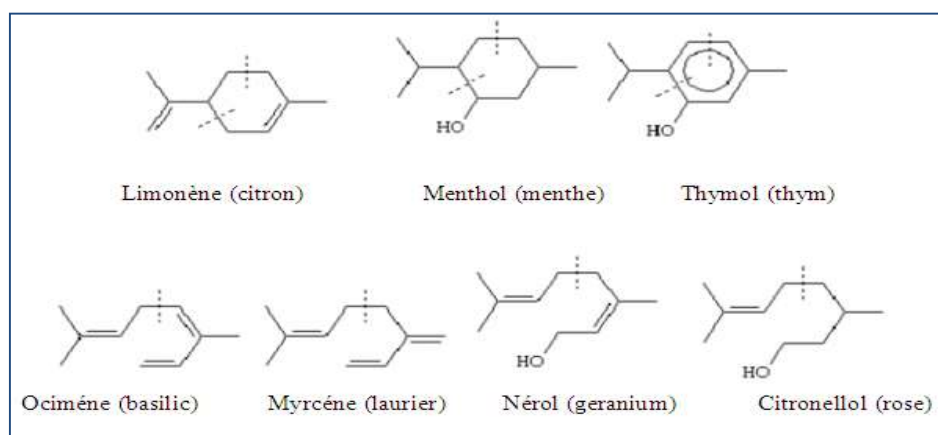


Figure II.1. Mono terpènes [32]

b)- sesquiterpènes (C₁₅H₂₄) : Ces terpènes contiennent dans leur structure 15 atomes de Carbone (Figure II.2), ils se trouvent principalement dans les parties aériennes des plantes [33].

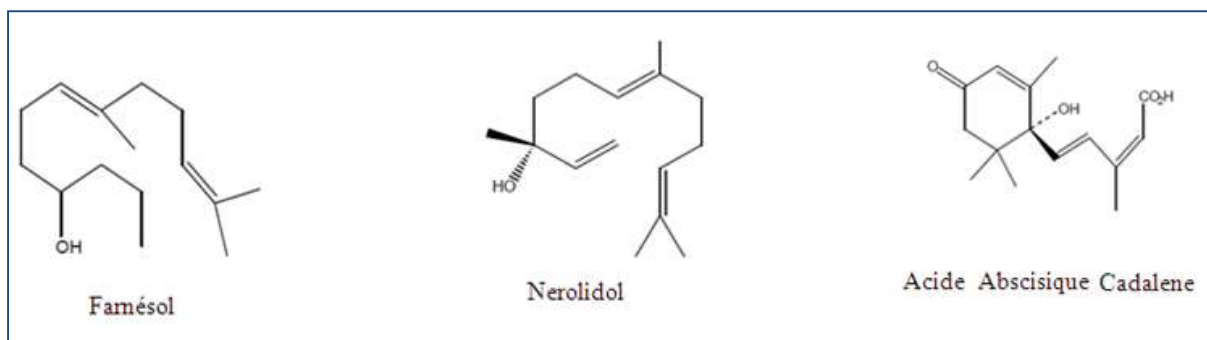


Figure II.2. Sesquiterpènes [33]

c)- En fonction du nombre n (entier) d'unités penta carbonées (en C_5) ramifiées (Figure II.3, II.4, II.5, II.6, II.7).

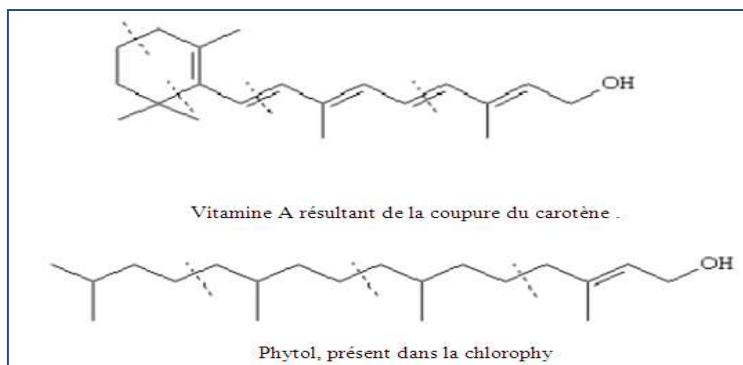


Figure II.3. diterpènes $n = 4$: les diterpènes ($C_{20}H_{32}$) [34]

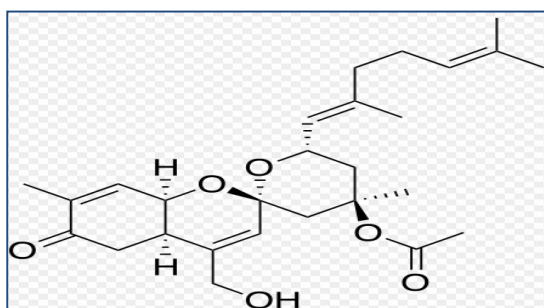


Figure II.4. sesterterpènes $n = 5$: les sesterterpènes ($C_{25}H_{40}$) [35]

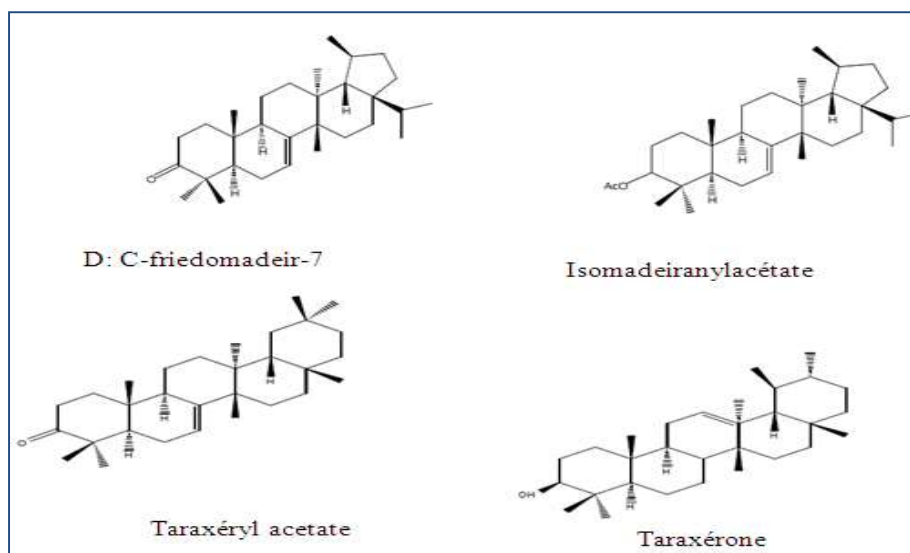


Figure II.5. triterpènes $n = 6$: les triterpènes ($C_{30}H_{48}$) [36]

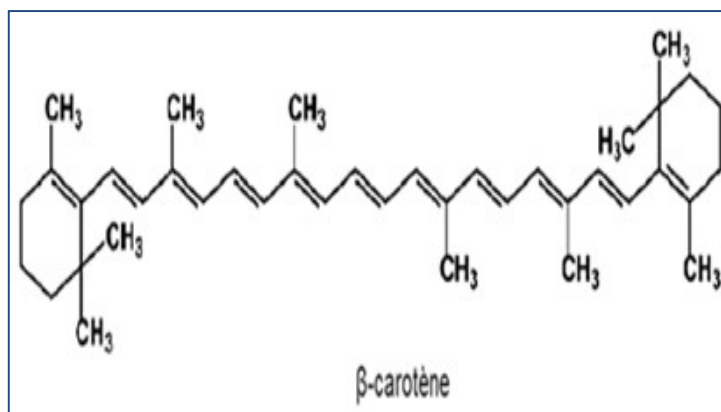


Figure II.6. tétraterpènes $n = 8$: les tétraterpènes ($C_{40}H_{64}$) [37]

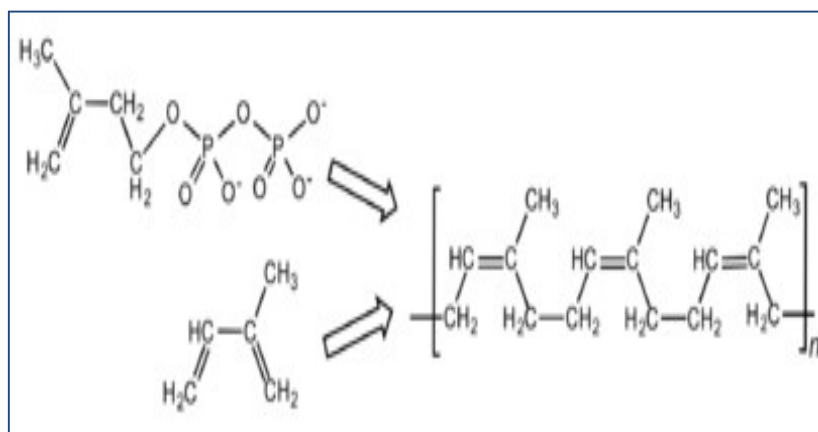


Figure II.7. polyterpènes $n > 8$: les polyterpènes [38]

II.2. 1.1. Biosynthèse des terpènes

La biosynthèse des terpènes est en fait réalisée à partir d'acide mévalonique, qui est formé à partir d'acide acétique en présence d'une thioconzyme que nous désignerons par le symbole (COA-SH) et la présence d'adénosine triphosphate (ATP), qui active la fonction acide [39]. Cette biosynthèse est schématisée ci-dessous (schémas II.1).

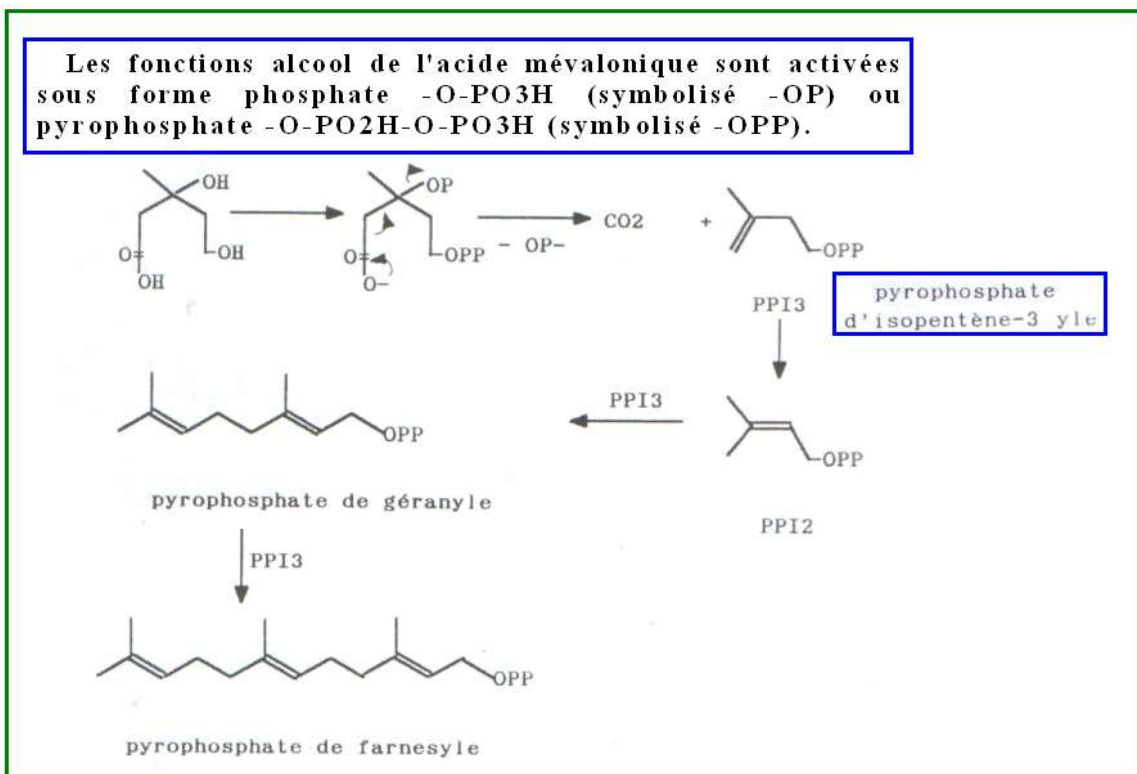
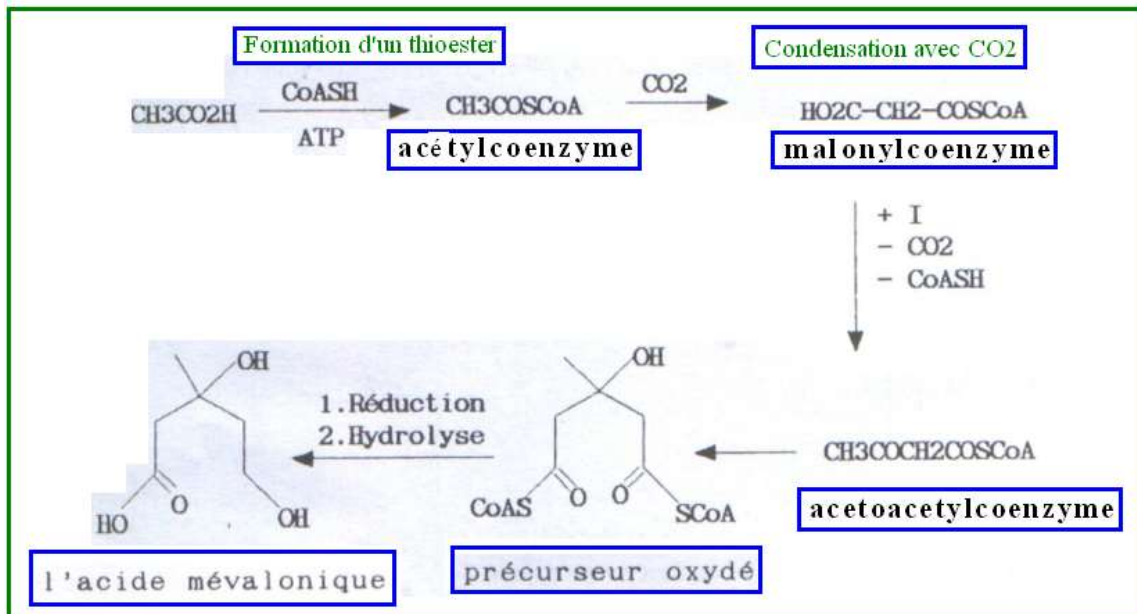


Schéma II.1. Biosynthèse des terpènes [39]

II.2. 2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes désignent une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des poly phénols. Ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles [40]. Les structures de base des flavonoïdes sont données dans la figure II.7.

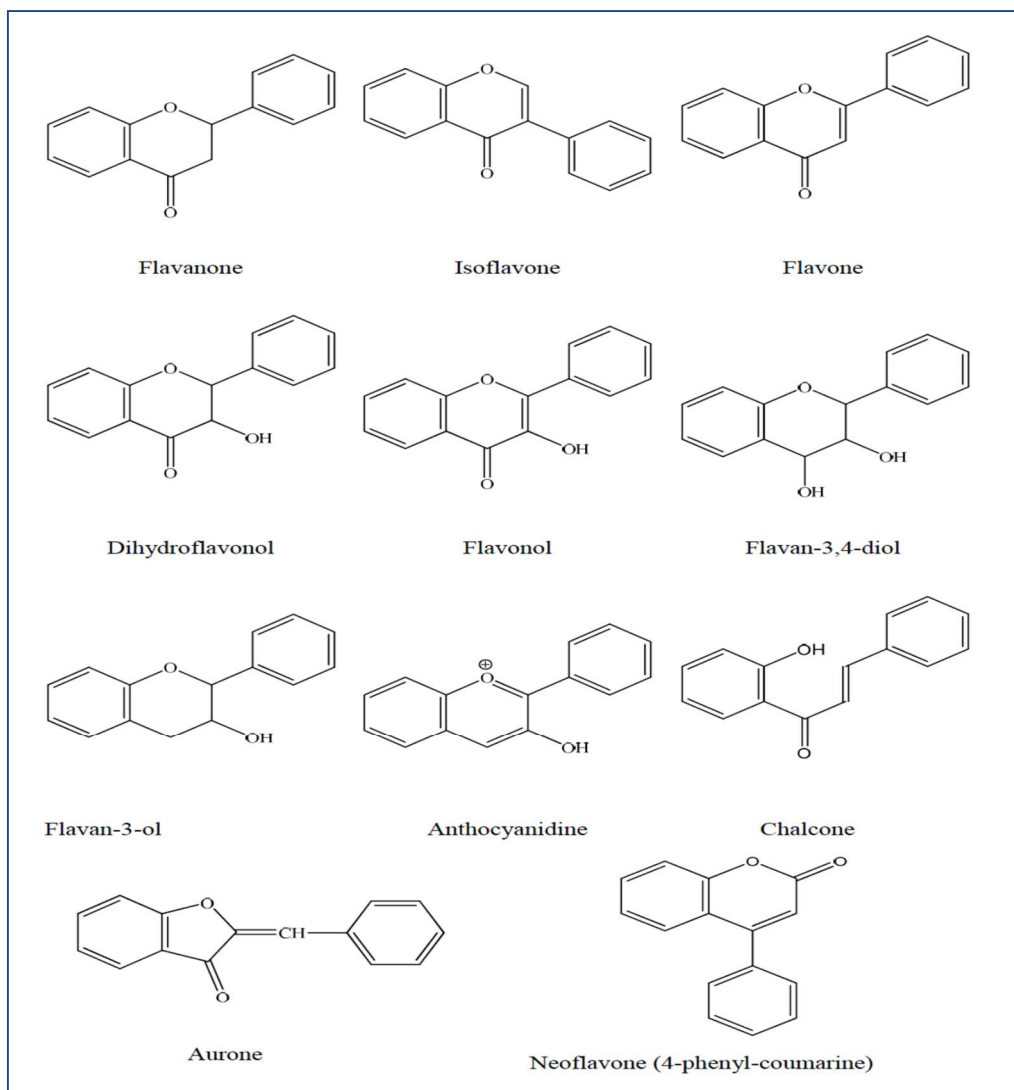
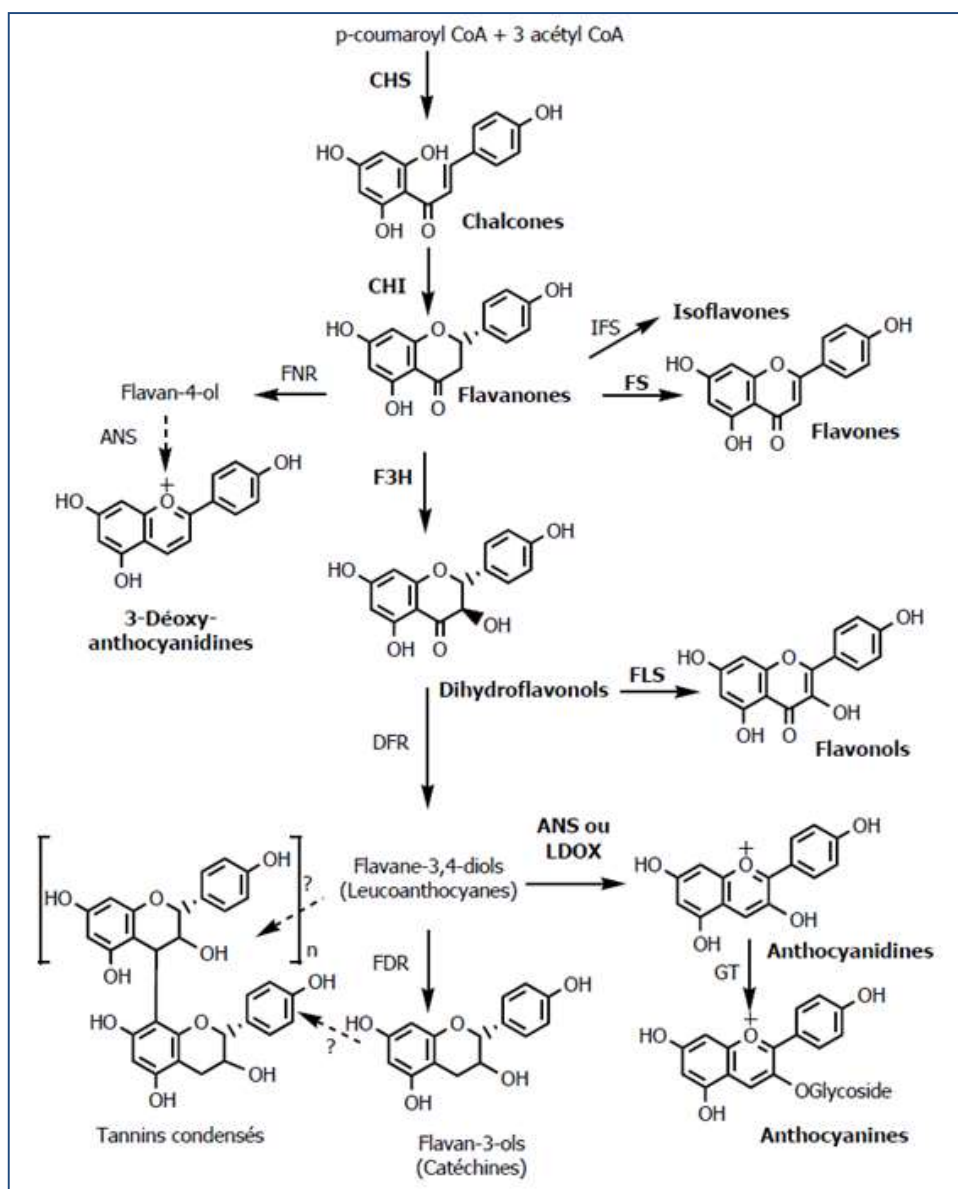


Figure II.7 Structures de base des flavonoïdes [40]

Toutes les étapes de biosynthèse des flavonoïdes ne sont pas précisément définies, sauf que la cellule dépend dans la synthèse de ses produits naturels d'un groupe d'unités basiques telles que l'eau, le dioxyde de carbone, et les acides méthanoïque et éthanoïque, par des réactions d'oxydation et de retour, et d'autres réactions telles que l'alkylation et l'acylation [41].

Dans le schéma II.2, nous expliquons les étapes de la biosynthèse des flavonoïdes avec l'identification des enzymes qui provoquent ces réactions.



Molécules impliquées dans la biosynthèse des flavonoïdes

	Enzymes	Intermédiaires synthésés
2.1	CHS (Chalcone synthase)	Chalcone
2.2	CHI (Chalcone Isomérase)	Flavanone
2.3	FS (Flavone Synthase)	Flavone
2.4	F3H (Flavanone-3-Hydroxylase)	Dihydroflavonol
2.5	FLS (Flavonol Synthase)	Flavonol
2.6	Chaîne enzymatique (FNR, ANS, GT)	Dérivés anthocyaniques

Schéma II.2. Biosynthèse des flavonoïdes [41].

III. Aperçu sur les plantes étudiées : *Retama dasycarpa*, et *Thymelaea hirsuta*

III.1. *Retama dasycarpa*

III.1.1. Historiques

Les légumineuses représentent un groupe de plantes à fleurs dicotylédones (Angiospermes), ce groupe de plantes présente de grands avantages économiques [42], il peut donc être utilisé comme culture pour la consommation humaine car ils sont riches en amidon et ont une teneur en protéines plus élevée. Plus importante que les céréales, leur composition en acides aminés est généralement complémentaire de celle du riz, du maïs et du blé.

En raison de la présence de certains alcaloïdes, les légumes sont également considérés comme une excellente source d'aliments pour animaux et d'engrais vert et produisent de grandes quantités de substances toxiques et médicinales [43].

Les légumineuses sont la plus grande famille d'angiospermes. En termes de nombre d'espèces (après les orchidées et les astéracées), il y a plus de 18 000 espèces réparties dans le monde, réparties en environ 750 genres [44], et elles existent sur presque toutes. Grande variété d'espèces d'arbres ligneux et pérennes.

La taxonomie des légumineuses est en constante évolution. En fait, la famille est divisée en trois sous-familles [45]. Chaque sous-famille est divisée en tribus définies par des caractéristiques morphologiques et des sous-tribus, et regroupe plusieurs genres apparentés dans une seule catégorie. Ces trois sous-familles sont parfois considérées comme trois familles différentes [46] :

- Papilionacées: maintenant c'est devenu la fabuleuse famille avec environ 500 genres et 1000 espèces. (Genet, trèfle), réparti principalement dans les régions tempérées.
- Mimosacées: Il existe environ 2000 espèces (mimosa, acacia).
- Césalpiniacées: Il est composé d'environ 2000 espèces (arbre de Judas).

III.1.2. Généralité sur le genre *Retama*

Le genre *Retama* récemment appelé Lygos Adanson, également appelé rtem ouratam. Elles établissent un taxon monophylétique et incluent quatre types endémiques qui sont fortement

liés aux bassins méditerranéens : *R. monosperma* (L.) Boiss. , *R. raetam* (Forsk.) Webb. , *R. sphaerocarpa* Boiss. et *R. dasycarpa*.

Le genre est distribué dans différents climats et écosystèmes, y compris les dunes côtières, les maquis et même les déserts, car les espèces de *Retama* peut tolérer des conditions de sécheresse extrêmes. Les similitudes entre les traits phénotypiques de ces quatre espèces ont entravé leur prise de décision taxinomique. La couleur standard de cette espèce est différente, elle est blanche chez les *R. monosperma* et *R. raetam* et jaune chez les *R. sphaerocarpa* et *R. dasycarpa* [47].

Les plantes du genre *Retama* présentent une grande homogénéité dans l'usage médicinal [48]. Traditionnellement, ils ont été utilisés par les habitants pour traiter diverses maladies, telles que le diabète, les rhumatismes et l'inflammation [49].

Avec l'intérêt croissant pour la recherche et le développement des ressources naturelles, de nombreuses études ont été liées aux aspects phytochimiques et pharmacologiques de *Retama* spp. Dans les racines, fleurs, graines et plantes ramifiées, hydrates de carbone, acides gras, acides phénoliques, flavonols, flavonoïdes, flavanones, limes, dragons dorés, isoflavones et phénylpropanes, terpènes, stéroïdes et présence d'alkaloïdes sont identifiés. La littérature montre que *Retama* spp. Elle présente diverses activités biologiques, notamment antibactérienne, antioxydante [50], anti-proliférative [51], anti-ulcéreux, antiviral [52], et hépatoprotecteur [53].

III.1.3. Origine et répartition géographique

Les légumineuses sont une famille largement répandue de plantes à fleurs, avec 730 genres et 19 400 espèces, divisées en trois sous-familles: Faboideae, Mimosoideae et Caesalpinioideae [54]. *Retama* appartient aux *Fabaceae* avec 4 espèces réparties principalement dans le bassin méditerranéen [55].

R. sphaerocarpa est largement distribuée dans la péninsule ibérique et en Afrique du Nord. Les *R. monosperma* appartiennent aux zones côtières sablonneuses du sud-ouest de l'Espagne et du nord-ouest de l'Afrique. *R. dasycarpa* est limité aux montagnes de l'Atlas du Maroc. *R. raetam* a une distribution amphibie-méditerranéenne. Des études ont montré que la plupart des mutations se produisent au sein des populations et qu'une différenciation génétique se produit entre les populations [56].

Tableau III.1: Les espèces du genre *Retama* [55]

Espèces de <i>Retama</i> (Noms acceptés)	Synonymes	Pays
<i>R. monosperma</i> (L.) Boiss.	<i>Genista monosperma</i> (L.) Lam. ; <i>Lygos monosperma</i> (L.) Heywood; <i>Retama monosperma</i> subsp. <i>monosperma</i> ; <i>Retama rhodorhizoides</i> Webb & Berthel. ; <i>Spartium monospermum</i> L.	Espagne ;Portugal, Maroc ;Algérie ;Égypte
<i>R. raetam</i> (Forsk.) Webb.	<i>Genista monosperma</i> ; <i>Genista raetam</i> Forssk. ; <i>Lygos raetam</i> (Forssk.) Heywood; <i>Retama duriaei</i> (Spach) Webb; <i>Retama raetam</i> subsp. <i>Raetam</i> ; <i>Retama raetum</i> (Forssk.) Webb]	Maroc, Algérie, Tunisie, Libye, Egypte, Sicile, Jordanie, Liban, Palestina.
<i>Retama raetam</i> subsp. <i>gussonei</i> (Webb) Greuter	<i>Lygos raetam</i> subsp. <i>gussonei</i> (Webb) Heyw. <i>Retama gussonei</i> Webb <i>Retama gussonii</i> Webb	Sicile
<i>R. sphaerocarpa</i> Boiss.	<i>Lygos sphaerocarpa</i> (L.) Heywood	Espagne, Portugal, Maroc, Algérie, Tunisie
<i>R. dasycarpa</i> Coss.		Maroc

III.1.4. Description botanique

Les retams sont pérennes. Ce sont des arbustes monoïques, mesurant jusqu'à 3 mètres de long, avec des troncs courts et trapu, avec de nombreuses branches denses, arquées, flexibles et tombées, de forts ravins feuillus, vert argenté au gris argenté [57]. Les feuilles sont très caduques, le fond à trois feuilles et le sommet à une seule feuille [58]. Elles sont petites, alternées et linéaires, et elles ne restent que quelques jours. Fleurs, unisexes, dispersées en grappes courtes en petites grappes latérales, avec petit calice timide, lèvre supérieure profonde et doubles dents profondes, combien de pétales ou moins marqués sont attachés au tube de résistance 3, standard La verticale a 10 étamines uniques. La floraison est longue, de la fin de l'hiver au début du printemps, selon le climat, elle peut durer jusqu'en mai [59].

Le fruit est une capsule complète et étroite, de moins de 2 cm, effilée, avec des extrémités pointues, et une ou deux graines. Les graines contiennent une bactérie acide lactique alcaloïde toxique. Le système racinaire est essentiel et peut atteindre une profondeur de plusieurs mètres [60].

III.1.5. Classification du genre *Retama*

Selon Quezel et Santa (1962) les rétames sont classés dans le taxon suivant :

Règne : végétal

Embranchement : Spermaphytes

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Ordre : Fabales

Super famille : Légumineuses

Famille : Fabacées

Sous famille : Papilionacées

Genre : *Retama*

III.1.6. Usage pharmacologique

Les plantes appartenant au genre *Retama* ont été utilisées pour traiter différentes maladies dans de nombreuses régions du bassin méditerranéen, en particulier en Afrique du Nord et au Moyen-Orient (tableau 2). *R. dasycarpa* est une plante endémique du haut Atlas, utilisées par le peuple Ishelhin (un groupe ethnique Amazigh marocain (berbère)), dans les maladies urologiques et néphrologiques [61].

Tableau III.2 : usage pharmacologique du genre *Retama* [59 61].

Espèces	Partie de la plante	Usage traditionnel
<i>R. dasycarpa</i> Coss.	Graines.	Maladies urologique et néphrologique.
<i>R. sphaerocarpa</i> Boiss.	Racine	Purgative, Vermifuge et Diabète.
	Fruits	Diphthérie.
	Fleurs	Cicatrisation des plaies Rhumatisme, verrus

III.1.7. Activité antibactérienne de l'extrait de *Retama*

Dans la plupart des cas, cette activité est évaluée par des méthodes de diffusion, en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition ou en déterminant la concentration minimale inhibitrice (CMI). L'extrait d'eau méthanoïque (50:50) riche en polyphénols sur les tiges sphériques du fruit a une activité antibactérienne contre les souches de *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*. Les principaux composants de cet extrait riche en polyphénols sont les pesticides, les acides cinétiques et les flavonoïdes [62].

III.1.8. Activité antioxydante

La plupart de ces études permettent de déterminer l'activité anti-radicalaire de la 1,1-diphényl-2-ylpyrrohydrazine (DPPH) in vitro par spectrophotométrie, et elle est exprimée par la valeur IC50, indiquant ainsi la concentration d'extrait nécessaire. Récupère 50% des radicaux libres DPPH [62].

Tableau III.3 : Activités biologiques des extraits de *Retama* [62].

Activité biologique	Extraits	Systèmes d'essais
Analgésique	Flavonoïdes isolés (3méthylorobol, Biochamine A)	Acide acétique induit un comportement de repli chez les souris.
anti-anxiété	MeOHE.	Test plus-labyrinthe chez le modèle de souris.
Antihypertenseur/ Diurétique	EA	Modèle animal hypertensif et à tension normale. Oral administration.
	EA	Rats Wistar (urines excrétion, élimination de créatinine, plasma, osmolarité). Par voie intraveineuse administration.
Anti-inflammatoire	MeOHF EtOAcF	Monocytes provenant de donneurs humains saints.
	AE	Rats Wistar (Extension de la lésion du côlon). (Ratio de la longueur du poids du côlon)

III.2. *Thymelaea hirsuta*

III.2.1. Généralité

La famille du thym renferme environ 500 espèces d'arbres et d'arbustes qui sont généralement toxiques. Il est distribué dans toutes les régions tempérées et tropicales de la terre.

La principale caractéristique de cette famille est que ses fleurs tubulaires sont essentiellement séparées de ces membres [63]. Dans les conditions méditerranéennes, ils sont représentés par les genres *Thymelaea* et *Daphne*. Le thym (*Thymelaea*) est un genre composé d'environ 30 espèces d'arbustes et de graminées à feuilles persistantes, dont *Thymelaea hirsuta*, (Photo III.1) qui est la plus typique du genre [64].



Photo III.1: *Thymelaea hirsuta* Endel [65].

III.2.2. Présentation et origine

Thymelaea hirsuta (L.) Endel est un arbuste vivace de *Thymus*, qui peut atteindre une hauteur de 2-3 mètres. Elles poussent lentement et forme un buisson et il faut plusieurs années pour devenir un buisson avec un tronc sec et tordu [65].



Photo III.2 : *Thymelaea hirsuta* Endel [66,67].

Cette plante est caractérisée par de petites feuilles ovales épaisses (longueur = 5 mm), recouvertes de carreaux double face (un dessus verre brillant et un dessous recouvert de coton blanc). Les petites fleurs sont récoltées sous forme de 2 à 5 grappes sur la partie supérieure des branches, le calice pourrit rapidement et est polygame. La couleur d'une fleur jaune pâle à 4 pétale. La plante a des fleurs unisexuées ou des fleurs hermaphrodites sur ses pieds (Photo III.2). La période de floraison va d'octobre à avril. C'est une plante unisexuée. Le fruit est une baie glabre mangée par les animaux.

III.2.3. Classification et noms de la plante

Thymelaea hirsuta est le nom latin de cette espèce végétale, toutefois elle est dite également Hairy *Thymelaea* en anglais et son nom vernaculaire est Passerine hérissée ou Thymélée

hirsuta. Elle a plusieurs noms arabes Mitnan, Matnan el akhdar, Matnan el bahloul. Elle appartient au :

Règne : végétal

Embranchement : phanérogames

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Eudicots

Ordre : Malvales

Famille : *Thymelaeaceae*

Genre : *Thymelaea*

Espèce : *Thymelaea hirsuta* [68].

III.2.4. Répartition géographique

Le genre thymelacea comprend 20 espèces autour de la Méditerranée, jusqu'en Asie centrale et au Pakistan, et son aire de répartition se situe principalement le long de la côte méditerranéenne (Europe du Sud, Asie du Sud-Ouest, Afrique du Nord). Cependant, il s'étend à l'ouest jusqu'à la côte atlantique du sud de l'Espagne, du sud du Portugal et du nord-ouest du Maroc. En Afrique du Nord, la limite sud de son air coïncide à peu près avec le bord du désert du Sahara [68].

III.2.5. Propriétés et usages thérapeutiques

Il a des effets anticancéreux, antioxydants, antifongique, anti-digestifs, anti-diabétiques. Il est utilisé dans le traitement des maladies de la peau. Les extraits de ces plantes ont des effets anti-mélanogénèse. Il a des propriétés antiseptiques, hypoglycémiques et hypotensives sur la peau et peut être utilisé en médecine traditionnelle [68].

Les plantes produisent un grand nombre de composés, qui ne sont pas dérivés directement lors de la photosynthèse, mais sont produits par des réactions chimiques ultérieures. Ces composés sont appelés : métabolites secondaires. Ils sont généralement synthétisés dans une partie de la plante puis conservés dans une autre partie [69]. La pharmacie utilise toujours un grand nombre de médicaments d'origine végétale et de nouvelles molécules actives ou matériaux semi-synthétiques ont été découverts dans les plantes [70].

III.2.6. Effet antioxydant

Le radical DPPH a un nombre impair d'électrons dans l'atome d'azote du pont. En mesurant la diminution d'absorbance à 517 nm provoquée par les antioxydants, la réduction du radical libre DPPH (2,2'-diphényl-1-pyridylhydrazine) peut être détectée par spectrophotométrie ultraviolette visible. En présence d'un capteur de radicaux libres, DPPH; le violet (2,2-diphényl-1-pyrido-hydrazine) est réduit en 2,2-diphényl-1-pyrido-hydrazine jaune [71]. L'apport mesuré est utilisé pour calculer le pourcentage d'inhibition des radicaux libres DPPH, qui est proportionnel à la capacité radicalaire de l'extrait [72].

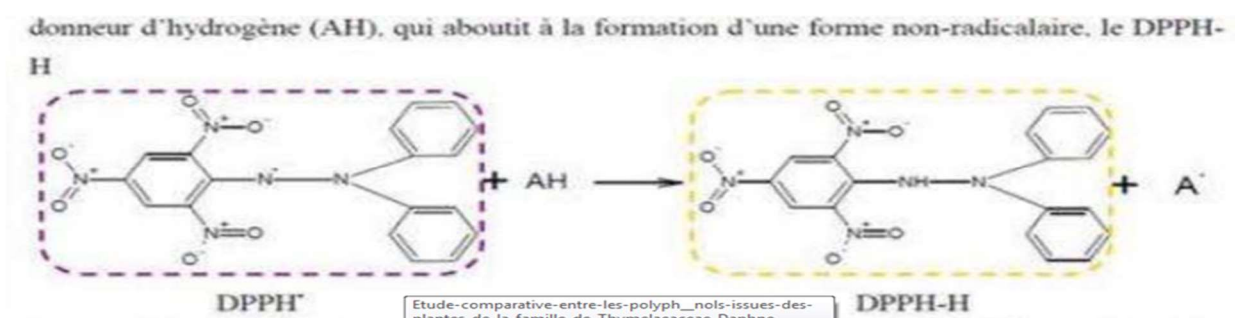


Figure III.1 : mécanisme réactionnel intervenant lors de test DPPH[•] entre l'espèce radicalaire DPPH[•] et un antioxydant [72].

III.2.7. Toxicité

La toxicité du thymus et de nombreuses espèces animales chez l'homme a été reconnue. En effet, les diterpènes de type metformine sont des nettoyants puissants, qui déclenchent une forte réponse inflammatoire par contact avec la peau ou les muqueuses [73].

Les symptômes de toxicité générale causés par la consommation de matière sont relativement constants à Thymelaeacée et ont été entièrement documentés dans la littérature. Von Oettingen (1958) a décrit les symptômes observés dans le corps humain après l'ingestion de l'écorce et des baies de *Daphnemezereum*: inflammation des lèvres, de la langue et du pharynx, bouche sèche, salivation, paupières enflées, maux de tête. , Douleurs abdominales, vomissements, diarrhée, eau et sang dans les selles [74]. La plante contient des diterpènes hautement toxiques. Un simple contact avec la peau ou les muqueuses peut provoquer une forte réaction inflammatoire. Ce sont également des cancérogènes potentiels.

Deuxième partie

Matériels et méthodes.

IV.1. Présentation de la zone d'étude

La récolte des plantes étudiées a été faite dans la zone d'Oum echguague à Wilaya de Djelfa (Figure IV.1). Djelfa est située aux hauts plateaux de l'Algérie, à 300 Km au sud de la capitale Alger. Le point culminant de la Wilaya se trouve à l'Est avec une altitude de 1.613 mètres et le point le plus bas est à l'extrême Sud de la Wilaya avec une altitude de 150 mètres ; Le climat de la Wilaya de Djelfa est nettement semi-aride à aride avec une nuance continentale. Pluie par an et aride dans toute la zone située dans la partie Sud de la Wilaya et qui reçoit moins de 200 mm d'eau de pluie en moyenne par an [74].

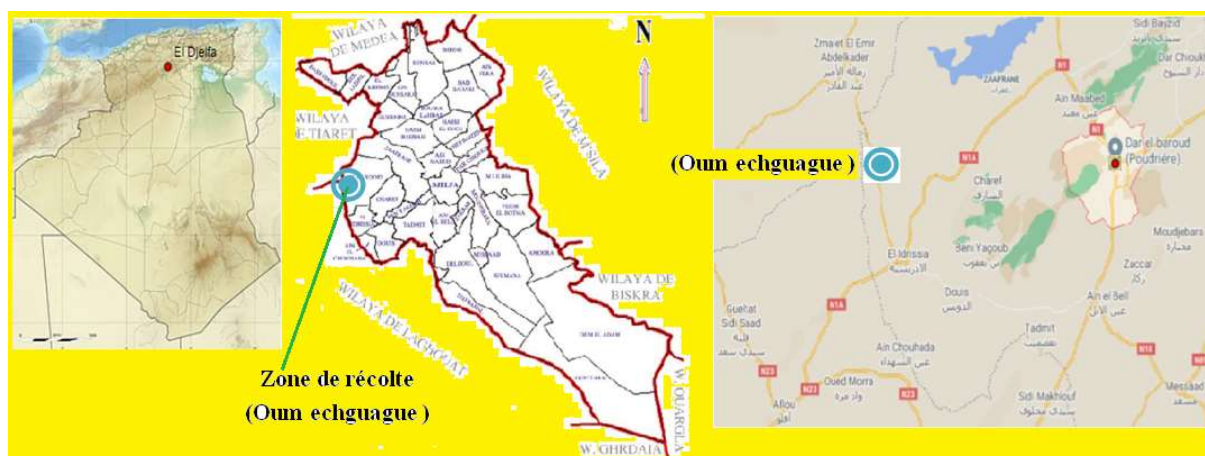


Figure IV.1 : Présentation de la zone d'étude [75].

Le couvert végétal naturel de la Wilaya est constitué essentiellement de hautes steppes arides avec des vides entre les touffes de végétation sur des sols généralement maigres en contact direct avec la roche mère. Djelfa fait partie globalement de la steppe d'alfa. Cette graminée vivace occupe une grande partie du territoire de la Wilaya notamment la zone du plateau prédésertique du Sud. Les forêts occupent les chaînes de montagnes du Sénalba, du Djebel Azreg et du Djebel Boukahil. Les forêts sont claires et aérées par manque de sous bois conséquent et l'inexistence de maquis. Les principales essences forestières sont le pin d'Alep, le chêne vert et le genévrier du Phénicien (arar) [76].

IV.2. Préparation des extraits végétaux

Cette partie a été effectuée au niveau du laboratoire de chimie de la faculté des sciences exactes du centre universitaire de Djelfa.

IV.2.1. Matériel végétal

Les plantes étudiées dans notre travail sont : *Retama dasycarpa*, et *Thymelaea hirsuta*, sont récoltées dans la région de Djelfa en février 2020.



Photo IV.1 : Les plantes étudiées : *Retama dasycarpa* et *Thymelaea hirsuta*.

Les parties aériennes de chaque plante ont été séchées à l'air libre pendant 15 jours à l'abri de la lumière et à température ambiante. Par la suite nous avons procédé au broyage du matériel végétal en poudre pour augmenter la surface de contact solvant-échantillon. Les poudres des plantes ont été conservées dans des boîtes en verres, à température ambiante et à l'abri de la lumière et de l'humidité.

IV.2.2. Matériels

- UV spectrophotomètre.
- Evaporateur rotatif.
- Etuve.
- Lyophilisateur à plateau.
- Autoclave
- Pompe sous vide.
- Balance analytique.
- Bain marie.
- Verreries: Entonnoir, Erlen meyers, Bêchers, Eprouvettes graduées, Tubes à essais, Pipette et micropipette (de 1000 μ l, de 100 μ l et de 10 μ l).

IV.2.3. Solvants et Réactifs

- Acide sulfurique: H_2SO_4
- Eau distillée.
- Nitrate de magnésium: $MgNO_3$
- Solution de Wagner
- Hydroxyde d'ammonium NH_4OH à 25%
- Chlorure de fer $FeCl_3$ 2%

IV.2.3 Préparation de l'extrait aqueux

Nous préparons le mélange composé de 5g de la plante étudiée et le mettons dans un bécher et ajoutons 250 ml d'eau distillée chaude et trempons pendant 24h.

L'extrait est récupéré après filtration du mélange à l'aide d'un papier filtre, le solvant est éliminé du filtrat par évaporation sous pression réduite dans un rotavapeur, puis séché à l'étuve à une température ne dépassant pas $40^{\circ}C$, et conservé jusqu'à l'utilisation.



Photo IV.2. Préparation de l'extrait aqueux

IV.2.2. Rendement

Le rendement d'extraction est calculé par la formule donnée par la formule suivante :

$$R (\%) = 100 M_{ext}/M_{éch}$$

Où: **R**: est le rendement en %.

M_{ext}: est la masse de l'extrait après évaporation du solvant en mg.

M_{éch}: est la masse sèche de l'échantillon végétal en mg.

IV.3. Criblage phytochimique

Nous préparons 5 tubes à essai et mettons dans chaque tube 2,5 ml de produit de trempage.

Pour chaque groupe de métabolites secondaires nous avons utilisé un tube.

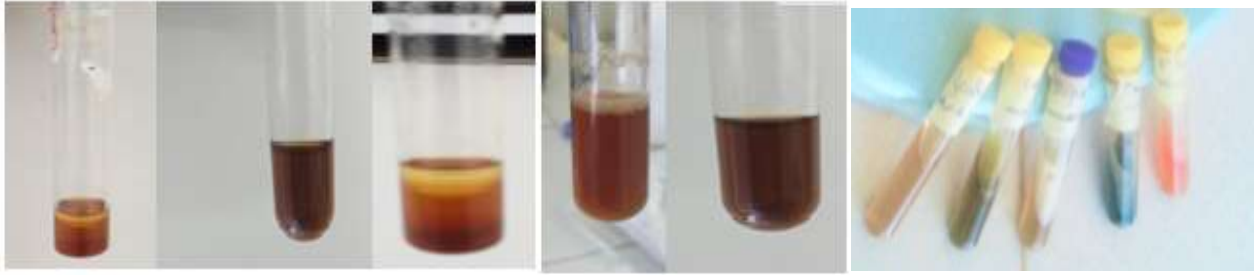


Photo IV.3 : criblage phytochimique

- **Détection des flavonoïdes**

Au premier tube, on ajoute des gouttes de H_2SO_4 et un peu de nitrate de magnésium $MgNO_3$, puis on ferme le tube et on amène le mélange à homogénéité et on le laisse pendant quelques minutes quand la couleur apparaît rouge, jaune, ou rose, cela signifie une réaction positive.

- **Détection des alcaloïdes**

Nous ajoutons quelques gouttes de solution de Wagner dans le deuxième tube. Le tube est fermé et laissé pendant quelques minutes. L'apparition d'un précipité rouge signifie une réaction positive.

- **Détection des coumarines**

Au troisième tube, on ajoute quelques gouttes d'une solution d'hydroxyde d'ammonium NH_4OH à 25%, puis on l'expose à un rayonnement UV d'une longueur d'onde de 366 nm, l'apparition d'un rayonnement signifie une réaction positive.

- **Détection des tanins**

Mettre quelques gouttes de chlorure de fer $FeCl_3$ 2%, le tube est fermé et laissé reposer quelques minutes jusqu'à ce que la couleur change, l'apparition d'un précipité bleu noirâtre ou bleu verdâtre signifie une réaction positive.

- **Détection des saponines**

On ajoute 2ml d'eau distillée au tube et on le ferme, puis on l'agite un peu. L'apparition de bulles indique la présence des saponines.

IV.4. Etude de l'activité antimicrobienne des extraits végétaux

Nous avons prévu l'évaluation du pouvoir antimicrobien des extraits obtenues vis-à-vis de *P. aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*. Cette partie a été interrompu par le fait de la crise

sanitaire liée à la pandémie du Covid-19. Nous présentons ci-dessous les microorganismes ciblés et la méthode préconisée pour l'étude du pouvoir antimicrobien des extraits végétaux.

IV.4.1. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa est un pathogène opportuniste, responsable d'infections nosocomiales graves, d'infections potentiellement mortelles chez les personnes dont l'immunité est affaiblie et d'infections chroniques chez les patients atteints de fibrose kystique [77]. *Pseudomonas aeruginosa* est un bâtonnet Gram-négatif en forme de bâtonnet d'un diamètre de 0,5 à 0,8 μm et d'une longueur de 1 à 3 μm . En raison d'un seul flagelle polaire, il n'y a pas de spores ou de capsules, il peut donc se déplacer (Figure V.2) [78].



Figure IV.2 : Observation microscopique de *Pseudomonas aeruginosa* [78].

Pseudomonas aeruginosa Oxydase, Catalase-nitrate réductase, Arginine dihydrolase positives. Elle a un métabolisme oxydatif prédictible des sucres en milieu MEVAG [79].

IV.4.2. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus occupe encore une place importante aujourd'hui en en pathologie humaine en raison de sa sévérité et de sa résistance aux antibiotiques, ce qui est très important. Cette bactérie Gram-positif appartient à la famille des Microcoques et est colonise la peau humaine et de muqueuses [80]. La plupart des souches sont capsulées *in vivo* mais ils perdent progressivement leurs capsules au cours de la culture, et d'autres souches forment des colonies visqueuses entourées de pseudocapsules [82]. Toutes les souches de *Staphylococcus aureus* présentent un métabolisme principalement aérobie et anaérobie facultatif, produisant de la coagulase, une nucléase thermostable et de la catalase, mais pas d'oxydase [83]. *Staphylococcus aureus* est : indole-, acétone +, urée +, VP +, MR +, réduit le tellurite de potassium et le nitrate en nitrite et produit de l'ammoniac à partir de l'arginine [84]. A l'examen microscopique *Staphylococcus aureus* se présente sous l'aspect de cocci sphériques de 1 μm de diamètre, Gram positif, immobiles, non sporulés (Figure IV.3).

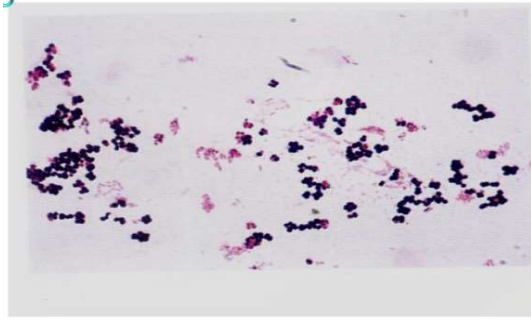


Figure IV.3 : *Staphylococcus aureus* en amas [81]

IV.4.3. Méthode de diffusion des disques en milieu solide

Cette méthode a le même principe que celle de l'antibiogramme classique par la méthode de disque. Le principe est que l'extrait diffuse à partir du disque en créant un gradient de concentration dans le milieu gélosé préalablementensemencé par les souches microbiennes. Cette diffusion engendre la formation d'un halo clair autour du disque (zone d'inhibition) dans le cas où l'huile essentielle a un effet inhibiteur sur la souche microbienne. L'interprétation du résultat se fait par mesure du diamètre du halo d'inhibition.

Résultats

V.1. Caractéristique de poudres obtenues

Les parties d'intérêts ont été broyées afin d'obtenir une poudre ayant une couleur verdâtre pour les feuilles de *Retama dasycarpa*, et plus claire avec un aspect cotonneux pour celles de *Thymeleae hirsuta*.

V.2. Caractérisation des extraits obtenus

Les caractéristiques des extraits végétaux obtenues des espèces végétales *Retama dasycarpa* et *Thymeleae hirsuta* sont donnés dans le tableau V.1.

Tableau V.1: caractéristiques des extrait obtenus (couleur et aspect).

Plante	Extrait hydraulique (couleur et aspect)
<i>Retama dasycarpa</i>	Couleur verdâtre Aspect visqueux
<i>Thymeleae hirsuta</i>	Couleur marron Aspect visqueux

V.3. Rendement de l'extrait aqueux

Les résultats de rendement d'extrait aqueux de *Retama dasycarpa*, et *Thymelaea hirsuta* sont de l'ordre 0.93% et 1.74% respectivement, ce qui indique que la *Thymelaea hirsuta* est plus rentable que *Retama dasycarpa*.

V.4. Screening phytochimique

Notre étude consiste à détecter les différentes familles des composés phénoliques existantes dans les parties aériennes des deux plantes (*Retama dasycarpa* et *Thymelaea hirsuta*). Les tests appliqués sont basés sur des colorations par des réactifs spécifiques à chaque famille de composé. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau V.2.

Tableau V.2 : les différents tests de criblage phytochimique

	<i>Retama dasycarpa</i>	<i>Thymelaea hirsuta</i>
Flavonoïdes	++	+++
Alcaloïde	+	+
Coumarine	+	-
Tanins	++	++
Saponines	+	++

Légende : + : présence de la substance active ; ++ : présence de la substance active en quantité significative ; +++ : présence de la substance active en très grande quantité

Les résultats expérimentaux des tests phytochimiques réalisés sur la partie aérienne de *Retama dasycarpa* et *Thymelaea hirsuta*, montrent la présence des flavonoïdes, et des tanins totaux avec des intensités importantes dans les deux plantes. Les alcaloïdes et les saponines sont également détectés avec des taux moins importants. *Retama dasycarpa* renferme également un faible taux de coumarine tandis que *Thymelaea hirsuta* s'est révélée ne comprenant cette famille de composés.

Conclusion

L'utilisation des plantes de manière scientifique basée sur des études expérimentales rend la phytothérapie plus bénéfique et plus efficace. La phytothérapie peut constituer une médecine alternative, ou au moins, elle peut être considérée comme un complément de la pharmacie classique. Les diverses vertus attribuées aux plantes médicinales sont liées aux activités biologiques des métabolites secondaires contenues dans celles-ci. En pathologie infectieuse plusieurs remèdes phyto-thérapeutiques sont d'usage dans le monde et en Algérie. Dans ce contexte, ce travail consiste à caractériser l'extrait végétal aqueux de *Retama dasycarpa*, et *Thymelaea hirsuta* plantes spontanées de Djelfa. Les métabolites secondaires sont caractérisés par un screening phytochimique qui a révélé la présence des flavonoïdes, des tanins, et des saponines. *Retama dasycarpa* renferme également un faible taux de coumarine tandis que *Thymelaea hirsuta* s'est révélée exempte de cette famille de composés.

Le pouvoir antimicrobien ; à l'encontre de bactéries incriminées en infectiologie humaine et animale ; de métabolites secondaires obtenues par extraction d'espèces végétale est une activité biologique très étudiée. L'évaluation de l'effet antimicrobien des extraits obtenues à partir de *Retama dasycarpa*, et *Thymelaea hirsuta* été envisagé dans cette étude. Les microorganismes ciblés étaient *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*, deux pathogènes opportunistes agents de diverses pathologies humaines. Cette partie n'a pas été réalisée par le fait de la crise sanitaire liée à la pandémie du Covid 19.

Toutefois, ce travail permet de contribuer à la valorisation des produits naturels autant que source de molécules antimicrobienne. Ceci est soutenu par le screening phytochimique des plantes étudiées « *Retama dasycarpa*, et *Thymelaea hirsuta* » démontrant la richesse de leurs métabolismes secondaires en familles de composés, et appuyé par la synthèse bibliographique présentée dans ce document.

Référence bibliographique

- [1]-Philippe Sionneau, 2006, la phytothérapie chinoise moderne , p 500 .
- [2]-Anonyme, 1974. Encyclopédie-Le Grand Médical. L'histoire de la médecine et de la chirurgie,l'avenir de la médecine, les prix Nobel. Edition Service S.A., Genève (Suisse), 397 pp.
- [3]-Nacoulma-Ouédraogo O., 1996, *Plantes médicinales et pratiques médicales traditionnelles au Burkina Faso: cas du Plateau central*, Thèse de Doctorat en Sciences Naturelles, Université deOuagadougou, (Burkina-Faso), 605 pp.
- [4]-Markin D., Duek L. et Berdicevsky I. 2003. In vitro antimicrobial activity of olive leaves Antimikrobielle Wirksamkeit von Olivenblättern in vitro. *Mycoses*, 46: 132–136.
- [5]- Bousmaha-Marroki L., Atik-Bekkara F., Tomi F. et Casanova J. 2007. Chemical Composition and Antibacterial Activity of the Essential Oil of *Thymus ciliatus*(Desf.)Benth. ssp. *eu-ciliatus*Maire fromAlgeria.**J. Essent. OilRes.**, **19**, 401–404.
- [6]- Farnsworth, N.R. (1990) The Role of Ethno Pharmacology in Drug Development. Ciba Foundation Symposium 154. Bioactive Compounds from Plants. John Wiley & Sons, Baffins Lane, Chichester (England), 2-21.
- [7]- Baser (K.H.C.), Demirci (B.), Demirci (F.), Koçak (S.), Akinci (Ç.), Malyer (H.), Güteryüz (G.) - Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Achillea multifida*. - *Planta Med.*, 2002, 68(10), 941-943.
- [8]- Boulahbal F. (2002). *Microbiologie SI clinique*.OPU. P.173.
- [9]- Singleton P. (2002). *Bactériologie*. Dunod. P.415.
- [10]- Prescotti L.M., Harley J.P. et Klein D.A. (2007). *Microbiologie*. De Boeck. P.1137.
- [11]- Vincent T. Andriole .The Quinolones"; Editeur Butterworth-Heinemann, 3^e édition (2006).
- [12]- *Tetracycline Antibiotics: Mode of Action, Applications, Molecular Biology, and Epidemiology of Bacterial Resistance* », *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, vol. 65, n° 2, 1^{er} juin 2001, p. 232–260
- [13]- Maria L. Magalhães and John S. Blanchard. Aminoglycosides: Mechanisms of Action and Resistance;; *Universidade do Estado de Santa Catarina*; January 2009
- [14]- Ray WA, Murray KT, Meredith S, Narasimhulu SS, Hall K, Stein CM. Oral Erythromycin and the Risk of Sudden Death from Cardiac Causes. *N Engl J Med* 2004;351:1089-96.
- [15]- Leclerc H., Izard D.Husson M.O., Wattré P. et Jakubezak E. (1983). *Microbiologie générale*.Dion. P.369.
- [16]- Annette Von Drygalski, Brian R. Curtis, Daniel W. Bougie, Janice G. McFarland, Scott Ahl, Indra Limbu, Kelty R. Baker, Richard H. Aster, *Vancomycin-induced immune thrombocytopenia*, *New Eng J Med*, 2007;356:904-910
- [17]- JJ Jr Rahal et MS Simberkoff, « *Bactericidal and bacteriostatic action of chloramphenicol against meningial pathogens.* », *Antimicrobial agents and chemotherapy*, vol. 16, n° 1, 1979, p. 13-18
- [18]- CHOURASIA M.K., JAIN S.K. Pharmaceutical approaches to colon targeted drug delivery systems. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, 2003, vol.6. P33- 66.

- [19]- Russel, Hugo, Ayliffes's. Principles and Practice of disinfection, preservation and sterilization. 4ème Ed, Oxford: Blackwell, 2004
- [20]- Divers cours: « Antiseptiques et désinfectants », Dr A. Sautter, février 2004, Cours « Maîtrise de la fabrication aseptique », Pharmacie des HUG, avril 2005 (Dr J. Favet: Sources de contamination, V. Herrera: Désinfection), Cours « Bactériologie générale », Dr J. Favet, 1999, Cours « Microbiologie médicale », Pr JC Piffaretti, 200
- [21]- Brzozowska J., Hanower P., 1976. Recherches sur les composés phénoliques des végétaux et leur rapport avec un déficit hydrique chez des cotonniers. *Annales de l'université d'Abijan, série C (Science)*, tome XII: 65 - 80.
- [22]- Epifano F., Genovese S., Menghini L. and Curini M. 2007. Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites. *Phytochemistry*; 68: 939-953.
- [23]- P. Sarni-Manchado, V. Cheynier, *Les polyphénols en agroalimentaire*, Lavoisier, Editions Tec & Doc, 2006, 398 p.
- [24]- R. H. F. Manske (dir.), *The Alkaloids: Chemistry and Physiology*, Chemistry and Physiology, Volume 1 à 20, Academic Press Inc., 1981
- [25]- Jacques E. Poisson, article *Alcaloïdes*, *Encyclopædia Universalis*, 2011.
- [26]- Kalai A., Malek F. et Bousmaha-Marroki L. (2018). Effect of *Thymus ciliatus* oil-based disinfectant solutions against biofilms formed by *Bacillus cereus* strains isolated from pasteurized-milk processing lines in Algeria. *South Asian Journal of Experimental Biology*; 8 :1-12.
- [27]- Bousmaha-Marroki L. (2007). Contribution à la valorisation d'espèces végétales aromatiques des genres *Lavandula* et *Thymus* d'Algérie : Analyse des huiles essentielles par CPG, CPG-SM et RMN ¹³C et étude de leur pouvoir antimicrobien sur des germes d'origine hospitalière". Thèse de doctorat. Université Djilali Liabes de Sidi Bel Abbes.
- [28]-Croteau, R., Kutchan, T.M., Lewis, N.G. (2000). Naturel products (Secondary metabolites). *Biochemistry & Molecular Biologie of plants*. 1250-1318.
- [29]-Lutge U., Kluge M., Bauer G. (2002). *Botanique* (3é èd). Technique et documentation. Lavoisier . Paris. 211p.
- [30]-Bruneton, J. (1993). *Pharmacognosie*, phytochimie, plantes médicinales. Technique et documentation. Paris: Lavoisier.
- [31]-*Hist. gén. sc.*, t. 3, vol. 2, 1964, p. 436) définition des terpènes
- [32]-Allen, K. G., Banthorpe, D. V., and Charlwood B. V. (1977): Metabolic pools associated with monoterpene biosynthesis in higher plants. *Phytochemistry* 16,79-83.
- [33]-M. Helena R. Amorim, Rui M. Gil da Costa, Carlos Lopes et Margarida M. S. M. Bastos, « Sesquiterpene lactones: adverse health effects and toxicity mechanisms », *Critical Reviews in Toxicology*, vol. 43, n° 7, août 2013, p. 559–579
- [34]-Cao R, Zhang Y, Mann FM, Huang C, Mukkamala D et al. 2010. Diterpene synthases and the nature of the isoprene fold. *Proteins* 78:2417–32
- [35]-Higgs MD, Vanderah DJ, Faulkner DJ. Polyhalogenated monoterpenes from *Plocanium* -- cartilagineum from the British coast. *Tetrahedron* 1977; 33 : 2775-80.
- [36]-Achnine L, Huhman DV, Farag MA, Sumner LW, Blount JW, Dixon RA. 2005. Genomics-based selection and functional characterization of triterpene glycosyltransferases from the model legume *Medicago truncatula*. *Plant J.* 41:875–87

- [37]-Chappell J. 2002. The genetics and molecular genetics of terpene and sterol origami. *Curr. Opin. Plant Biol.* 5:151–57
- [38]-Segura MJR, Jackson BE, Matsuda SPT. 2003. Mutagenesis approaches to deduce structure-function relationships in terpene synthases. *Nat. Prod. Rep.* 20:304–17
- [39]-J. Brunetton *Éléments de phytochimie et pharmacognosie*, Paris : Lavoisier - Tech. & doc, 1987, 584.
- [40]-Jacques Macheix, J., Fleuriet, A., et Allemand, C.J. (2005). *Les composés phénoliques des végétaux (un exemple de métabolites secondaires d'importance économique)*. Ed, Presse polytechniques et universitaires romandes: Italie.
- [41]-Schwarz 1958; Formica et Regelson 1995; Rice- Evans et al, 1996 et Rhodes, 1998.
- [42]- Ozenda; 1982 in *Bouredja.n, 2005, étude anatomique et biochimique des protéines et des acides aminés foliaires de Rétama monosperma(boiss) : mémoire de magistère . UNIV. des sciences et de la technologie d'Oran MOHAMED BOUDIAF (U.S.T.O) Ora*
- [43]- Unesco ; 1960 *Recherches sur la zone aride - XIII-Les plantes médicinales des régions arides, Pb Organisation des Nations Unies pour l'éducation, la science et la culture, place de Fontenoy, Paris-7e/Imprimeries Oberthur, Rennes © Unesco 1960 NS.59/III.17/ 99p*
- [44]- Ildis; 2001, in LOUIS.S ; 2004 , diversité structurale et d'activité biologique des Albumines entomotoxiques de type 1b des graines de légumineuses. Thèse de doctorat. Institut national des sciences appliquées de Lyon. N° d'ordre 04 ISAL 012 Disponible sur : docinsa.insa-lyon.fr/these/2004/louis/these.pdf
- [45]- Doyle.j.j ., Chapill, j.A., Bailey, D.C and Kajita, T. towards a comprehensive phylogeny of legumes: evidence from rbcL sequences and non-molecular data. In *advances in legume systematic .* , (eds .P.S. Herendeen and A.Bruneau) Kew: Royal Botanic Gardens, (2000), pp.1-20.
- [46]- Spichiger , 2004 R.E ., Salvlaimen V ., Figeat M. , Jammonob D., 2004. botanique systématique des plantes à fleurs . éd : press polytechnique et universitaire romande, 203-206p in *Bouredje.n, 2005, étude anatomique et biochimique des protéines et des acides aminés foliaires de Rétama monosperma(boiss) : mémoire de magistère . UNIV. des sciences et de la technologie d'Oran MOHAMED BOUDIAF (U.S.T.O) Oran.*
- [47]- Belmokhtar et Harche, 2012; Boulila et al. 2009; Cardoso et coll. 2013; Greuter et coll. 1989
- [48]- Bellakhdar J (1997) Contribution à l'étude de la pharmacopée traditionnelle au Maroc: la situation actuelle, les produits, les sources du savoir. Enquête ethnopharmacologique de terrain réalisée de 1969 à 1992. Doctoral dissertation, University of Metz
- [49]- Ali-Shtayeh MS, Yaghmour RM, Faidi YR et al (1998) Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area. *J Ethnopharmacol* 60(3):265–271
- [50]- El-Toumy SA, Farrag AH, Ellithy MM et al (2011) Effect of plant derived-phenolic extracts on antioxidant enzyme activity and mucosal damage caused by indomethacin in rats. *J Pharm Res* 4(1):189–192.
- [51]- Belayachi L, Aceves-Luquero C, Merghoub N et al (2013) Screening of North African medicinal plant extracts for cytotoxic activity against tumor cell lines. *Eur J Med Plants* 3:310–332.

- [52]- Edziri H, Mastouri M, Ammar S et al (2008) Antimicrobial, antioxidant, and antiviral activities of *Retamaraetam* (Forssk.) Webb flowers growing in Tunisia. *World J Microbiol Biotech* 24:2933–2940.
- [53]- Omara EA, Shaffie NM, Et-Toumy SA, Aal WA (2009a) Histomorphometric evaluation of bone tissue exposed to experimental osteoporosis and treated with *Retamaraetam* extract. *J ApplSci Res* 5(7):706–716.
- [54]- Kirkbride JH, Gunn CR, Weitzman AL (2003) Fruits and seeds of genera in the subfamily Faboideae (Fabaceae), vol 1. United States Department of Agriculture, Beltsville
- [55]- Greuter W, Burdet HM, Long G (1989) Med-checklist: a critical inventory of vascular plants of the circum-mediterranean countries, vol 4. Conservatoire et Jardins botaniques de la ville de Genève, Switzerland.
- [56]- Abdellaoui R, Yahyaoui F, Neffati M (2014) Population structure and genetic diversity of a medicinal plant species *Retamaraetam* in Southern Tunisia. *Pak J BiolSci* 17:182
- [57]- Beniston.NT-WS ; 1985.fleurs d'Algérie. Entreprise nationale des arts graphiques. éd, Reghaia.Algérie , 112p
- [58]- Quezel et Santa ; 1962.Nouvelle flore de l'Algérie. Tome I.p156-162
- [59]- Selami.N;2000. Contribution à l'étude de rétama monosperma étude du système racinaire et recherche des association de type Rhizobium. Mémoire d'ingénieur en bio technologie.USTO.ORAN .38P
- [60]- Stocker, 1974. In *Bouedje.n, 2005, étude anatomique et biochimique des protéines et des acides aminés foliaires de Rétama monosperma(boiss) : mémoire de magistère . UNIV.des sciences et de la technologie d'Oran MOHAMED BOUDIAF (U.S.T.O) Oran*
- [61]- Teixidor-Toneu I, Martin GJ, Ouhammou A (2016) Anethnomedicinal survey of a Tashelhit-speaking community in the High Atlas, Morocco. *J Ethnopharmacol* 188:96–110
- [62]- Touati R, Santos SA, Rocha SM et al (2017) Phenolic composition and biological prospecting of grains and stems of *Retamasphaerocarpa*. *Ind Crop Prod* 95:244–255.
- [63]- Van der Bank H, Greenfield R. A pioneer survey and DNA barcoding of some commonly found gastropod molluscs on Robben Island. *ZooKeys*. 2015; 481, 15–23. 10.3897/zookeys.481.8188
- [64]- Ressigle, H., Danesch, E. et O. 1987. Flore méditerranéenne. Berne : Hallwag SA traduit de l'allemand par M. M. Duckert et C. Favarger, traduction française : Payot Lausanne n° 85-86-87.
- [65]- Anonyme1 : https://fr.wikipedia.org/wiki/Oued_Nini
- [66]- anonyme 3 : © Bernadette Huynh-Tan / CBNMED.
- [67]- Anonyme 4 :© Jean-Claude Arnoux / CBNMED.
- [68]- Mohammedi Zohra. (2012). Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud-Ouest de l'Algérie .Thèse de Doctorat. Université Abou BekrBelkaid Tlemcen. 34-35p.
- [69]- Mohammedi, Z. (2013). *Etude phytochimique et activités biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie* (Doctoral dissertation).
- [70]- Croteau R., Kutchan T.M., Lewis N.G. (2000). Natural Products (Secondary metabolites). *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*, Buchanan B., Grissem W, Jones R. (eds). Americ. Soc. of Plant Physiologists. 1250-1318
- [71]- Iserin, P. (2001). Larousse encyclopédie des plantes médicinales. *Identification, Préparations, soins. 2nd edition, Dorling Kindersley Limited, Londres.*

[72]- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenyl picrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol*, 26(2), 211-219.

[73]- Parejo, I., Viladomat, F., Bastida, J., Rosas-Romero, A., Flerlage, N., Burillo, J., & Codina, C. (2002). Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and nondistilled Mediterranean herbs and aromatic plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(23), 6882-6890.

[74]- Ferrari, J. (2002). *Contribution à la connaissance du métabolisme secondaire des Thymelaeaceae et investigation phytochimique de l'une d'elles: "Gnidia involucreta" Steud. ex A. Rich* (Doctoral dissertation, Université de Lausanne, Faculté des sciences)

[73]- Von Oettingen, W.F. (1958). *Poisoning- A Guide to Clinical Diagnosis and Treatment*. 2nd edition, W.B. Saunders Co., Philadelphia, p.322.

[74]- Invest in Algeria ; Wilaya de Djelfa ; Andi ; 2013 ; p04

[75]- Invest in Algeria ; Wilaya de Djelfa ; Andi ; 2013 ; p07

[76]- Invest in Algeria ; Wilaya de Djelfa ; Andi ; 2013 ; p14

[77]- Stover C, Pham X, Erwin A et al. Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, an opportunistic pathogen. *Nature* 2000; 406(6799): 959-64.

[78]- Stover C, Erwin A, Mizoguchi S, Warren P, Hickey M, Brinkman F, Hufnagle W, Kowalik D, Lagrou M, Garber R, Goltry L, Tolentino E, Westbrook-Wadman S, Yuan Y, Brody L, Coulter S, Folger K, Kas A, Larbig K, Lim R, Smith K, Spencer D, Wong G, Wu Z, Paulsen I, Reizer J, Saier M, Hancock R, Lory S et Olson M. Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, an opportunistic pathogen. *Nature* 2000; 406 (6799): 959-64.

[79]- http://www.nasa.gov/mission_pages/station/research/experiments/Microbe.html.

Consulté le 08/10/18

[80]- Peacock SJ, de Silva I, Lowy FD. What determines nasal carriage of *S. aureus*? *Trends Microbiol* 2001; 9: 605-10.

[81]- Prévost G. Toxins in *S. aureus* pathogenesis. In: Proft (Ed.), *Microbial toxins: molecular and cellular biology*, Horizon Bioscience, Norfolk, England, ISBN: 1-904933-08-04 (2004): 243-84.

[82]- Ferron A. *Bactériologie médicale à l'usage des étudiants en médecine*. La Madeleine: C&R, 1984

[83]- Lowy FD. *S. aureus* infections. *N Engl J Med* 1998; 339(8):520-32.

[84]- Verhoeven P O, Grattard F, Carricajo A, et al. Quantification by realtime PCR assay of *S. aureus* load: a useful tool for rapidly identifying persistent nasal carriers. *J Clin Microbiol* 2012; 50: 2063-5.

الملخص.

تكون هذا العمل من توصيف المستخلص المائي للنباتات *Retama dasycarpa* و *Thymelaea hirsuta* العفوية في الجلفة. يتم حصاد المادة النباتية وتجفيفها وطحنها إلى مسحوق لزيادة محصول المستقلبات الثانوية. ينتج المستخلص المائي عن نتيجة *Retama dasycarpa* و *Thymelaea hirsuta* 0.93% و 1.74% على التوالي ، مما يشير إلى أن *Thymelaea hirsuta* أكثر ربحية من *Retama dasycarpa* . فحص كيميائي نباتي أظهر وجود مركبات الفلافونويد والعفص والصابونين. يحتوي *Retama dasycarpa* أيضًا على مستوى منخفض من الكومارين بينما تم إثبات خلو *Thymelaea hirsuta* من هذه المجموعة من المركبات. تم النظر في تقييم التأثير المضاد للميكروبات للمستخلصات المأخوذة من *Retama dasycarpa* و *Thymelaea hirsuta* في هذه الدراسة. كانت الكائنات الحية الدقيقة المستهدفة هي *Pseudomonas aeruginosa* و *Staphylococcus aureus* ، وهما نوعان من البكتيريا المرضية الانتهازية. لم يتم تنفيذ هذا الجزء بسبب الأزمة الصحية المرتبطة بوباء كوفيد 19.

الكلمات المفتاحية: المستخلصات النباتية، الفحص الكيميائي النباتي، *Retama dasycarpa* ، *Thymelaea, hirsuta* ، قوة مضادات الميكروبات ، *Pseudomonas aeruginosa* ، *Staphylococcus aureus*.

Résumé

Ce travail consiste à caractériser l'extrait végétal aqueux de *Retama dasycarpa*, et *Thymelaea hirsuta* plantes spontanées de Djelfa. Le matériel végétale est récolté séché et broyé en poudre afin d'augmenter le rendement en métabolites secondaires. Les résultats de rendement d'extrait aqueux de *Retama dasycarpa*, et *Thymelaea hirsuta* sont de l'ordre 0,93% et 1,74% respectivement, ce qui indique que la *Thymelaea hirsuta* est plus rentable que *Retama dasycarpa*. Le screening phytochimique qui a révélé la présence des flavonoïdes, des tanins, et des saponines. *Retama dasycarpa* renferme également un faible taux de coumarine tandis que *Thymelaea hirsuta* s'est révélée exempte de cette famille de composés.

L'évaluation de l'effet antimicrobien des extraits obtenues à partir de *Retama dasycarpa*, et *Thymelaea hirsuta* été envisagé dans cette étude. Les microorganismes ciblés étaient *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*, deux espèces bactériennes pathogènes opportunistes. Cette partie n'a pas été réalisée par le fait de la crise sanitaire liée à la pandémie du Covid 19

Mots clés : Extraits végétaux, screening phytochimique, *Retama dasycarpa*, *Thymelaea hirsuta*, pouvoir antimicrobien, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*.

Abstract

This work consists in characterizing the aqueous plant extract of *Retama dasycarpa*, and *Thymelaea hirsuta* spontaneous plants of Djelfa. The plant material is harvested, dried and ground into a powder to increase the yield of secondary metabolites. The aqueous extract yield results of *Retama dasycarpa*, and *Thymelaea hirsuta* are in the order of 0.93% and 1.74% respectively, indicating that *Thymelaea hirsuta* is more profitable than *Retama dasycarpa*. Phytochemical screening which revealed the presence of flavonoids, tannins, and saponins. *Retama dasycarpa* also contains a low level of coumarin while *Thymelaea hirsuta* has been shown to be free from this family of compounds. The evaluation of the antimicrobial effect of extracts obtained from *Retama dasycarpa*, and *Thymelaea hirsuta* was considered in this study. The target microorganisms were *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*, two opportunistic pathogenic bacterial species. This part was not carried out due to the health crisis linked to the Covid 19 pandemic .

Keywords: Plant extracts, phytochemical screening, *Retama dasycarpa*, *Thymelaea hirsuta*, antimicrobial power, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*.

