



**RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE  
DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT**



**SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITÉ D'OUARGLA  
FACULTE DES MATHÉMATIQUES ET DES SCIENCES DE LA  
MATIÈRE  
DÉPARTEMENT DE CHIMIE  
MEMOIRE**

**pour l'Obtention du diplôme de Master Académique**

**Spécialité: Chimie**

**Option: chimie des produits naturels**

**Par: MAZOUZI Nassira; KORICHI Maria**

**Evaluation de l'activité antioxydant et l'activité  
antibactérienne de plante médicinale au sud  
d'Algérie**

**Soutenu le : 04/07/ 2019 devant la commission d'examen:**

BELFAR Mohamed Lakhdar	<b>M.C.A</b>	<b>Président</b>
SMARA Ouanissa	<b>M.C.A</b>	<b>Examineur</b>
RAHMANI Zehour	<b>M.C.A</b>	<b>Rapporteur</b>
BEN FERDIA Saida		<b>Co-rapporteur</b>

**Année universitaire: 2018/2019**

## *Dédicaces*

*Je dédie ce travail :*

*A mon très cher père **FOUAD***

*A la plus chère au monde, ma mère **SAIDA***

*Qui ont sacrifié leur vie pour notre réussite.*

*J'espère qu'un jour je pourrai leur rendre un peu de ce qu'ils ont fait pour moi, que dieu leur prête bonheur et longue vie.*

*A mes belles sœurs **MIMOUNA, REKIA, ASSIA**  
et **KHADOUJA***

*A mon chère frères **ABD-el-Halim***

*A mes autres sœurs :, **NADJOUA, KELTOUM,**  
**ASMA, LATIFA, YOUSRA***

*A mes tantes et mes oncles*

*A toutes Les membres des familles **KORICHI***

*A tous mes amis et collègues et surtout  
**FATMA , HIND, SAFIA , ASMA, HASNA,**  
**ELHADJA, SIHAM, RADIA, CHAHRA,**  
**BELKISSE***

*A toute personne qui me connaît.*

***MARIA***

## *Dédicaces*

*C'est avec l'aide et la grâce du Dieu que j'ai achevé ce modeste travail que je dédie :*

*A ma très chère mère **ZAHRA***

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

*Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte.*

*A mon très cher père **MOAHD***

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.*

*A mes frères et sœurs*

*A mes sœur **J.MANE, ASMA, SADIJDA***

*A mes frère **SAAD, YOUSSEF, ZIAJD***

*A mes ma grande mère **ZAHRA***

*A mes tantes et mes oncles*

*A toutes les membres des familles **MAZOUZI et KADRI***

*A tous mes aînés et collègues et surtout*

***DALILA, AMAL, AMAL, FATIHA, FAHANI, KOULFHOME,  
SAMRA, BOUJHAINA, FATOU, NAJISA, IBTISSAME, RIMA***

*A le mari ma sœur **ABDE AL-SLAME***

*C'est pour un grand honneur de vous voir siéger dans notre mémoire de master.*

***NASSIR***

## *Remerciement*

*Nous remercions tout d'abord ALLAH le tout puissant de nous avoir donné la santé, la patience, la puissance et la volonté pour réaliser ce travail. Les travaux de notre mémoire sont réalisés au sein du laboratoire pédagogique de l'Université Kasdi Merbah-Ouargla.*

*Nous remercions donc les directeurs successifs du laboratoire pour nous avoir bien accueillis.*

*Nous remercions ensuite les chercheurs du laboratoire de recherche scientifique de l'Université de Kasdi Merbah et le directeur, le Dr Hadjaj Mohammed. Nous souhaitons également remercier le personnel du laboratoire d'analyses médicales EL AMEL d'avoir accepté notre demande de tests, d'assistance et de conseils.*

*Ce travail n'aurait jamais pu aboutir sans l'aide moral et matériel de très nombreuses personnes.*

*Nous tenterons ici d'énumérer tous ce qui a apporté une pierre à la construction de ce mémoire.*

*Nous tenons à remercier très chaleureusement **RAHMANI Zehour** qui nous a permis de bénéficier de son encadrement: Les conseils qu'il nous a prodigué la patience, la confiance, qu'il nous a témoigné ont été déterminants dans la réalisation de notre mémoire.*

*Au même titre, nous remercions notre co-promotrice **Melle BENFERDIA Saïda**, qui a codirigé ce travail, Ses connaissances en chimie, sa gentillesse, sa disponibilité, son soutien et son enthousiasme ont fortement contribué à notre formation.*

*Nous remercions les enseignantes: **Dr. BELFAR MED Lakhdar** et **Dr. SMARA Ouanissa** pour avoir accepté d'évaluer ce travail en dépit de leurs nombreuses autres obligations.*

*Nous aimerons également exprimer ma gratitude à tous nos professeurs de graduation de l'université de Ouargla, un grand merci pour vous nos professeurs: **DENDOUGUI Houcine**, **DEKMOUCHE Messouda** et **ALAWI Messouda**, **ZENKJRI Louisa**, **BENSACI Chaima**. Nous remercions beaucoup, pr **HADJ MAHAMMED MAHFOUD**.*

*En fin, nous tenons à remercier tous ceux qui de près et de loin ont contribué à la réalisation de ce travail.*

*Nous remercions également tous ceux qui ont contribué à l'échange de conseils et de conseils, en particulier l'assistance d'un fils heureux et des travailleurs du laboratoire Anisa, Hanan, Ramadan et Abbas, très reconnaissants.*

*"Une bonne amie est difficile à trouver, difficile à perdre et impossible à l'oublier."*

*Nacira et Maria*



---

## Liste des figures

---

N°	Figure	Page
<b>Chapitre I</b>		
<b>Généralités sur Astragales Gombo F.</b>		
1	Famille fabaceae	6
2	Carte de répartition géographique des Fabacées (en rouge).	7
3	astragalus gombo.	9
4	les fruits d'astragalus gombo.	9
5	les feuilles d'astragalus gombo.	9
6	structure des Saponosides de type cycloartane.	12
7	Structure des Saponosides de type oléanane.	12
8	Structure des Flavonoïdes.	13
9	Structure des autres composés.	13
<b>Les radicaux libres et l'activité antioxydant et l'activité antibactérienne</b>		
1	micrographie d'Escherichia coli	24
2	Image sous les rayons lumineux UV de bactérie proteus	25
3	micrographie de bactérie proteus	25
<b>Chapitre III : Résultats et discussion</b>		
1	Variation de l'inhibition du OH. en fonction de la concentration des extraits	42
2	Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (vitamine C)	42
3	Activité chélatrice de quelques extraits de Astragalus gombo	44
4	Variation de l'inhibition du ABTS.+ en fonction de la concentration des extraits de tiges	45
5	Variation de l'inhibition du ABTS.+ en fonction de la concentration des extraits de feuilles	46
6	Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (vitamine C)	46
7.1	Résultats obtenus sur la boite pétrie de K.E.S	48
7.2	Résultats obtenus sur la boite pétrie d'Escherichia coli	48
7.3	Résultats obtenus sur la boite pétrie d' protuxe	49

---

---

## Liste des tableaux

---

N°	Tableau	Page
Chapitre I		
1	classification d'antioxydant enzymatique et non enzymatique	19
Chapitre II: matériels et méthodes		
1	Provenance des germes étudiés	36
Chapitre III : Résultats et discussion		
1	Screening chimique de Astragalus gombo	39
2	Les résultats des Rendement des extraits	40
3	Résultats de l'activité antioxydant évaluée par le test OH	42
4	Résultats de l'activité chélatrice de quelques extraits de Astragalus gombo	44
5	Résultats de l'activité antioxydant évaluée par le test ABTS	47
6	Diamètres (mm) des zones d'inhibition des extraits de feuille et tige de la plante Astragalus gombo.	48

---

---

## Liste des abréviations

---

<b>OH·</b>	radicaux hydroxyles
<b>O<sub>2</sub><sup>-</sup></b>	L'anion superoxyde
<b>O</b>	Oxygène singule
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Peroxyde d'hydrogène
<b>R-OOH</b>	Peroxydes organiques
<b>NO</b>	oxyde nitrique
<b>Fe<sup>3+</sup></b>	Triple fer
<b>Fe<sup>2+</sup></b>	Duo de fer
<b>SOD</b>	Super oxyde dismutase
<b>ROS</b>	Radicaux libres oxygénés
<b>Cyt c</b>	cytochrome C
<b>RNS</b>	Radicaux libres azotés
<b>RNSO</b>	S-nitroso thiols
<b>GSH</b>	Glutathion peroxydase
<b>CAT</b>	Catalase
<b>ADN</b>	Anime Digital Network
<b>A. Gombo</b>	Astragalus gombo
<b>F</b>	<i>Feuilles</i>
<b>T</b>	<i>Tiges</i>
<b>pH</b>	<i>Potentiel d'Hydrogène</i>
<b>AEAC</b>	<i>Acide ascorbique Equivalent Antioxydant Capacité</i>
<b>Abs</b>	<i>Absorbance</i>
<b>CI50</b>	<i>Concentration d'inhibition à 50%</i>
<b>EDTA</b>	2,2',2'',2'''-(1,2-Ethanediyldinitrilo)tetraacetic acid
<b>ABTS</b>	Acide 2,2'-azino-bis-3-éthylbenzthiazoline-6-sulfonique
<b>E. coli</b>	Escherichia coli
<b>K. E. S</b>	Klebsella Enterobacter Serrtia

---

Sommaire

---



Titre	Page
Dédicace	I
Remerciements	II
Liste des figures	III
Liste des tableaux	IV
Liste Abréviations	V
Sommaire	VI
Introduction générale	1
<b>Chapitre I: Partie théorique</b>	
I.1. Présentation de la région d'étude Vallée du Oued N'sa	5
I.1.1 La famille fabaceae	6
I.1.1.1. Répartition géographique des Fabaceae	6
I.1.1. 2. Importance des Fabaceae	6
I.1.1.3. classification de la famille fabaceae	7
I.1.2. présentation du genre astragalus	7
I.1.3. Rappel botanique d'astragalus gombo	8
I.1.4. Propriétés biologiques et pharmacologiques du genre Astragalus	9
I.1.4.1. Utilisation en médecine traditionnelle	9
I.1.4.2. l'activité biologie	10
I.1.4.3. Activités Pharmacologiques du genre astragalus	10
I.1.4.4. Etudes phytochimiques antérieures sur le genre Astragalus	10
I.1.4.4.1. Saponosides de type cycloartane	10
I.1.4.4.2. Saponosides de type oléanane	11
I.1.4.4.3. Flavonoïdes	11
I.1.4.4.4. Autre composés	11
I-2.1. Les radicaux libres	15
I.2.1.1. Radicaux hydroxyles $OH^{\cdot}$	15
I.2.1.2. Anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$ :	15
I.2.1.3. Oxygène singulet O	16
I.2.1.4. Peroxyde d'hydrogène $H_2O_2$	16

<b>I.2.2. Production des radicaux libres</b>	16
<b>I.2.2.1. Méthodes physiques</b>	16
<b>I.2.2.2. Méthodes chimiques</b>	16
<b>I.2.2.3. Méthodes électrochimiques</b>	16
<b>I.2.3. Radicaux libres en biologie</b>	17
<b>I.2.3.1. Radicaux libres oxygénés (ROS)</b>	17
<b>I.2.3.2. Radicaux libres azotés (RNS)</b>	17
<b>I.2.3.3. Radicaux libres à partir de Flavines et Quinones</b>	18
<b>I.2.4. Activité antioxydant</b>	18
<b>I.2.4.1. Historique</b>	18
<b>I.2.4.2. le stress oxydatif</b>	18
<b>I.2.4.3. Classification d'antioxydants</b>	18
<b>I.2.4.3.1. Antioxydants enzymatiques et non enzymatiques</b>	19
<b>I.2.4.3.2. Antioxydant dérivé de sources naturelles et alimentaires</b>	20
<b>I.2.4.3.3. Antioxydants basés sur le mécanisme de défense</b>	21
<b>I.2.5. Activité antibactérienne</b>	21
<b>I.2.5.1. Définition</b>	21
<b>I.2.5.2. Classification des bactéries</b>	22
<b>I.2.5.2.1. en fonction de la répartition de leurs poids</b>	22
<b>I.2.5.2.2. Selon la figure</b>	22
<b>I.2.5.2.3. au milieu où vous vivez</b>	22
<b>I.2.5.2.4. par nutrition</b>	22
<b>I.2.5.2.5. Par méthode de coloration (GRAM)</b>	23
<b>I.2.5.2.6. Selon leur effet sur l'homme</b>	23
<b>Chapitre II: matériel et méthode</b>	
<b>II. 1. Préparation des échantillons</b>	28
<b>II. 2. Screening phytochimiques</b>	28
<b>II.2.1. Test des phénols</b>	28
<b>II. 2. 2. Teste des flavonoïdes</b>	28
<b>II. 2. 3. Teste de stéroïdes</b>	28
<b>II. 2. 4. Teste des tanins</b>	28

<b>II. 2. 5. Teste des saponines</b>	28
<b>II. 2. 6. Teste des terpenoïdes</b>	28
<b>II. 2. 7. Teste des alcaloïdes</b>	29
<b>II. 2. 8. Teste des composés réducteurs</b>	29
<b>II. 2. 9. Teste des Cardénolides</b>	29
<b>II. 2. 10. Teste des protéines</b>	29
<b>II.2.11. Test de quinone libre</b>	29
<b>II. 3. Extraction des composés phénoliques</b>	29
<b>II. 4. Etude quantitative</b>	31
<b>II. 4. 1. Calcules de rendement</b>	31
<b>II. 4. 2. Détermination de la concentration en composés phénoliques totaux (TPC, Total Phenolic Content)</b>	31
<b>II.4.3. Activité antioxydant</b>	32
<b>II.4.3.1. Test de balayage des radicaux hydroxyles</b>	32
<b>II.4.3.2. Activité de chélation des métaux</b>	33
<b>II.4.3.3. Test de balayage radical ABTS</b>	34
<b>II.4.4. Activité antibactérienne</b>	35
<b>II.4.4.1 Identification des souches bactériennes utilisées dans l'étude</b>	35
<b>Chapitre III : Résultats et discussion</b>	
<b>III.1. Tests phytochimiques</b>	39
<b>III.2. Extraction des composés phénoliques</b>	40
<b>III.3. Analyse quantitative</b>	40
<b>III.3.1. Dosage de polyphénols totaux</b>	40
<b>III.3.2. Activité antioxydant</b>	41
<b>III.3.2.1. Test de balayage des radicaux hydroxyle (OH.)</b>	41
<b>III.3.2.2. Chélation de fer</b>	43
<b>III.3.2.3. Test inhibition de ABTS.+</b>	45
<b>III.3.3. Evaluation l'activité antibactérienne</b>	48
<b>Conclusion</b>	51
<b>Références</b>	53



# *Introduction General*

## **Introduction Générale**

Etant donné l'intérêt immense que suscite actuellement l'emploi des plantes médicinales à travers le monde pour combattre diverses maladies ou préserver la santé de l'être humain.

En Afrique, l'utilisation des plantes médicinales est restée depuis des siècles le système de santé le moins cher et par conséquent le plus accessible. Ces plantes contribuent de façon significative à la vie des populations rurales et à l'équilibre sociétal en Afrique, particulièrement parmi les franges de la société les plus démunies [1-2].

L'Algérie est un pays riche en ces plantes médicinales, qui jouent un rôle important dans les domaines de la médecine traditionnelle en raison de la présence d'un métabolisme secondaire et d'autres avantages thérapeutiques des plantes médicinales pour l'homme.

La famille fabaceae( légumineuses) est l'une des plus grandes familles regroupant le plus grand nombre d'espèces différentes qui présentent de nombreux avantages dans divers domaines (médecine traditionnelle, industries, etc.). Parmi ces races et le plus important, l'astragale sexuelle, qui contient Plus de 3000 espèces en particulier *Astragalus gombo*. Surtout dans les zones arides et semi-arides, qui sont irriguées par des vallées. De nombreuses espèces utilisent ce type en médecine traditionnelle. Contient de nombreuses molécules. Les activités thérapeutiques sont dotées et largement utilisées comme anti-inflammatoires, diurétiques et autres.

Certainement, c'est l'expérience où les gents apprécient les vertus apaisantes et analgésiques des plantes. A travers les siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales pour objectif de vaincre la souffrance et d'améliorer la santé humaine [3].

Actuellement, la société scientifique, biologiste et chimiste, met en évidence le rôle tragique du processus oxydatif incontrôlable induit par les espèces réactives oxygénées (ERO). Ces oxydants sont à l'origine directe de différents états pathologiques tels que le vieillissement et le cancer et indirecte sur la peroxydation des lipides des denrées alimentaires. Quelque soit le cas, le risque est aggravé avec l'accumulation de ces molécules dans l'organisme en aboutissant à une chaîne réactionnelle radicalaire qui dégrade les molécules vitales biologiques à savoir l'ADN, les lipides, les protéines et les glucides. En appuyant sur cette vision, un renouveau de la phytothérapie vers cette vague verte qui produit une foule des antioxydants afin de contrer et piéger ces oxydants [3].

L'objectif de notre contribution à ce travail de recherche consiste à la valorisation de la flore de la région de sud-est algérien par la recherche de composés qui peuvent trouver une utilisation

thérapeutique. Pour cela, une plante de la famille fabaceae savoir *Astragalus gombo* fait l'objet de notre étude. Où nous avons traité dans ce travail deux parties :

La première chapitre consiste de deux parti sont :

La première partie centré dans généralité sur *l'astragalus gombo* est présentée les aspects botaniques et phytochimiques de la plante et leur utilisation traditionnel bien que le deuxième partie consiste les radicaux libres et l'activité biologique (l'activité antioxydant et l'activité antibactérienne) in vivo .

Le deuxième chapitre volet de notre travail concerne (la partie expérimentale) qui renferme le screening chimique des extraits, ainsi que l'étude de l'activité antioxydant par des méthodes spectrophotométriques, et l'activité antibactérienne.

Le troisième chapitre est consacré à la présentation, l'analyse et l'interprétation des résultats de l'étude phytochimique et des tests antioxydantes sur les extraits.

En fin, dans la conclusion générale nous présentons un résumé sur l'ensemble des résultats obtenus.



## *Partie I : théorique*



# *Chapitre 1*

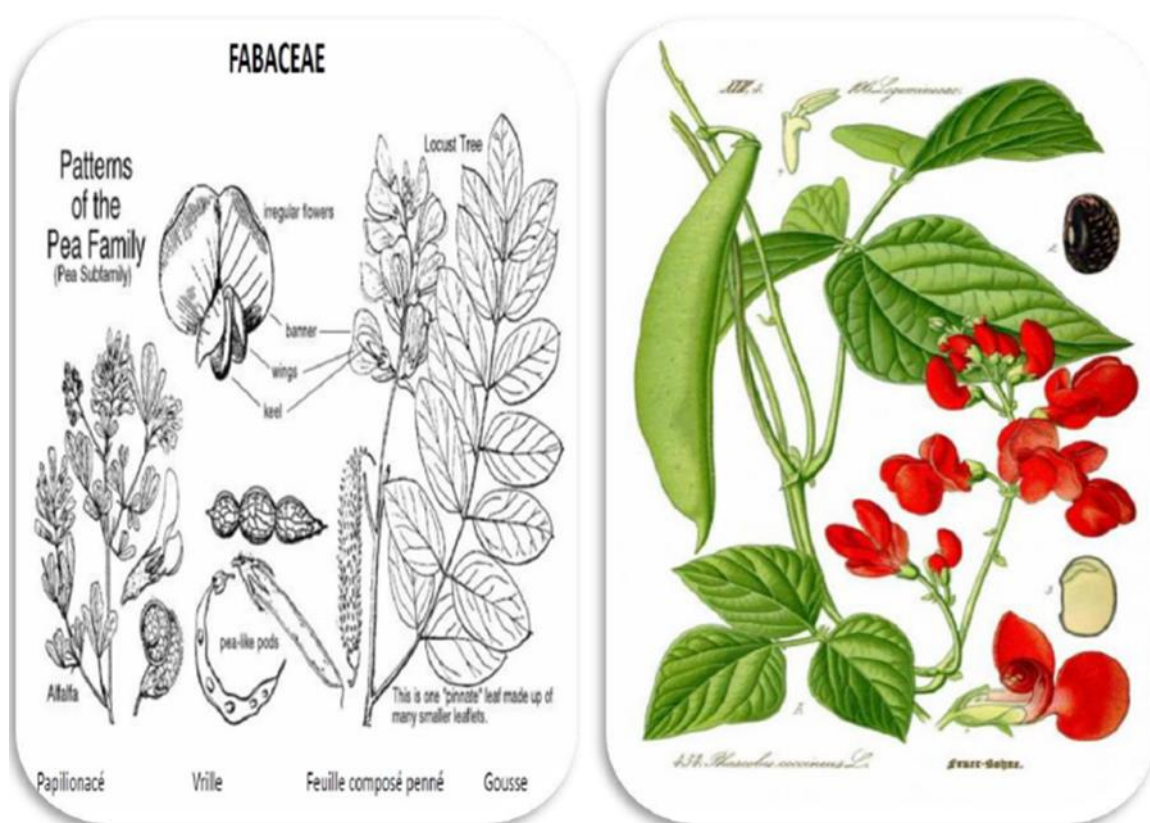
## *Généralités sur Astragales Gombo*

La plante de présente travail est récoltée à la région de vallée du Oued N'sa exactement à Ouargla, voici les caractéristiques de cette vallée :

### I.1.La famille fabaceae

La famille Fabaceae c'est une des grandes familles de plantes à fleurs dans le monde après les Orchidées et les Astéracées [4], Ils sont présents sur tous les continents, des climats froids aux climats chauds .Les Fabaceae sont la famille la plus nombreuse et la plus évoluée de l'ordre. Elle est en pleine extension.

Les membres de Fabaceae sont dominants dans la végétation herbacée des chaînes de Balaghat. Les légumineuses des chaînes de Balaghat ont de nombreuses utilisations réelles et potentielles telles que la nourriture, le fourrage et les sources d'huile comestible, les colorants naturels, les lubrifiants industriels, le bois et les médicaments. Environ 19 taxons de légumineuses sont des espèces sauvages apparentées à la nourriture et les cultures fourragères ont une résistance aux parasites et aux maladies, et des stress abiotiques tels que la sécheresse et la salinité peuvent être utilisés pour améliorer les cultures [4]



**Figure.I.1** : Photo d'une plante de la famille fabaceae.

### I.1.1. Répartition géographique des Fabaceae

Le principal centre de la diversité des *Fabacées* est situé en Amérique du centre et du sud. D'autres centres de la diversité sont localisés également en Afrique et en Asie. En général, les *Fabacées* sont distribuées dans tous les biomes terrestres. Leur répartition est cependant variable selon la sous-famille. Les *Faboidées* sont cosmopolites et se retrouvent presque dans tous les milieux du globe terrestre. Les *Cesalpinioideae* occupent surtout les régions tropicales et subtropicales de l'Amérique, de l'Afrique et de l'Asie. Les *Mimosoideae* dominent les régions tropicales et subtropicales, colonisent aussi les zones arides et semi-arides de l'Afrique, de l'Amérique et de l'Australie « Figure I.1 » (Ndayishimiye, 2011).



**Figure I.2:** Carte de répartition géographique des *Fabacées* (en rouge).

Aussi, cette plante est existée à l'Algérie.

#### I.1.1.1. Présentation de la région d'étude Vallée du Oued N'sa

Oued N'sa est une vallée qui rencontre sept vallées, une vallée qui suit d'en haut (Hassi al-Dala'a) dans la wilaya d'Al-Laghout pour traverser la ville de Berriane en direction de la qibla, puis rejoindre la vallée de Rawi et les autres vallées. Thalassa (à environ 50 km).

Alors que cette vallée est en train de récolter, les hautes montagnes dont elle est la source ont commencé à irriguer les plantes existantes qui constituent une source fertile de pâturage.

#### I.1.1.2 Importance des Fabaceae

Certaines spontanées ou cultivées les *Fabacées*, au point de vue de leurs propriétés, ont un haut intérêt économique et médical. Elles fournissent de nombreuses substances alimentaires, des substances médicales, des bois magnifiques pour la construction, des substances tinctoriales, des gommes et des résines, etc.

Sur le plan agricole dans le monde entier. Les Fabacées herbacées cultivées dans les régions tempérées peuvent jouer un rôle important comme engrais vert ou l'assurance du sol pour réduire l'érosion [5]. Depuis longtemps, les paysans ont appris que lorsqu'une terre a été épuisée par la culture répétée d'une plante tel que le blé, on peut la rendre fertilisante en l'ensemencant d'une légumineuse fourragère telle que la luzerne, le trèfle, le lupin.

### ***1.1.1.3.classification de la plante Astragalus gombo***

<b>Règne :</b>	Plantae
<b>Embranchement :</b>	Spermatophyta
<b>Sous embranchement :</b>	Angiospermae
<b>Classe :</b>	Eudicotyledonae
<b>Sous-classe :</b>	Rosidae
<b>Ordre :</b>	Eurosidae I (Fabidées)
<b>Sous-ordre :</b>	Fabales
<b>Famille :</b>	Fabaceae (Leguminosae)
<b>Sous-famille :</b>	Faboideae
<b>genre :</b>	Astragalus gombo

### **I.1.2 présentation du genre astragalus**

Le genre *Astragalus* est le plus grand genre de la famille Fabaceae. *Astragalus L.* est l'un des plus grands genres de plantes à fleurs de la famille des légumineuses. Comme Herbes annuelles ou vivaces, arbustes ou arbustes, les plantes de *Astragalus L.* sont largement répandues dans toutes les régions tempérées et arides. Jusqu'à présent, on a estimé que le genre contenait 2000–3000 espèces et plus de 250 sections taxonomiques dans le monde [6].

Certaines espèces d'astragales d'Asie sont une source du produit naturel économiquement important, la gomme tragacathe. En outre, les racines séchées de certaines espèces cultivées en Asie de l'Est sont bien utilisées dans les cultures traditionnelles. Médicaments chinois (MTC) comme anti transpirants, diurétiques et toniques pour un large éventail de maladies telles que emprise, néphrite, diabète sucré, hypertension, cirrhose, leucémie et cancer de l'utérus [6].

Les racines séchées des espèces d'*Astragalus* sont un remède tonique ou adaptogène bien connu qui est largement utilisé pour améliorer la santé en général [4]. Les plantes ont également été utilisées pour le traitement du diabète, de la néphrite, de la leucémie, des ulcères d'estomac, de l'hypertension et de la bronchite chronique [8]

Les fonctions biologiques de divers composés phytochimiques d'*Astragalus L.* ont été largement étudiées par de nombreux chercheurs [1-3]. Les principaux ingrédients actifs se sont révélés être les saponines glycosides, les flavonoïdes et les polysaccharides [8]

### I.1.3. Rappel botanique d'*Astragalus gombo*

Plante vivace, originaire du Nord et de l'Est de la Chine jusqu'en Mongolie, elle pousse sur les rivages, les estuaires et les forêts de pins en Asie et atteint une hauteur d'environ 60-150 cm. Elle appartient à la même famille des pois, les Fabacées ou Légumineuses. Sa tige velue porte de nombreuses feuilles pennées, formées de 12 à 18 paires de folioles. La fleur de l'astragale est de couleur jaune pâle et forme des grappes. Le fruit est une petite gousse. Les racines sont des éléments cylindriques, flexibles, souvent ramifiées, s'épaississant vers le haut, d'une longueur de 30 à 90 cm et d'un diamètre de 1 à 3,5 cm. La surface externe est jaune-brun pâle ou brun pâle, parcourue de rides et de sillons longitudinaux irréguliers, à la texture dure et coriace, difficile à briser. Les racines sont les parties utilisées en thérapeutique [9-10].



Figure I.3 : *Astragalus gombo*.



Figure.I.4 : les fruits d' *Astragalus gombo*.



**Figure.I.5 : les feuilles d' *Astragalus gombo*.**

#### **I.1.4. Propriétés biologiques et pharmacologiques du genre *Astragalus* :**

##### **I.1.4.1. Utilisation en médecine traditionnelle :**

Plusieurs espèces d'*Astragalus* trouvent des applications en médecine traditionnelle et moderne. Les feuilles d'*Astragalus* sont utilisées en médecine traditionnelle.

En Chine, l'astragale est utilisé avec d'autres produits d'herboristerie pour traiter la baisse d'immunité cellulaire qui suit la chimiothérapie contre le cancer. Plusieurs constituants des Astragales pharmacologiquement actifs, tels que les hétérosides intinutritionable et les polysaccharides, ont des effets hépatoprotecteurs, immunostimulants et antiviraux.

En médecine chinoise traditionnelle, l'astragale ou Huang-qi est considéré comme un tonique du yang, et beaucoup de plantes de ce groupe semblent avoir un effet bénéfique sur le système immunitaire. (Le yang est une fonction vitale selon la médecine traditionnelle chinoise.)

L'astragale, employé dans le traitement de l'hépatite B et d'autres infections virales, fut l'une des premières plantes reconnues comme pouvant être utiles dans le traitement du VIH. Les praticiens de la médecine chinoise ont été les premiers à en arriver à cette conclusion. Bien qu'aucun test n'ait porté spécifiquement sur le traitement de personnes séropositives à l'aide de cette plante, des études relatives au traitement d'autres infections virales chez l'humain ont montré un accroissement du nombre de cellules immunitaires

En Turquie où ce genre est représenté par 380 espèces [11], les racines d'un certain nombre d'espèces sont utilisées pour le traitement de néphrites, diabète, leucémie et cancer utérin. Elles sont également utilisées pour leurs propriétés antitranspirantes, diurétiques et également toniques [12].

Au Burkina Faso de nombreuses espèces cultivées du genre *Astragalus* sont gombo avec une variété de formes et de couleurs de fruits et de tiges En tant que légumes frais trouvés en eux Tous les marchés en hiver et en l'état Sécher (tranches ou poudres séchées en tranches) pendant la saison sèche. Cela est dû à sa teneur élevée en gomme, à sa valeur marchande élevée et à son importance vitale dans l'alimentation urbaine et la campagne et nutrition des malades [13].

Au l'Algérie cette plante est un excellent pâturage pour les dromadaires.

### I.1.4.2.L'activité biologique :

La connaissance de la composition chimique de ces plantes et la détermination de leurs activités biologiques revêtent une importance capitale car leurs propriétés médicinales sont sûrement dues aux substances chimiques qu'elles renferment.

### I.1.4.3. Activités pharmacologiques du genre astragalus :

Le genre Astragalus semble très uniforme à partir de produits chimiques point de vue, avec deux types de principes actifs sur le plan pharmacologique et trois types différents de composés toxiques. Dans l'ancien groupe, les polysaccharides et les saponines se démarquent, et dans le second, les alcaloïdes de l'indolizidine, les composés nitro et les 3-nitropropyl glucosides et les composés du sélénium. Il y a d'autres composés intéressants, tels que les flavonoïdes sous formes libres et glycosidiques, les ptérocarpanes libres et les glycosides et organiques dérivés acides [14].

Les études chimiques sur les saponines d'Astragalus ont montré la présence de glycosides triterpénoïdes de type cycloartane qui ont été trouvés pour exercer des activités biologiques, par ex. effets anti-inflammatoires, analgésiques, diurétiques, hypotenseurs et sédatifs [14]

### I.1.4.4. Etudes phytochimiques antérieures sur le genre Astragalus

Les études chimiques du genre Astragalus effectuées dans le cadre d'études antérieures ont permis d'isoler et d'identifier différents types de métabolites secondaires, en particulier les triglycérides et les flavonoïdes.

#### I.1.4.4.1. Saponosides de type oléanane :

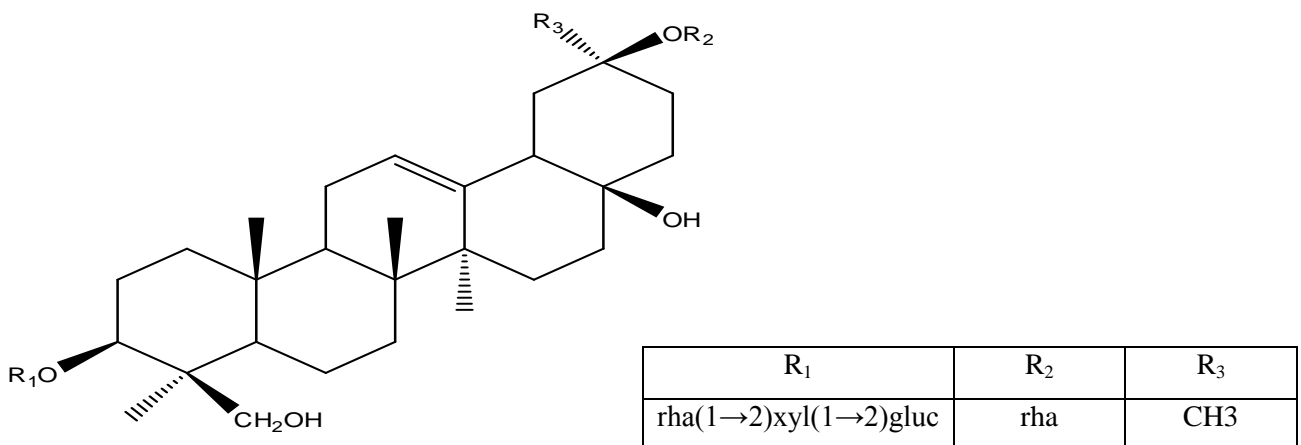
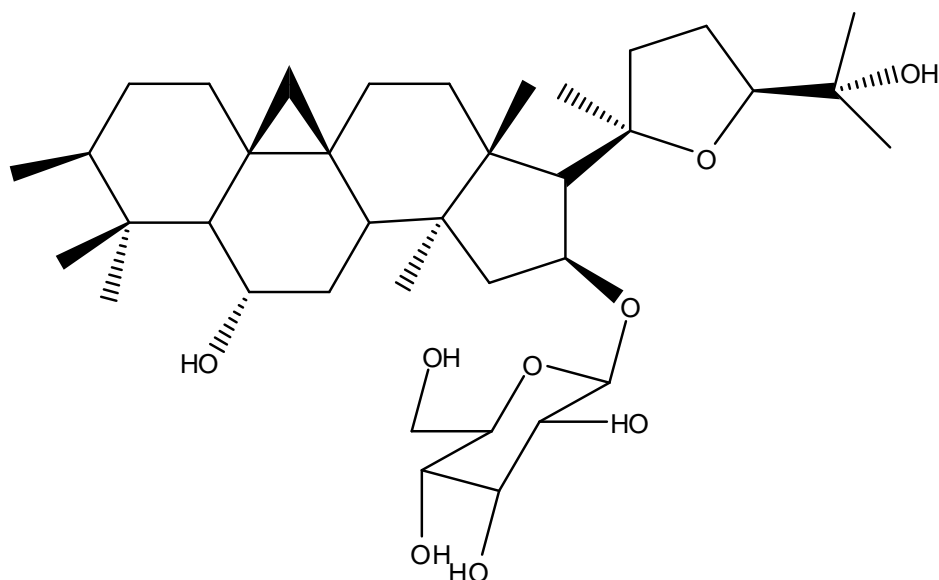


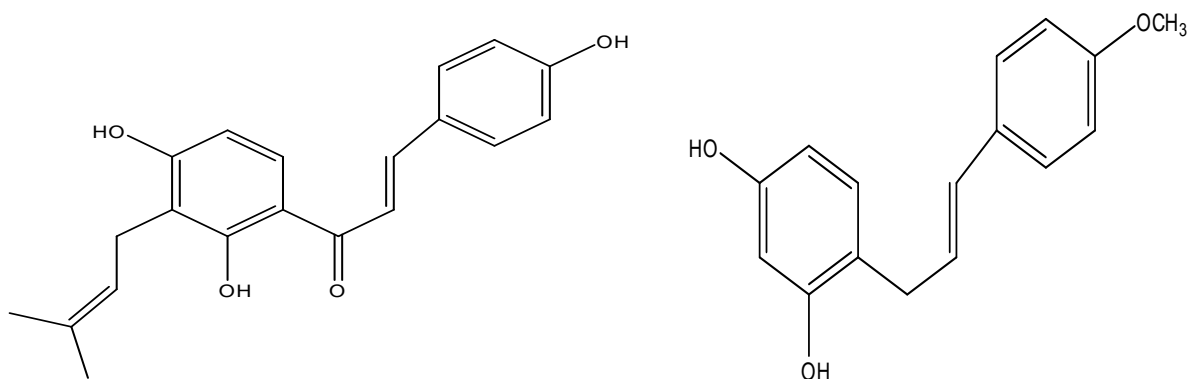
Figure.I.6: Structure des Saponosides de type oléanane.

#### I.1.4.4.2. Saponosides de type cycloartane



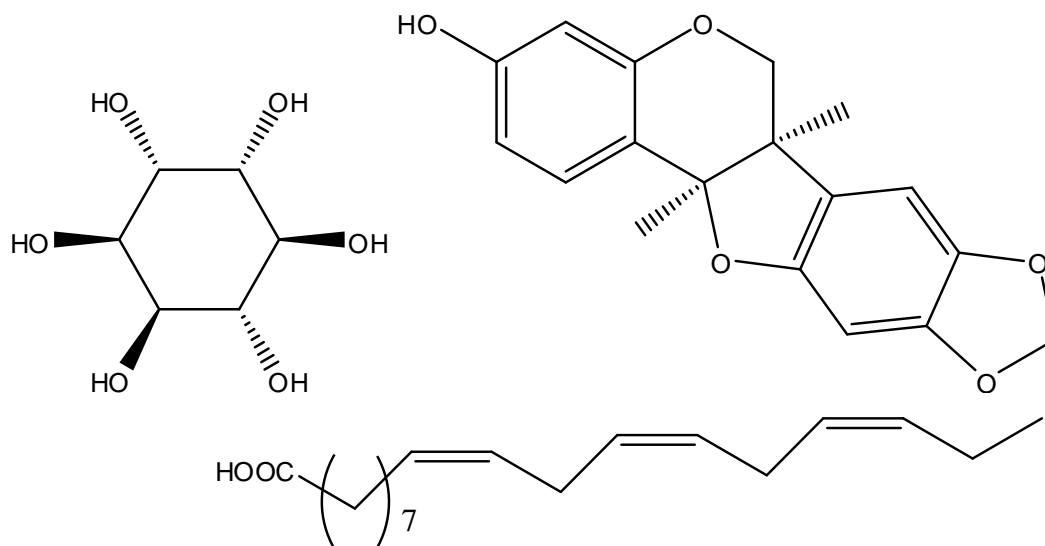
**Figure.I.7** : structure des Saponosides de type *cycloartane*.

#### I.1.4.4.3 Flavonoïdes :



**Figure.I.8** : Structure des Flavonoïdes.

#### I.1.4.4.4. Autre composés :





**Figure.I.9** : Structure des autres composés.

Les études précédentes sur la plante Astragalus Gombo ont montré que la plupart des recherches scientifiques portaient sur une activité antioxydant plus efficace des polysaccharides. Ce type de rapport d'isolation de composés d'Astragalus est donc très nul.

## *Chapitre 2 :*

# *Les radicaux libres et Activité antioxydant et L'Activité antibactérienne*

### I.2.1. Les radicaux libres

Un radical libre est un atome (par exemple, l'oxygène, l'azote) avec au moins un électron non apparié dans la coquille la plus externe, et est capable d'exister en tant que dépendante [13]. Un radical libre se forme facilement lorsqu'une liaison covalente entre des entités est rompue et qu'il reste un électron avec chaque atome nouvellement formé. Les radicaux libres sont très réactifs en raison de la présence d'électrons non appariés. Lorsque les radicaux libres volent un électron du composé ou de la molécule environnante, un nouveau radical libre se forme à la place. À son tour, le radical nouvellement formé cherche alors à retrouver son état fondamental en dérobant des électrons à spins anti-parallèles à partir de structures ou de molécules cellulaires [16].

Par exemple :

- Radicaux hydroxyles [ $OH\cdot$ ]
- Anion superoxyde [ $O_2^{\cdot-}$ ]
- Oxygène singulet [O]
- Peroxyde d'hydrogène [ $H_2O_2$ ]
- Peroxydes organiques [R-OOH] et Oxyde nitrique [NO]

#### I.2.1.1. Radicaux hydroxyles $OH\cdot$ (Le plus réactif des radicaux libres oxygénés).

Le radical hydroxyle est particulièrement délétère vis-à-vis des matériaux biologiques. Il peut se former par réaction du peroxyde d'hydrogène avec un ion ferreux (réaction de Fenton) ou par réaction du peroxyde d'hydrogène avec l'anion super oxyde (réaction de Haber-Weiss) ou sous l'effet de radiations ionisantes (rayons X ou gamma). De par sa demi vie courte environ une nanoseconde, et à la faible distance qu'il peut parcourir (moins de dix nanomètres), il diffuse peu et agit directement sur le site de production [17].

#### I.2.1.2. Anion superoxyde [ $O_2^{\cdot-}$ ] :

Il peut se former par réaction de l'oxygène avec un électron (généralement cet électron provient d'une fuite au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale, plus précisément l'accepteur terminal : le cytochrome oxydase du complexe IV de la chaîne de transport électronique de la membrane interne mitochondriale). Ainsi l'oxygène n'est réduit que partiellement : 2% de l'oxygène subit une réduction mono électronique au niveau de l'ubiquinone. L'efficacité de l'activité antioxydant de l'ubiquinone (Q) dépendrait du sort de la semiquinone (SQH) qui peut exercer une activité contraire (c'est-à-dire pro-oxydante) *via* la formation d'anion super oxyde. Le radical super oxyde est moins réactif que le radical hydroxyle, mais sa durée de vie est plus longue et il peut diffuser loin de son lieu de production. Ce radical a peu de cibles privilégiées

(les superoxyde dismutases, le cytochrome C, l'ascorbate), il réagit avec le peroxyde d'hydrogène pour fournir le radical hydroxyle en présence de Fe (III) [17].

### I.2.1.3. Oxygène singlet [ $O^1$ ]

C'est une molécule mise en état d'excitation par activation photochimique de l'oxygène.

$O^1$  est très instable. Il peut apparaître durant les cycles de peroxydation lipidique, amplifiant ainsi les processus d'autoxydation. Il se forme probablement au cours de l'attaque de l'eau oxygénée par la myéloperoxydase qui est une enzyme hémique présente en concentrations importantes ( $\pm 5$  % en poids) dans les granules primaires des cellules polymorphonucléaires neutrophiles, durant la phagocytose [17].

### I.2.1.4. Peroxyde d'hydrogène [ $H_2O_2$ ]

Ce n'est pas un radical libre à proprement parler mais une molécule car tous ses électrons périphériques sont appariés. Cependant, il peut générer des radicaux hydroxyles  $OH$ . En présence de cations métalliques tels que  $Fe^{2+}$  (réaction de Fenton), ou de  $Cu^+$  [17].

## I.2.2. Production des radicaux libres :

La principale voie de production des radicaux libres est la rupture homolytique d'une liaison covalente en deux entités possédant chacune un électron, les autres étant l'élimination ou l'addition d'un électron. Ces réactions sont endergoniques. Une fois produits, les radicaux sont souvent instables. Il faut donc des méthodes de détection adéquates [17].

Les méthodes utilisées pour produire des radicaux libres sont :

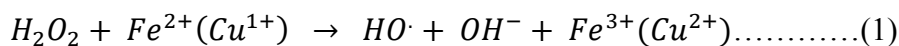
### I.2.2.1. Méthodes physiques

Thermolyse, photolyse, radiolyse et sonochimie.

### I.2.2.2. Méthodes chimiques

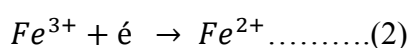
L'oxydoréduction : l'exemple le plus important est la réaction de Fenton. En 1876, H. J. H. Fenton décrivit l'oxydation de l'acide tartrique par addition de fer (II). Il mit en évidence l'action catalytique du fer en 1895. C'est une réaction qui permet la production du radical hydroxyle à partir du peroxyde d'hydrogène en présence d'un métal (Cu, Fe).

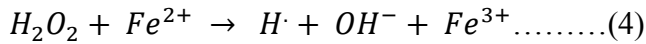
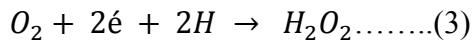
#### Réaction de Fenton :



### I.2.2.3. Méthodes électrochimiques

La production du radical hydroxyle ( $HO\cdot$ ) s'effectue par une réaction appelée Electro-Fenton. Elle consiste à réduire électrochimiquement via des électrodes de mercure ou de graphite le fer ferrique en fer ferreux et l'oxygène en peroxyde d'hydrogène. Ce système permet de produire les deux espèces nécessaires à la réaction de Fenton [17].





### I.2.3.Radicaux libres en biologie

La biochimie des radicaux libres est née en 1960, quand McCord et Fridovich montrent que l'anion super oxyde est sécrété en milieu vivant. En 1969, ces mêmes chercheurs découvrent le super oxyde dismutase (SOD). En 1970, Murad et Ignarro mettent en évidence les effets relaxants du monoxyde d'azote  $NO\cdot$ , ce qui leur vaut le prix Nobel de médecine en 1998.

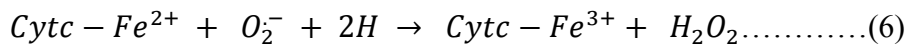
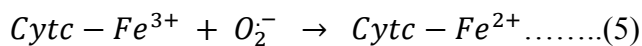
#### I.2.3.1.Radicaux libres oxygènes (ROS)

L'anion superoxyde  $O_2^-$  et sa forme acide ont une faible réactivité. En revanche et en présence de cation métallique, l'anion superoxyde  $O_2^-$  donne naissance au radical hydroxyle  $OH\cdot$  très réactif.

Lors de la respiration mitochondriale, le dioxygène se réduit en eau. Les étapes de la réduction sont de 1 ou 2 électrons, mais aucun intermédiaire moléculaire ou radicalaire ne devrait sortir. Or il se produit des fuites de radicaux  $O_2^-$  qui sortent dans le cytosol (1 à 2 %) du dioxygène respiré). L'autre source de ce radical est la NADPH oxydase, qui est exprimée par la plupart des cellules et en particulier dans les neutrophiles.

Dans le cytosol (pH = 7.4) les radicaux superoxydes sont sous forme déprotonée, ce sont des oxydants ou des réducteurs doux, peu réactifs avec les bio-polymères qui ne contiennent pas un cation métallique. A titre d'exemple, ces radicaux peuvent à la fois oxyder la forme réduite du cytochrome c (Cyt c) ou réduire sa forme oxydée [17].

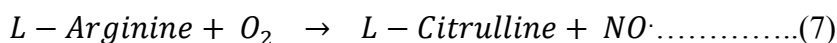
Oxydation et réduction du cytochrome C, Cyt c :



Du fait de leur constante de vitesse réactionnelle très élevée ( $>10 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{S}^{-1}$ ), les radicaux  $[OH\cdot]$  peuvent oxyder les protéines, les acides nucléiques et peroxyder les acides gras.

#### I.2.3.2.Radicaux libres azotés (RNS)

L'oxyde azotique  $ON\cdot$  est principalement produit par un système enzymatique, la NO synthèse, qui transforme l'arginine en citrulline en présence de la NADPH (1.5 équivalent) [17].



Il est aussi possible de le produire par réduction des nitrites en nitrates sans l'aide d'enzyme. Le  $NO\cdot$  peut réagir avec les fonctions thiols en donnant naissance aux *S-nitroso thiols* (RSNO), avec les métaux de transition (fer, cuivre) et avec l'anion superoxyde pour former le peroxy nitrite. <sup>II</sup>

#### I.2.3.3. Radicaux libres à partir de Flavines et Quinones

Les quinones et les flavines sont aptes à transférer les électrons un à un. Leurs formes radicalaires sont stabilisées par résonance. Ce sont des cofacteurs enzymatiques [17].

## **I.2.4. Activité antioxydant**

### **I.2.4.1. Historique :**

À la fin du 19<sup>e</sup> et 20<sup>e</sup> siècle, de nombreuses études ont été consacrées à l'utilisation d'antioxydants dans des processus industriels importants, tels que la prévention de la corrosion des métaux, la vulcanisation du caoutchouc et la polymérisation des carburants dans l'encrassement des moteurs à combustion intégrale. Des recherches sur leur utilisation pour prévenir l'oxydation des graisses insaturées, qui sont à l'origine du rancissement. L'identification des vitamines A, C et E en tant qu'antioxydants qui ont révolutionné le domaine et permis de prendre conscience de l'importance des antioxydants dans la biochimie des organismes vivants. Le mécanisme d'action des antioxydants a été exploré pour la première fois lorsqu'il a été reconnu qu'une substance ayant une activité anti-oxydante serait probablement celle qui s'auto-oxyderait facilement [16].

### **I.2.4.2. Le stress oxydatif**

Le stress oxydatif pourrait être une partie importante de nombreuses maladies humaines, l'utilisation d'antioxydants en pharmacologie fait l'objet d'études approfondies, notamment en tant que traitement des attaques, des démences et des maladies neurodégénératives. Les antioxydants sont largement utilisés comme ingrédients dans les compléments alimentaires dans l'espoir de maintenir la santé et de prévenir les maladies telles que le cancer et les maladies coronariennes. De plus, des antioxydants sont ajoutés à divers aliments pour prévenir la peroxydation lipidique. Ces composés ont de nombreuses utilisations industrielles, telles que des conservateurs dans les aliments et les cosmétiques et pour empêcher la dégradation du caoutchouc et de l'essence. Les composés antioxydants sont obtenus à partir d'aliments naturels et de  $\beta$ -carotène, de vitamine C, de vitamine E et de tocophérol [16].

### **I.2.4.3. Classification d'antioxydant**

Les antioxydants sont classés en deux grandes catégories selon qu'ils sont solubles dans l'eau (hydrophile) ou dans les lipides (hydrophobes). En général, les antioxydants solubles dans l'eau réagissent avec les oxydants dans le cytoplasme cellulaire et le plasma sanguin, tandis que les antioxydants solubles dans les lipides protègent les membranes cellulaires [16].

#### **Types d'antioxydant :**

Fondamentalement, ceux-ci sont classés en trois catégories :

*II*

#### **I.2.4.3.1. Antioxydants enzymatiques et non enzymatiques :**

On les trouve à la fois dans les environnements extra-cellulaire et intracellulaire. Celles-ci sont disposées de manière tactique dans la cellule afin de fournir une protection maximale contre les radicaux libres. Certains antioxydants physiologiques enzymatiques et non enzymatiques importants sont les suivants [16].

**Tableau 1** : classification d'antioxydant enzymatique et non enzymatique :

	<b>Antioxydant</b>	<b>Emplacement</b>	<b>Fonction/propriétés</b>
<b>A</b>	<b>Antioxydant Enzymatique</b>		
<b>1</b>	Glutathion peroxydase (GSH)	Mitochondries et cytosol	<b>Enlèvement de <math>H_2O_2</math> et Hydro-peroxyde organique</b>
<b>2</b>	Catalase (CAT)	Mitochondries et cytosol	<b>Enlèvement de <math>H_2O_2</math></b>
<b>B</b>	<b>Antioxydant non enzymatique</b>		
<b>1</b>	Caroténoïdes	Antioxydants liposolubles dans les tissus membranaires	<b>Enlèvement d'espèces réactives de l'oxygène</b>
<b>2</b>	<b>Bilirubine</b>	<b>Défense cellulaire oxydant</b>	<b>Métabolisme dans le sang Antioxydants Extracellulaires</b>
<b>3</b>	<b>Glutathion</b>	<b>Thiol non protéique dans la cellule</b>	<b>Défense cellulaire oxydant</b>
<b>4</b>	Acide-lipoïque	Thiol endogène	<b>Sert de substitut au glutathion, recyclant la Vit-C</b>
<b>5</b>	Vitamine C	Phase aqueuse de la cellule	<b>Nettoyeur gratuit, recyclez Vit-E</b>
<b>6</b>	Vitamine E	Cellule	<b>Antioxydants cassants</b>
<b>7</b>	<b>Acide urique</b>	<b>Produit du métabolisme de la purine</b>	<b>Récupération du radical OH</b>

### I.2.4.3.2. Antioxydant dérivé de sources naturelles et alimentaires :

Les plantes développent plusieurs antioxydants qui contribuent au système de défense antioxydant, protégeant les plantes contre les dommages causés par l'O<sub>2</sub> actif résultant de l'exposition aux rayons ultraviolets. Certaines algues fonctionnent également comme antioxydants. Notre alimentation quotidienne contient des légumes, des fruits, du thé, du vin, etc. qui possèdent des composés riches en propriétés anti-oxydantes [16].

- A. Antioxydants de sources naturelles :
  1. Dérivés de la chlorophylle.
  2. Huiles essentielles.
  3. Caroténoïdes.
  4. Alcaloïdes.
  5. Phytostérols.
  6. Phénoliques - coumarines, flavonoïdes.
  7. Polyphénols - tanins, Proanthocyanidine.
  8. Composés contenant de l'azote - alcaloïdes, indoles.

- B. Antioxydants alimentaires :

Ils réduisent la formation de radicaux libres ainsi que le stress oxydatif et réduisent le risque de maladies cardiovasculaires. Plusieurs composés tels que les diterpénoïdes phénoliques - camisole, le romagnols, l'acide camosoic, etc., obtenus à partir de plusieurs plantes aromatiques possèdent de fortes propriétés antioxydantes.

### I.2.4.3.3. Antioxydant basé sur le mécanisme de défense :

Ceux-ci sont de quatre types : [16]

- a- Antioxydants préventifs : Ils suppriment la formation de radicaux libres. **Exp** : enzymes telles que la peroxydase, la catalase, la lactoferrine et les caroténoïdes, etc.
- b- Antioxydants éliminant les radicaux : ils suppriment la réaction d'initiation de la chaîne. **Exp** : vitamine C et caroténoïdes.
- c- Réparateur et antioxydant de novo : Il comprend des enzymes photolytiques et des enzymes de réparation d'ADN et de matériel génétique.
- d- Antioxydants inhibiteurs d'enzymes : ils induisent la production et la réaction de radicaux libres ainsi que le transport d'antioxydants appropriés vers le site actif approprié.



## I.2.5. Activité antibactérienne

En 1676, Anton Van Leeuwenhoek a découvert le monde des microbes par le microscope simple, mais après la sœur de Ra en 1820, le microscope composé par le monde Hooke, qui a ouvert la lumière consciente des bactéries, qui décrit la petite espèce microscopique, puis laminé père d'une recherche détaillée et ancrée Les bactéries, de celle donnée à la fois par Louis Pasteur (1822-1895) et qui a proposé le système Rayya SARM, et le scientifique allemand Robert Koch est un bien prouvé au monde de la causalité entre la théorie des microbes et la mère d'un traumatisme animal, mais un bien utilisé les bactéries terme est le monde Airenberg Ehrenberg 1829. Il a défini comme un des organismes unicellulaires procaryotes appartenant aux, ces cellules sont appelés noyaux rudimentaire Parce qu'ils contiennent en plus du cytoplasme zone dense de forme irrégulière, appelée zone nucléaire, car il manque ces séparateur à membrane de cellule entre le cytoplasme et la zone nucléaire contenant un matériau Alu de rhumatisme, et est la principale différence entre la noyaux primitifs des cellules et des cellules réelles.

Les bactéries peuvent être définies comme des micro-organismes, vus uniquement par microscopie, présents partout dans l'air dans l'eau, sur le corps humain, dans son tube digestif et dans son système respiratoire [18].

### I.2.5.2. Classification des bactéries

Pour les variétés de bactéries selon des critères définis par les scientifiques et classés comme suit:

#### I.2.5.2.1. En fonction de la réparation de leurs poids :

Peut être divisé en :

- Bactéries du fouet simples.*
- Bactéries à mèches multiples* : agrégées à une extrémité.
- Bactéries à mèches multiples* : réparties sur chaque cellule.

#### I.2.5.2.2. Selon la figure :

- Les bactéries Bacillus (Bacillus)* : qui prend la forme de petites cellules bacilles au microscope.
- Bactéries sphériques (Cocci)* : qui prend la forme de petites boulettes de cellules.
- Spirale de bactéries (en spirale)* : qui prend la forme d'une spirale.
- Les bactéries priorité Wa (Vibrio)* : qui prend la forme du F ou arabe Vibrio.

### I.2.5.2.3. Au milieu ou vous vivez :

□ **Les bactéries aérobies (aérobie)** : Ce sont les bactéries qui vivent uniquement en présence de l'air atmosphérique, et est considéré comme la principale source d'empoisonner la nourriture.

□ **Anaérobie de bactéries (anaérobies)** : les bactéries qui vivent seulement en l'absence d'air atmosphérique.

□ **Les bactéries anaérobies facultatives (facultatif)** : Anaérobie et est les bactéries qui peuvent vivre et la croissance, en présence d'air atmosphérique ou non.

### I.2.5.2.4. Par nutrition :

#### Il peut être divisé en deux types :

□ **Les bactéries d'auto-alimentation** : bactérie consommant du carbone pour sa croissance.

□ **Bactérie organique** : Bactérie qui extrait le carbone de l'analyse de matières premières telles que le sucre.

### I.2.5.2.5. Par méthode de coloration (GRAM) :

Montre la différence dans la composition de la paroi cellulaire par la peinture, par g de technologie (GRAM).

La proportion du monde J. GRAM a été découvert en 1884 et deux espèces ont été développées selon cette méthode.

□ **Bactéries g positif (Gram positif)** : Lorsqu'elles sont colorées, les couleurs absorbent et apparaissent en violet.

□ **Bactéries g négatif (Gram négatif)** : colorant libre et exposition à la chaleur.

Et les bactéries paroi cellulaire g positif plus épaisse que la paroi cellulaire des bactéries g montre un négatif, cela est dû à l'installation.

### I.2.5.2.6. Selon leur effet sur l'homme

#### ✚ Bactéries bénéfiques : (Bactéries bénéfiques) :

Il fournit d'excellents services aux humains, aux animaux et à l'environnement. Il existe un type de bactérie qui vit dans Les intestins humains aident à digérer les aliments, produisent certaines substances utiles pour le corps telles que les vitamines et le travail. Détruire les bactéries nocives. Un autre type de bactérie vit dans le sol et joue un rôle important dans l'alimentation la plante, en stabilisant l'azote présent dans l'air, joue le rôle d'élément. Grâce à laquelle la plante peut être une protéine, les bactéries du sol analysent le corps des organismes après leur mort, ainsi que matière organique complexe, convertie en images simples, bénéfique pour le sol, les plantes et les animaux. Pas limité donc, il y a des industries entières basées sur

l'utilisation de certaines bactéries bénéfiques, La fabrication de certains produits laitiers et de certains médicaments n'est que le résultat du travail de bactéries bénéfiques. Et récemment géré scientifiques contre l'utilisation de bactéries dans le traitement des eaux usées, protégeant l'environnement de la pollution.

### ✚ **Bactéries Opportunistes :**

Il y a des types de bactéries qui vivent dans le corps humain sans causer aucun effet nocif sauf qu'il conduit à une immunité réduite du corps humain pour une raison quelconque, attaque le corps, mutant à des bactéries nocives causer beaucoup de la terre, comme cela est courant dans le mal de gorge ou l'inflammation les amygdales.

### ✚ **Bactérie nuisible :**

Il y a des bactéries nocives qui attaquent l'humain, lui causant une satisfaction et de nombreux problèmes de santé, etc. Que se passe-t-il sur la Terre : tuberculose, coli, typhoïde, coqueluche, syphilis et gonorrhée, et parmi les bactéries nocives qui causent la terre sont mentionnées :

#### ➤ **Escherichia coli :**

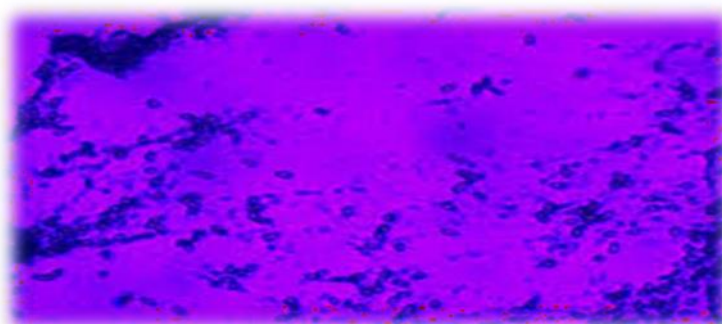
Escherichia coli appartient à la famille des Enterobacteriaceae. Ce sont des bacilles à coloration de Gram négative, non sporulés, anaérobies facultatifs et qui ne possèdent pas d'oxydase. Le genre Escherichia compte 5 espèces : E. coli, E. fergusonii, E. hermannii, E. vulneris et E. blattae. L'espèce E. coli est considérée comme un hôte normal, c'est-à-dire commensal, de la microflore digestive de l'homme et de la plupart des animaux à sang chaud. La niche écologique de cette bactérie se trouve dans la couche de mucus sécrétée par l'épithélium du côlon. Etant donné qu'elle est hautement compétitive dans cet environnement, E. coli reste la bactérie anaérobie facultative la plus abondante dans le côlon humain, dans celui d'autres mammifères et des oiseaux (142, 227, 388). Les souches commensales de E. coli sont donc très bien adaptées à une « coexistence pacifique » avec l'hôte. Escherichia coli reste l'uropathogène prédominant (80%) isolé dans les infections aiguës et non compliquées acquises en communauté. [19]



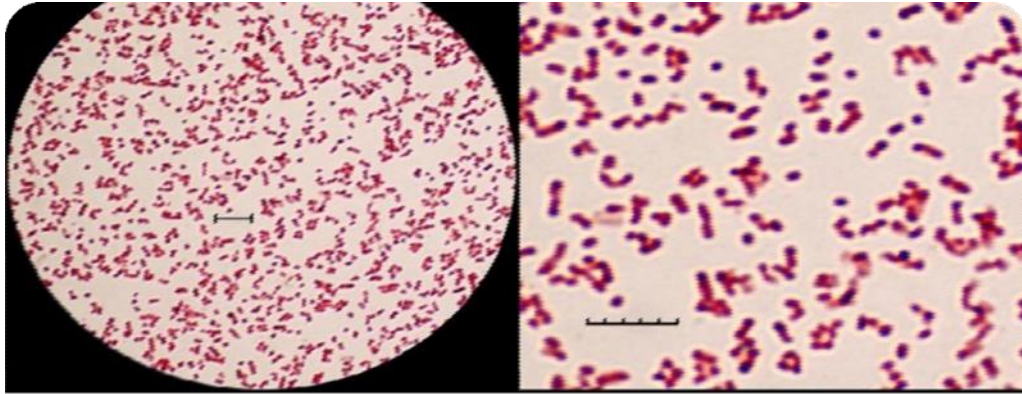
*Figure I.1 : micrographie d'Escherichia coli.*

➤ **Bactérie proteus :**

Les espèces de Proteus sont fréquemment récupérées des plaies infectées. Ils contaminent les plaies et causent ainsi des infections. Cette étude a été réalisée à l'hôpital universitaire de l'Université du Bénin (UBTH) pour déterminer l'implication de l'espèce Proteus parmi les principaux organismes responsables d'infections de plaies. L'étude a également déterminé le schéma de sensibilité des isolats Proteus. Il s'agissait d'une étude prospective et transversale. Des prélèvements de plaies et des aspirations provenant de différentes parties du corps et consistant en des plaies accidentelles, pathologiques et postopératoires ont été collectés auprès de patients ayant consulté les cliniques de l'UBTH et examinés à l'aide de méthodes bactériologiques classiques. . Tous les isolats étaient sensibles à la ciprofloxacine, à l'ofloxacine et à la gentamycine, tandis que tous étaient résistants à la tétracycline et à l'érythromycine. La connaissance de la flore microbienne d'un environnement et du schéma de sensibilité sont des outils importants dans la gestion des infections de plaies, en particulier celles causées par des espèces de Proteus, et sont également utiles pour la formulation d'une politique rationnelle en matière d'antibiotiques [20].



*Figure I.2 : Image sous les rayons lumineux UV de bactérie proteus.*



**Figure I.3 :** micrographie de bactérie proteus.

➤ **Bactérie K.E.S :**

Les bactéries du groupe K.E.S sont très répandues dans la nature, elles sont isolées à partir du sol, de l'eau, des végétaux et de divers aliments. Elles font partie de la flore commensale de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux ou ils existent toujours en faible quantité en particulier dans le tube digestif et les voies respiratoires. Ces organismes ont des propriétés très semblables et sont habituellement distingués sur la base de plusieurs réactions biochimiques et de la motilité.

Les bactéries du groupe K.E.S ont en commun les caractères suivants :

- La réaction de Voges-Proskauer (VP) est généralement positive.
- Ce sont des bactéries pathogènes opportunistes.

Peu virulente par elles-mêmes, elles sont rencontrées peu en pratique extra hospitalière. Opportunistes, elles sont surtout responsables d'infections hospitalières nosocomiales chez des malades débilisés : cirrhotiques, diabétiques, brûlés, cancéreux, vieillards, malades de réanimations et les nourrissons.

- Ces espèces sont souvent multi-résistantes aux antibiotiques [21].

## *PARTI II : Expérimental*

# *Chapitre I*



## *Matériels Et Méthodes*

Nous rappelons que la préparation des échantillon, la screening phytochimique, l'extraction et le dosage des polyphénols totaux sont effectués par la doctorante

BENFERDIA Saida

## **II. 1. Préparation des échantillons :**

Les tiges et les feuilles d'Astragalus gombo ont été obtenues en mai, dans la région de O'eud N'sa (État de Ouargla), son nom scientifique a été identifié par le professeur EDOUD Ammar (botaniste à l'Université de Qasdi Merbah). Les membres de la plante Astragalus gombo (feuilles et tiges) ont été séchés à la température ambiante et protégés de l'humidité.

## **II. 2. Screening phytochimiques :**

15g des feuilles et des tiges respectivement ont été macéré dans un système 8/2 (MEOH/H<sub>2</sub>O) pendant 24 heures, après la filtration, l'extrait brute de chaque organe a conservé pour la réalisation des tests phytochimiques suivant :

### **II. 2. 1. Teste des flavonoïdes :**

A 1 ml de l'extrait brute, on ajoute 1 ml d'acétate de plomb (10%), la formation d'une précipitation jaune indiqué la présence des flavonoïdes.

### **II. 2. 2. Teste de stéroïdes :**

Deux tests pour la confirmation du résultat ont été réalisés :

- a. **Teste de Salkowski :** 2 ml de l'extrait brute a été mélangé avec 2ml de CHCl<sub>3</sub>, puis goutte de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré a été additionné, l'apparition d'une coloration rouge indiqué la présence des stéroïdes.
- b. **Teste de Librman Burchard :** 2 ml de l'extrait brute a été dissoudre dans CHCl<sub>3</sub>, puis goutte de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré et 2ml de l'acide acétique ont été additionné, l'apparition d'une coloration verdâtre indiqué la présence des stéroïdes.

### **II. 2. 3. Teste des tanins :**

A 1ml d'extrait brute, on ajoute 0.5ml d'une solution aqueuse de FeCl<sub>3</sub> à 1%. La présence des tanins est indiquée par une coloration verdâtre ou bleu-noirâtre.

### **II. 2. 4. Teste des saponines :**

Dans une éprouvette, mettez 2 ml de l'extrait, et faites bien, s'il y a de la mousse, cela indique la présence de saponines.



### II. 2. 5. Teste des terpenoïdes :

2 ml d'extrait brute est ajouté à 2ml de chloroforme et goutte d'acide sulfurique concentré. La formation de deux phases et une couleur marron à l'interphase indique la présence des terpenoïdes.

### II. 2. 6. Teste des alcaloïdes :

Les tests sont réalisés par des réactions de précipitation avec les réactifs de Wagner et Mayer :

- 1- **Réactifs de Wagner :** 1 ml d'extrait brut, puis ajoutez 1 ml d'acide HCl concentré, puis 1 ml de réactif de Wagner, chaque mélange est chauffé au bain marie. La formation d'un précipité blanc ou brun, respectivement révèle la présence des alcaloïdes.
- 2- **Réactifs de Mayer :** 1 ml d'extrait brut, puis ajoutez 1ml d'acide HCL concentré, puis 1 ml de réactif de Mayer, chaque mélange est chauffé au bain marie. La formation d'un précipité blanc ou brun, respectivement révèle la présence des alcaloïdes.

### II. 2. 7. Teste des composés réducteurs :

Dans un tube à essai a 1ml d'extrait brute, on ajoute 2ml de réactive de Fehling (1ml réactif A et 1ml réactif B), incubé l'ensemble pendant 8 min dans un bain marie bouillants. L'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs.

### II. 2. 8. Teste des Cardénolides :

La détection des cardénolides glycosides se fait par l'ajout de 2 ml d'acide acétique glacial et une goutte de solution de  $FeCl_3$  à 5 ml de chaque extrait mélangé avec 1 ml de  $H_2SO_4$  concentré. La présence de l'anneau brun sur l'interface est caractéristique de sucres désoxy des glycosides cardiaques.

### II. 2. 9. Teste des protéines :

- a. **Test de Biuret :** A 2ml de l'extrait brut, 1ml de NaOH (4%) et 1ml de  $CuSO_4$  (1%) a été additionné. Le changement de la couleur de la solution à violet ou rose indique la présence de la protéine.
- b. **Teste de ninhydrine :** A 2ml de l'extrait, 3 goutte de solution de acétate de Pb (5%) a été ajouté et chauffée dans un bain marie pendant 10 min. Le changement de la couleur de la solution à violet ou bleu indique la présence des acides aminés.

### II.2.10. Test de quinone libre :

Quelques gouttes de NaOH (1%) sont ajoutées à 2 ml d'extrait. La coloration virant au jaune, rouge ou violet indique la présence de quinones libres.

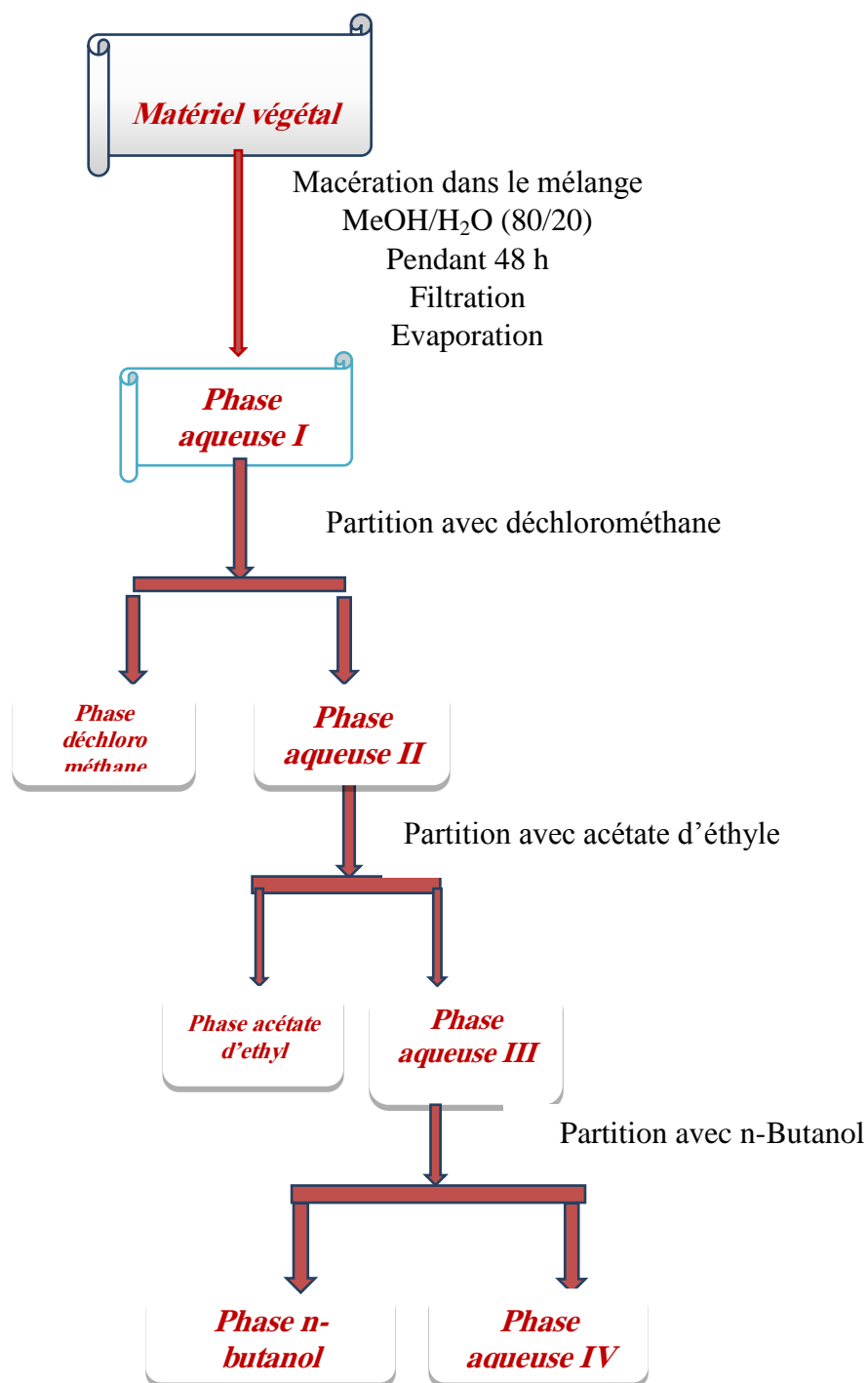
### II.2.11. Test des phénols :

Selon la méthode utilisée par Pandith, l'extrait alcoolique est traité par des gouttes de la solution de  $FeCl_3$  à une concentration nouvellement enregistrée de (5%), La présence de phénols dans le gradient allant du clair au foncé tend au noir.

### II. 3. Extraction des composés phénoliques (plante sèche)

Dans notre étude l'extraction est réalisée selon le protocole d'extraction des polyphénols. (Schéma II.1). 67g, 56.21g de matériel végétal (feuilles, tiges respectivement) sont macérés dans l'éther de pétrole pendant 24 heures et conservés à l'abri de la lumière et à température ambiante (pour la délipidation), puis a été filtrée. Puis elles sont mises en contact avec un mélange de l'eau distillée et méthanol (20/80 (v/v)) et laissé pendant 24 heures et conservés à l'abri de la lumière et à température ambiante. L'opération de la macération a été répétée 3 avec les feuilles et 4 fois avec les tiges, en renouvelant le solvant, pour augmenter la masse de l'extrait. Cette solution extractive a été filtrée puis évaporée à sec (37 °C), ajoutez un volume d'eau chaude aux résidus obtenus (feuilles et tiges respectivement) et laissé ou repos pendant une nuit.

Le macérât de couleur verte est fractionné successivement par trois (3) solvants : le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle et le n-butanol.



**Schema.III.1. Protocole d'extraction des polyphénols**

## II.4. Etude quantitative :

L'objectif de cette présente étude réalisée au sein du laboratoire (activité anti oxydant, activité anti bactérienne). Est de l'exposer à une série de mesures des extraits (dichloro méthane, acétate d'éthyle, n-butanol), après avoir déterminé leur taux en polyphénols et flavonoïdes totaux. Pour cela, notre étude est réalisée comme suit:

- 1- Realizations des tests phytochimiques.
- 2- Dosage des polyphénols totaux.
- 3- La mesure du pouvoir réducteur des extraits *in vitro* en mesurant le pourcentage d'inhibition du  $\text{OH}^\cdot$ ,  $\text{ABTS}^{\cdot+}$ , Chélation de fer.
- 4- La mesure du pouvoir antibactérienne des extraits *in vitro* en mesurant le diamètre des zones d'inhibition les souches bactérie (E.coli, Proteus, K.E.S).

### II.4.1. Calcules de rendement :

Nous pouvons déterminer le rendement d'extraction des feuilles et des tiges d'astragalus gombo selon la relation suivant :

$$R(\%) = (M_{\text{ext}} / M_{\text{ech}}) \times 100$$

Ou :

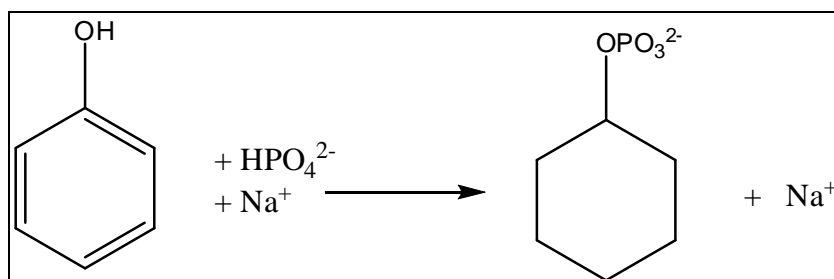
R : Le rendement en (%) ;

$M_{\text{ext}}$  : La masse de l'extrait après évaporation du solvant en (g) ;

$M_{\text{ech}}$  : La masse sèche de l'échantillon végétal en (g).

### II.4.2. Détermination de la concentration en composés phénoliques totaux (TPC) :

La concentration en phénols totaux des extraits des différentes parties de la plante étudiée a été déterminée par méthode de SINGLETON et ROSS [22], utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu qui absorbe fortement à une longueur d'onde de 760 nm.



**Schéma II.02:** Principe de la réduction du réactif de Folin Ciocalteu.

Une courbe d'étalonnage standard a été obtenue à partir d'une solution mère préparée de l'acide gallique de concentration massique 0.25 g/L, des solutions sont préparées avec des concentrations allant de 0,03 g/L à 0.25 g/L dissous dans l'eau.

0.1ml de chaque solution ont été introduit dans des tubes à essai. Puis sont ajoutés 0.5 ml du réactif de Folin-Ciocalteu à (10%). Après 5 minutes, nous ajoutons 2 ml de carbonate de sodium ( $Na_2CO_3$ ) à 20% (m/v). Les solutions sont maintenues à l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante.

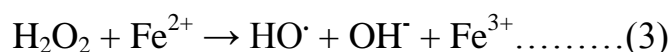
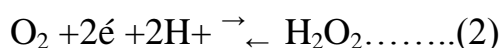
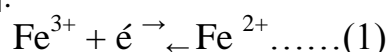
La lecture de l'absorbance de chaque solution a été déterminée à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS contre un blanc (même solution sans la solution d'acide gallique remplacé par l'eau). L'analyse quantitative des phénols totaux des extraits phénoliques a été réalisée par la même procédure. Toutes les mesures sont répétées 3 fois. Le contenu phénolique total (TPC) est exprimé par mg EAG/g de matière sèche.

### II.4.3. Activité antioxydant :

#### II.4.3.1. Test de balayage des radicaux hydroxyles :

##### Principe :

Parmi les espèces réactives de l'oxygène, le radical hydroxyle est le plus réactif qui peut facilement traverser les membranes cellulaires, réagir facilement avec la plupart des biomolécules, y compris les glucides, les protéines, les lipides et l'ADN dans les cellules et induire des lésions tissulaires graves ou la mort cellulaire[23]. Ainsi, l'élimination des radicaux hydroxyles est importante pour la protection des systèmes vivants. La capacité de balayage des extraits de plante sur les radicaux hydroxyles a été évaluée en fonction de la réaction de l'acide salicylique et des radicaux hydroxyles résiduels. Le dosage du radical hydroxyle a été effectué selon la méthode de Smirnof et autres [24]. Le radical hydroxyle ( $OH^\bullet$ ) en milieu aqueux est généré par la réaction de Fenton. L'efficacité de balayage relative (% d'inhibition de l'hydroxylation) de l'extrait de plante a été estimée à partir de la différence d'absorbance avec et sans addition d'extrait de plante [25].



##### Mode opératoire :

Le mélange réactionnel (4 ml) contenant : 1 ml de  $FeSO_4$  (9 mM), 1 ml d' $H_2O_2$ (9 mM), 1 ml de diverses concentrations (0,05 à 30 mg / ml) d'extrait et 1 ml d'acide salicylique (9 mM) a été incubé à 37 ° C pendant 1 h puis l'absorbance a été enregistrée à 510 nm [25]. Avec des modifications.

L'activité de nettoyage a été calculée en utilisant les méthodes suivantes :

$$\% = ((A_1 - A_0) / A_2) \times 100$$

$A_0$  : est l'absorbance du groupe témoin (sans extrait)

$A_1$  :est l'absorbance du groupe de test.

$A_2$  :est l'absorbance sans acide salicylique.

L'activité antioxydant est exprimé par la valeur de  $CI_{50}$ , sachant que  $CI_{50}$  est la concentration d'extrait nécessaire pour l'obtention de 50% de la forme réduite du radical  $OH^\bullet$ .

#### II.4.3.2. Activité de chélation de $Fe^{2+}$ :

##### Principe :

Les ions métallique à double équivalence jouent un rôle très important comme des catalyseurs d'oxydant, il provoque la formation des radicaux hydroxyles et la séparation de l'eau oxygène selon la réaction de FENTON.



L'activité de chélation des ions ferreux des extraits a été évaluée comme décrit par Dinis et al [26]. Avec des modifications.

##### Mode opératoire :

100  $\mu$ l de diverses concentrations (1-8mg/ ml) d'extrait phénolique ont été ajoutés à 50  $\mu$ l de solution de  $FeCl_2 (4H_2O)$  et laissés à incuber à température ambiante pendant 5 minutes. Ensuite, la réaction a été initiée en ajoutant 100  $\mu$ L de TPTZ et le mélange a été ajusté à 3 ml avec de l'eau distillée, agité vigoureusement, puis laissé au repos à température ambiante pendant 10 minutes.

L'absorbance de la solution a ensuite été mesurée par spectrophotométrie à 562 nm. EDTA a été utilisé comme positif (dilué dans l'eau). Courbe d'étalonnage conc, de control positif [27].

Le pourcentage d'inhibition de la formation du complexe ferrozine- $Fe^{2+}$  a été calculé à l'aide de la formule ci-dessous :

$$\text{Inhibition \%} = \frac{(A_c - A_s)}{A_c} * 100$$

$A_c$  : L'absorbance de control.

$A_s$  : L'absorbance de mélange de test.

#### II.4.3.3. Test de balayage radical $ABTS^{\bullet+}$ :

$ABTS^{\bullet+}$  (Acide 2,2'-azino-bis-3-éthylbenzthiazoline-6-sulfonique).

##### Principe :

Le modèle de balayage du radical  $ABTS^{\bullet+}$  stable est une méthode largement utilisée pour évaluer le pouvoir antioxydant total de composés simples et de mélanges complexes de diverses plantes. Une diminution de la concentration en  $ABTS^{\bullet+}$  dépend linéairement de la concentration en antioxydant. Cette méthode utilise un spectrophotomètre à barrette de diodes pour mesurer la perte de couleur lorsqu'un antioxydant est ajouté au chromophore bleu – vert  $ABTS^{\bullet+}$ . L'antioxydant réduit  $ABTS^{\bullet+}$  à ABTS et le décolore.  $ABTS^{\bullet+}$  est un radical stable non trouvé dans le corps humain [28].

**Mode opératoire :**

L'activité de balayage des radicaux ABTS des extraits a été déterminée selon (Re et al) [29]. La solution de cation radicalaire ABTS a été préparée par la réaction de ABTS 7 mM et de persulfate de potassium 2,45 mM. Après incubation à 23 ° C dans l'obscurité pendant 16 h, la solution de ABTS<sup>•+</sup> a été diluée avec de l'eau distillée pour obtenir une absorbance de 0,70 ± 0,02 à 734 nm avant utilisation. Le mélange réactionnel comprenait 950 ml de solution ABTS<sup>•+</sup> et 50 ml d'extrait de plante à différentes concentrations (20- 200 mg / ml). Le mélange réactionnel a été homogénéisé et son absorbance a été enregistrée à 734 nm [30].

En ce qui concerne l'activité antiradicalaire, la capacité de balayage de l'ABTS était exprimée en IC50 (mg / ml).

Le pourcentage d'inhibition du radical ABTS<sup>•+</sup> a été calculé à l'aide de la formule suivante:

$$\text{Inhibition \%} = \frac{(A_0 - A_1)}{A_0} * 100$$

A<sub>0</sub>:L'absorbance de control négatif .

A<sub>1</sub>: L'absorbance de mélange de test.

**II.4.4. Activité antibactérienne :**

Nous avons effectué le test d'activité antibactérienne au laboratoire médical EL-AMEL à Ouargla.

Les agents antimicrobiens détruisent les bactéries en s'attaquant directement à leurs structures essentielles (paroi cellulaire, ribosomes, membrane plasmique et ADN) et/ou en perturbant leurs métabolismes et par conséquent leurs fonctions [31].

Les qualités antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis l'antiquité. Les extraits aromatiques des plantes ont été utilisés dans différentes formulations, comme pour les médicaments et la parfumerie [32]. Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20ième siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser [33].

Dans le but de localiser un pouvoir antibactérien au niveau des extraits à partir de la plante choisie (Astragalus gombo) nous l'a testé envers quelques souches de bactéries pathogènes.

Au cours de cette étude biologique, nous avons utilisé les bactéries suivantes ( Escherichia coli, K.E.S, proteus). (Tableau II.1).


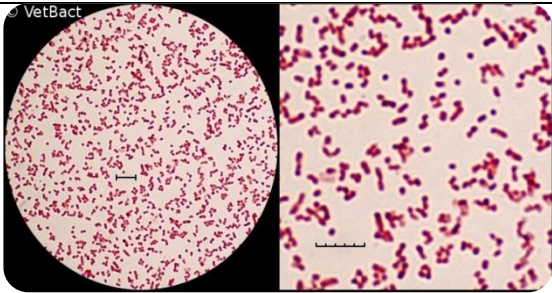
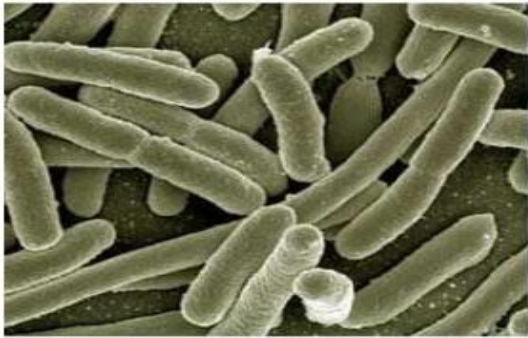
### Mode opératoire

En utilisant la méthode de diffusion par disques selon la méthode utilisée par une partie, (Soumia et al) [34]. L'efficacité antibactérienne a été calculée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition formée par mM [35], et en suivant les étapes suivantes :

#### II.4.4.1 Identification des souches bactériennes utilisées dans l'étude :

Nous avons utilisé trois souches bactériennes obtenues du laboratoire médical Al Amal de l'État de Ouargla. Elles sont indiquées dans le tableau III.1

**Tableau II.1:** Provenance des germes étudiés

Souches utilisées	Origine	gram	figure
Escherichia coli	ATCC25922	-	
Bactérie proteus	UBTH	-	
Bactérie K.E.S	ATCC700603	-	



**a- Préparation des concentration d'éther de pétrole :**

L'extrait d'éther de pétrole ont été dissous dans le diméthyl sulfoxyde (DMSO) ;assurer le contact avec les microbes et leurs antagonistes afin d'être une étude comparative, nous avons combiné les concentrations des extraits(1g d' extrait ont été dissous dans 1 ml du solvant indiqué), et à partir d'eux nous avons assisté à une série de concentrations (100, 75, 50, 25, 6) %

**b- Préparation de disques saturés d'extraits :**

On préparée des disques à partir de papier WHATMAN n° 3 de 6 mm de diamètre, puis nous avons stérilisés au four Pasteur, puis placés sur ces comprimés 10 µl d'extraits préparés,on les laisse reposer pendant 10 minutes pour imbibés d'extrait.

**c- Préparation de la suspension bactérienne :**

La méthode utilisée est celle de la diffusion sur milieu solide. Les différentes espèces bactériennes sont d'abord repiquées par la méthode des stries dans des boites de Pétri contenant le milieu Mueller Hinton, puis incubées à 37 °C pendant 24 h.

Une ou plusieurs colonies de chaque culture pure bien isolée de chaque type de bactéries, prélevée à l'aide d'une anse chauffée, est reprise dans 10 ml d'eau physiologique stérile afin d'obtenir une suspension bactérienne dans chaque tube.

Les tubes contenant les suspensions ainsi préparées, sont agités, puis les mélanges sont étalés dans des boîtes de pétri de gélose Mueller Hinton de façon à recouvrir presque entièrement la surface gélosée [38].

**d- Put de disques :**

À l'aide d'une pince, retirez les disques humides contenant l'extrait et répartir-les sur la surface gliale à l'intérieur des boîtes Pétri, qui est cultivé avec des souches bactériennes puis incubé à l'envers dans l'incubateur pendant 24 heures à 27 ° C. Le résultat est mesuré en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition en millimètres [18].

## *Chapitre II*

# *Résultats et discussion*

### III.1. Tests phytochimiques

Les tests phytochimiques réalisés sur la plante *Astragalus gombo* ont permis de détecter les différentes classes de composés existant dans les deux parties étudiées (feuilles, tiges) par des réactions qualitatives de caractérisation. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau( III.1)

**Tableau III.1** : Screening chimique d' *Astragalus gombo*.

Métabolitessecondaire	Feuilles	tiges
Flavonoides	-	+
Stéroïdes	-	-
Tannins	++	+
Saponinnes	+	+++
Terpénoides	+++	+
Alcaloides	-	-
Les composés réducteur	-	++
Cardénolides	-	-
Protéines	-	+
Quinones libres	+	+
Polyphénols	++	+++

**- : absence, + : présence**

Les résultats des tests phytochimiques ont révélé la présence des composés phénoliques, des tanins, saponine, coumarine,alc, quinones libers et triterpenoïdes dans les deux organes (feuilles + tige) du l'*Astragalus gombo*.

Les composés phénolique, terpenoides et les saponines ont été détectés en grande quantité.

La richesse de la plante *Astragalus gombo* en composés phénolique, coumarine et les saponines par comparaison l'absence stéroïdes et la manque de présence d'alcaloïdes explique l'avantage thérapeutique de cette plante ce qui explique certainement son usage dans le traitement des maladies.

Aussi, Les saponines ont des applications dans les extincteurs moussants, les émulsifiants, les insecticides, etc. La présence de ces métabolites secondaires peut être attribuée aux actions antifongiques de l'*Astragalus gombo*.

### III.2. Extraction des composés phénoliques:

Les tests préliminaires réalisés ont permis de mettre en évidence la présence et des composés phénoliques. Les composés phénoliques présentent une large gamme d'activités biologiques [28]. Donc, notre choix porté sur cette famille des composés qui ont été obtenus par les méthodes d'extraction des polyphénols. Les résultats des rendements sont reportés sur le (tableau III.2).

**Tableau III.2 :** Les résultats des rendements des extrait

	Tiges %	Feuilles %
Brut	4.8852	2.9850
Dichlorométhane	0.1387	0.07
Acétate d'éthyle	0.1508	0.1044
Butanol	1.2947	2.1701
Aqueuse	11.1723	9.3861

### III.3. Analyse quantitative :

#### III.3.1. Dosage de polyphénols totaux :

La quantification des polyphénols des extraits de *Astragalus gombo* est réalisé avec la méthode de Folin-Ciocalteu. Les teneurs en TPC des différents extraits exprimées en mg EAG/g d'extrait à partir de l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique

#### III.3.2 Activité antioxydant :

##### III.3.2.1. Test de balayage des radicaux hydroxyle (OH<sup>•</sup>):

L'évaluation de l'activité anti radicalaire de nos extraits via le test OH<sup>•</sup> a conduit aux résultats illustrés par (la figure III.1)

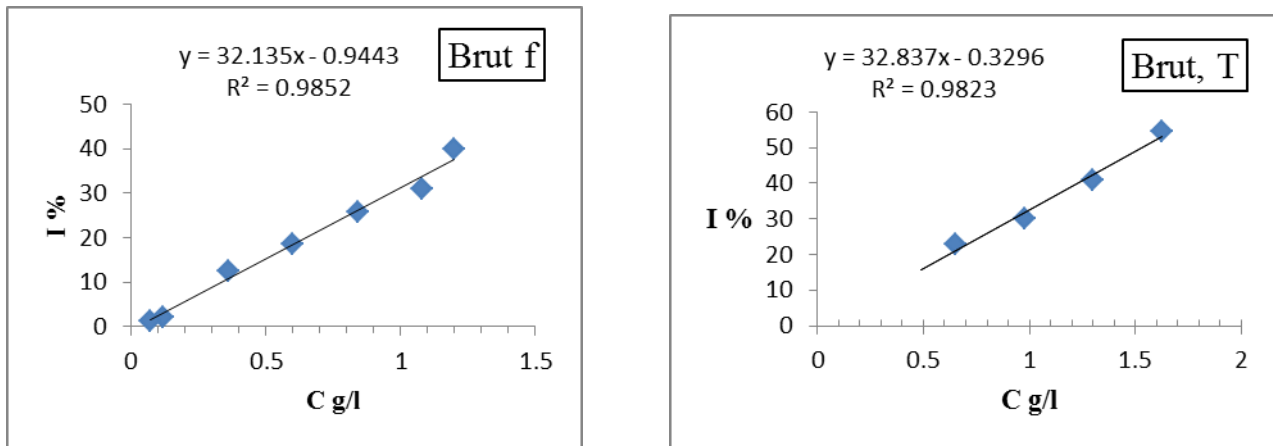


Figure III.1: Variation de l'inhibition du OH $\cdot$  en fonction de la concentration des extraits. (F,T)

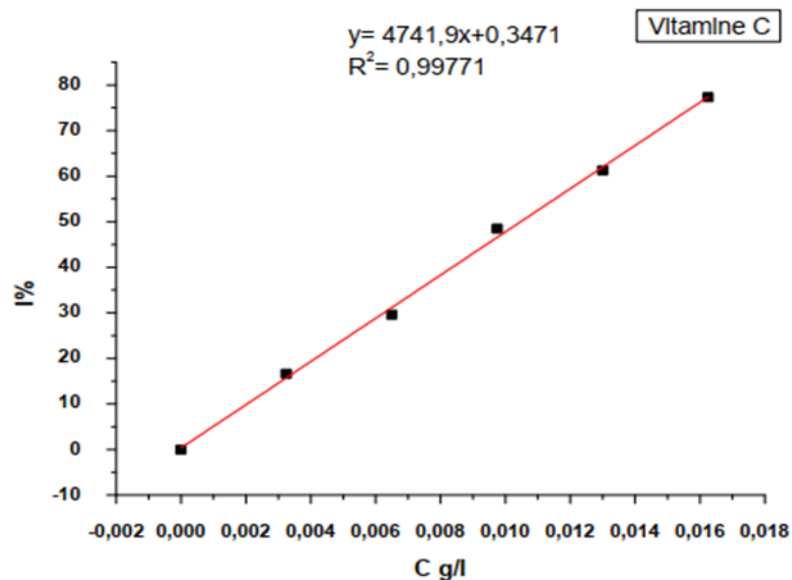


Figure III.2 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (vitamine C)

### ➤ Détermination du CI<sub>50</sub>

Le CI<sub>50</sub> est inversement proportionnelle à la capacité anti-oxydante d'un composé, car elle exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur de CI<sub>50</sub> est petite, plus l'activité anti-oxydante d'un composé est grande.

**Tableau III.3** : Résultats de l'activité antioxydant évaluée par le test OH $\cdot$

Ces résultats montre que ces extraits ont un pouvoir anti-radicalaire envers le OH $\cdot$ . Aux concentrations d'essai, l'augmentation de la concentration des extraits était synonyme d'augmentation de la capacité d'inhibition.

Ces résultats montrent que tous les extraits ont un pouvoir anti-radicalaire envers le  $\text{OH}^\cdot$ , plus la valeur de  $\text{CI}_{50}$  est faible plus l'extrait est considéré comme un antioxydant puissant.

Les résultats consignés dans le tableau ci-dessus montrent que tous les extraits testés ont présenté des  $\text{CI}_{50}$  variant entre 0.96 et 1.50 g/L pour les extraits de feuilles, et entre 1.60 et 4.30 g/l pour les extraits de tiges.

La comparaison de ces valeurs avec celles des antioxydants standards, montrent que les extraits sont moins actifs que l'acide ascorbique ( $\text{CI}_{50}=0.009 \text{ mg/mL}$ )

Ces résultats suggèrent que les extraits d'Astragalus gombo, bien qu'un moyen effet anti-radicalaire, contiennent des agents piègeurs de radicaux libres agissant comme antioxydants primaires. L'action de ces antioxydants est supposée être due leur capacité de donation d'atomes d'hydrogène ou d'électrons dérivée principalement de l'hydroxyle du cycle A des flavonoïdes [23].

#### **III.3.2.2. Chélation de fer:**

L'évaluation de l'activité anti radicalaire de nos extraits via le test Chélation de fer a conduit aux résultats négatifs avec tous les extraits.

#### **III.3.2.3. Test inhibition de $\text{ABTS}^{\cdot+}$ :**

Le modèle de balayage du radical  $\text{ABTS}^{\cdot+}$  stable est une méthode largement utilisée pour évaluer le pouvoir antioxydant total de composés simples et de mélanges complexes de diverses plantes [22].

L'évaluation de l'activité anti radicalaire de nos extraits (tige, feuille) via le test  $\text{ABTS}^{\cdot+}$  a conduit aux résultats illustrés par (la figure III.4 et la figure III.5).

#### **Figure III.4. Variation de l'inhibition du $\text{ABTS}^{\cdot+}$ en fonction de la concentration des extraits d'acétate d'éthyle de tiges.**

Cependant, comme le montre la figure III.4, la capacité d'inhibition de l'acide ascorbique sur le radical  $\text{ABTS}^{\cdot+}$  était bien meilleure que celle d'extrait acétate d'éthyle tige.

### III.3.3. Evaluation l'activité antibactérienne:

L'activité antimicrobienne des extraits de la plante *Astragalus gombo* a été évaluée *in vitro* contre trois espèces bactériennes.

Les résultats que les trois souches bactériennes ont montré aucune sensibilité aux extraits.

Les résultats peuvent être expliqués par des études antérieures: les composés actifs peuvent être présents en quantités insuffisantes dans l'extrait d'éther de pétrole, ou contenir des composés hautement efficaces, ou peuvent être efficaces contre d'autres espèces bactériennes non utilisées dans la présente étude [38].

De nombreuses études montrent que l'extrait d'éther de pétrole de la plupart des plantes médicinales est riche en métabolisme primaire et contient une grande proportion de lipides et de glucides, anticorps essentiels aux bactéries présents *in vivo*.

## *Conclusion générale*



Les ressources naturelles du reine et son capital éprouvé restent à développer de nouveaux traitements thérapeutiques. En utilisant la médecine conventionnelle et l'ethnobotanique, la recherche de molécules biologiquement actives dans les extraits de plantes conduira à leur utilisation comme alternative aux molécules synthétiques.

A partir de notre recherche sur la plante: *Astragalus gombo*, nous avons trouvé que la plupart des études s'intéressaient et concentraient sur les composantes sucrées contenants dans les fruits de cette plante, alors que notre but supérieur de cette recherche est l'évaluation de l'activité antioxydant des extraits des feuilles et des tiges, ainsi que sa capacité à inhibition les radicaux libre:  $ABTS^+$ ,  $OH^{\cdot}$  et la chélation fer, en plus, nous visons à l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits des feuilles et des tiges en utilisant trois souches des bactéries: E. coli, Porteuse et K.E.S.

Les tests phytochimiques effectués par les réactions de caractérisation ont identifié différentes combinaisons de composés (flavonoïdes, saponosides, tanins, etc.) en quantités variables dans les feuilles et les tiges de cette plante.

L'analyse quantitative des extraits par dosage des polyphénols totaux a révélé des teneurs importantes se variante de tiges aux feuilles. De plus, certains extraits ont été caractérisés par une activité antioxydante in vitro et ont montré leur capacité à inhiber les radicaux libres, où nous avons trouvé:

1. Teste  $OH^{\cdot}$  : Meilleurs effets anti-racines lors de l'extraction de dichlorométhane de barres d'une valeur  $IC_{50} = 0,14$ .
2. Chélation de fer: Les résultats étaient négatifs.
3. Test ABTS: , la capacité d'inhibition de l'acide ascorbique sur le radical ABTS était bien meilleure que celle d'extrait acétate d'éthyle tige.

De plus, d'évaluation de l'activité antibactérienne, nous n'avons remarqué que les trois souches bactériennes ont montré aucune sensibilité aux extraits.

# *Référence*

- [1] Ramchandra Gore and Sayojirao Gaikwa.; Checklist of Fabaceae" Lindley in Balaghat Ranges of Maharashtra ", India ,biodiversity data journal, 3 :1-14 (2015).
- [2] Farrokh Ghahremaninejad, Bagheri Ali, Maassoumi Ali Asghar.; Two new species of Astragalus L. sect. Incani DC. (Fabaceae) from the Zanjan province (Iran),34(1) :59-65(2012).
- [3] Xiaoxia Li,LuQu,Yongzhe Dong , Lifeng Han , Erwei Liu , Shiming Fang , Yi Zhang ,and Tao Wang.;A Review of Recent Research Progress on the Astragalus Genus, Molecules, 19(11); 18850-18880 (2014).
- [4] Yazdanshenas Habib. Azarnivand Hossein. Jafari Mohammad. Arzani Hossein.; Determination of the Tragacanthgum production potential of white Astragalus (Astragalusgossypinus) in western rangeland of Isfahan province. (2014).
- [5] Medjekal Samir.; Effets de la saison de collecte sur la valeur nutritive et la production de méthane et de tannins condensés d'Astragalus gombo, thèse de doctorat,université de constantine (2016).
- [6] Hamid, M. H. S. A., Slatford, P. A. and Williams, J. M. J.; Borrowing hydrogen in the activation of alcohols. Advanced Synthesis and Catalysis, 349(10); 1555-1575 (2007).
- [7] J. L. R'ios, w and P. G. Waterman.; A Review of the Pharmacology and Toxicology of Astragalus, PHYTOTHERAPY RESEARCH, VOL. 11: 411–418 (1997).
- [8] .Ghasemian-Yadegari, H. Nazemiyeh, S. Hamedeyazdan, F. Fathiazad.; Secondarymetabolitesfrom the roots of Astragalusmaximus,Research Journal of Pharmacognosy, 4(2) : 31-38 (2017).
- [9] Debuigne g, couplan f ; Petit Larousse des plantes qui guérissent : 500 plantes, (2006).
- [10] Conseil de l'europe. Pharmacopée Européenne : 4 volumes. 8.0 (Tome 1 et 2) ,8.1 et 8.2 (suppléments). (2013).
- [11] Davis, P. H.; "Flora of Turkey and East Aegean Islands ", vol. 3. University Press ,Edinburg , 1970, pp. 49–254.
- [12] Tang, W.,Eisenbrand, G.; Chinese drugs of plant origin: chemistry, pharmacology,and use in traditional and modern medicine. Berlin: Springer-Verlag , (1992).
- [13] Conseil de l'europe. Pharmacopée Européenne : 4 volumes. 8.0 (Tome 1 et 2) ,8.1 et 8.2 (suppléments). (2013).
- [14] Jean-Marie V. B .; Jardin des plantes à couleurs. Collection de plantes tinctoriales service Espaces verts. Rue Frères Biéva 203 - 5020 Vedrin.30.

- [15] Maamria Leyla. Etude phytochimique de deux plantes Leguminosae : Astragalus depressus L. et Astragalus gombo Coss. et Dur. universite hadj lakhdar-batna, thèse de doctorat, (2015).
- [16] A. Zechariah Jebakumar, Hassan S.Nondo, Siju K. George, G.Manoj, Natural antioxydant and Invitro methode for antioxydant activity, International Journal of Pharmacology Research, Vol 2, Issue 1, 2012, p 46-55.
- [17] Trabsa Hayat.; Activité antioxydante et anti-inflammatoire des fractions des plantes médicinales : Sedum sediforme et Lycium arabicum, thèse doctorat, Université Ferhat Abbas Sétif 1, (2016)
- [18] بن ساسي شيماء. تقييم الفعالية المضادة للأكسدة و المضادة للبكتيريا للمركبات الفينولية لبعض أصناف التمور من منطقة وادي ريغ بطرق مختلفة. رسالة لنيل شهادة الدكتوراه ل.م.د. 2018. ص 125.
- [19] Allan, Ronald; The etiology of urinary tract infection: traditional and emerging pathogens .the American journal of medicine, 13(1) : 14-19 (2002).
- [20] Mordi , R, M,Momoh, M, I ., Incidence of Proteus species in wound infections and their sensitivity pattern in the University of Benin Teaching Hospital,journal of biotechnology,8(5): 725- 730 (2009).
- [21] Ade Maliek, Amel. Lezzak, Anouar. Les bactéries du groupe Klebsiella, Enterobacter, Serratia responsables des bactériémies au CHU de Constantine et leurs profils de résistances aux antibiotiques.mémoire mastère. (2016).
- [22] **J.I. Pandith**, *Phytochemical screening of certain plant species of Agra City. Journal of drug delivery and therapeutics*, 2(4): 135-138 (2012).
- [23] Singleton v.l. et rossi j.a.; J. Eol.Vitic, 16: 144-158 (1965).
- [24] **Yuan, J.F.**Antioxidant effects and cytotoxicity of three purified polysaccharides from *Ligusticum chuanxiong* Hort. *Carbohydr. Polym*, 74: 822–827 (2008).
- [25] **Smirnoff, N.** Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. *Phytochemistry*, 28: 1057–1059 (1989).
- [26] R. Sánchez-Vioque. In vitro antioxidant and metal chelating properties of corm, tepal and leaf from saffron (*Crocus sativus* L.),149–153 (2012).
- [27] Dinis TCP. Action of phenolic derivates (acetoaminophen,salicylate and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers. Arch Biochem Biophys, 315: 161-169 (1994).
- [28] Tarik Mohammed Chaouche. Evaluation of antioxidant activity of hydromethanolic extracts of some medicinal species from South Algeria. Thèse de doctorat, 1-6, (2014).

- [29] Re, R., Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Bio. Med*, 26: 1231–1237 (1999).
- [30] Ren-Bo Xu. Chemical Composition and Antioxidant Activities of Three Polysaccharide Fractions from Pine Cones, *INTJ MOLSCI*, 13 : 14262-14277 (2012).
- [31] Tortora G J, Funke B R and Case C L. *Introduction à la Microbiologie*. Editions du Renouveau Pédagogique. France. (2003).
- [32] Heath, H.B, *Source book of flavours*. Ed. Springer, 1st edition. (1981).
- [33] Essawi, T. et Srour, M. Screening of some palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *Journal Of Ethnopharmacology*, 70(3) : 343-349 (2000).
- [34] **Krimat Soumia**, *Antioxidant and antimicrobial activities of selected medicinal plants from Algeria*. **Journal of Coastal Life Medicine**, 2(6): 478-483 2014..
- [35] **S. Shakouie**, *Antimicrobial efficacy of AH-Plus, adseal and Endofill against Enterococcus Faecalis-an in vitro study*. **African Journal of Microbiology Research**, 6(5): 991-994 (2012).
- [36] D Hamada. Chemical Composition, In-Vitro Anti-microbial and Antioxidant Activities of the Methanolic Extract of Anvillea Radiata Asteraceae, *research journal of pharmaceutical biological and chemical sciences* 6(2): 0975-8585 (2015).
- [37] **H. Jouad, M.** *Ethnobotanical survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes, cardiac and renal diseases in the North centre region of Morocco (Fez-Boulemane)*. **J Ethnopharmacol**, 77(2-3): 175-82 (2001).

## Résumé:

A partir de notre recherche sur la plante: *Astragalus gombo*, nous avons trouvé que la plupart des études s'intéressaient et concentraient sur les composantes sucrées contenues dans les fruits de cette plante alors que notre but principal de cette recherche est l'évaluation de l'antioxydant des extraits des feuilles et des tiges ainsi que sa capacité à désactiver les radicaux libres:  $ABTS^{+}$  et  $OH^{\cdot}$ , en plus, nous visons à l'évaluation de l'inhibition des bactéries des extraits des feuilles et des tiges en utilisant trois types de bactéries: E. coli, Proteuse et K.E.S. où les résultats obtenus montrent que cette plante a une bonne efficacité antioxydante, par exemple parmi les extraits, on trouve que But. F a donné une efficacité meilleure en les comparant avec les autres extraits et cela dans le cas de l'inhibition des radicaux libres  $OH^{\cdot}$ .

En ce qui concerne de l'inhibition de la bactérie, ils ne montrent aucune influence (action) concernant toutes les sortes de bactéries utilisées.

**Mots clés:** *Astragalus gombo*, antibactérienne, antioxydants

## Abstract

Through our research of *Astragalus gombo*, we noticed that much attention has been paid to glucose found in this particular plant and studies were conducted to meet the desideratum. Our focus, however, is to measure the efficiency of anti-oxidation of the plants' leaves and trunks, and its ability to inhibit the following types of roots;  $OH^{\cdot}$  and  $ABTS^{+}$ . That in addition to measuring the efficiency of anti-biotic extracts of leaves and trunk using the following bacteria; Proteus, K.E.S, and E.col

Our findings that plant has an impact against oxidation for instance, we find that butanol F leaves show better oxidation results in comparison to other extracts, especially in the case of inhibition of  $OH^{\cdot}$ . As for the bacteria, no impact was shown.

**Keywords:** *Astragalus gombo*, anti-biotic, anti-oxidation

## المخلص:

من خلال بحثنا حول نبتة *Astragalus gombo*، وجدنا أن أغلب الدراسات كانت تهتم وتركز على محتويات السكريات الموجودة في ثمار هذه النبتة وإجراء مختلف الاختبارات الكيميائية عليها. بينما هدفنا الأسمى هو تقييم الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلصات كل من الأوراق والسيقان على التوالي، وقدرتها على تثبيط كل من الجذور الحرة الآتية:  $OH^{\cdot}$ ،  $ABTS^{+}$ . بالإضافة إلى تقييم الفعالية المضادة للبكتيريا لمستخلصات كل من الأوراق والسيقان باستعمال ثلاث سلالات بكتيرية (K.E.S, Proteuse, E.col). حيث أظهرت النتائج المتحصل عليها أن لهذه النبتة فعالية مضادة للأكسدة معتبرة، مثلاً من بين المستخلصات نجد أن مستخلص بيتانول أوراق أعطى فعالية مضادة للأكسدة أحسن مقارنة مع المستخلصات الأخرى وذلك في حالة تثبيط الجذر الحر  $OH^{\cdot}$ .

أما بالنسبة للفعالية المضادة للبكتيريا فإنها لم تبدي أي تأثير حول كل سلالات البكتيريا المستعملة. **الكلمات المفتاحية:** *Astragalus gombo*، الفعالية المضادة للأكسدة، الفعالية المضادة للبكتيريا