

**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique**

**Université de Kasdi Merbeh- Ouargla
Faculté de Mathématiques et des Sciences des Matériaux
département chimie**



Mémoire

**présenté pour obtention du diplôme de master Académique
spécialisée : chimie
option : phytochimie**

Par : BENARIMMA Hanane ; NAILI Ibtissam

Thème :

**Investigation phytochimique et l'activité biologique
d'une plante médicinale de la famille lamiacée
« *Sideritis incana l* »**

Soutenu le :10 /06 /2018 devant les membres de jury :

Hadef derradji	M.C.B	Président
Ben ali moustapha	M.C.B	Examineur
Mekhelfi Tarak	M.C.B	Rapporteur

Année universitaire :2017/2018



Remerciement

Nous tenons à remercier le bon Dieu qui nous a aidés dans la réalisation de ce modeste travail.

Nous pensons à notre encadreur '**MEKHELFI Tarak**' qui n'a ménagé aucun effort pour nous assister dans cette recherche.

Nous remercions également tous les enseignants du département de chimie. université Kasdi merbeh.

Nos remerciements vont aussi à nos camarades et amis qui durant cette formation ont fait preuve de solidarité à notre endroit.

Nous remercions enfin, tous ceux qui de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de cette tâche :

Nos collègues.

Le professeur : **HALISS Youcef**.

Les responsables de laboratoire : **Makaoui Ramaden, Asma, Anissa, Hanane**.

Les étudiant de labo VPRS : **Djamila, Chaima , Asia, Manel, Salha, Amina, Mehdi.....**





Dédicace

Je dédie ce travail aux étoiles qui éclairent ma vie, à ma source de tendresse « mes parents » les deux être qui ont pu m'éduquer, qui étaient toujours derrière moi et qui m'ont poussé à aller de l'avant.

A ma grand-mère, que dieu ait pitié d'elle.

A mes chers parents. Dieu leur a fait une couronne au-dessus de ma tête.

A mon amour, mon fiancé **BELAHCEN Lahcen**.

A mon professeur **SAOULI Messaoud**.

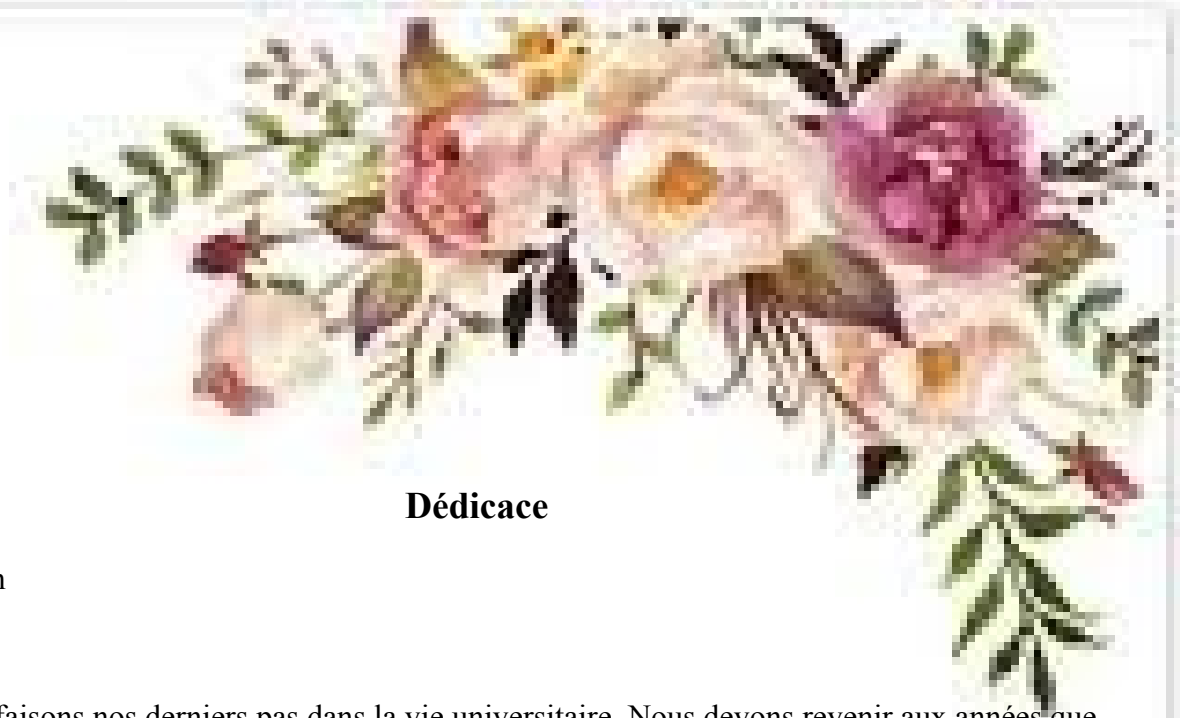
A mes frères et sœurs.

A tous ma famille '**NAILI**'

A mes amis mon amour **Hamida, Maroi, Hadjer, Dalal, F.Zohra, Messaouda, Amina, Safa.....**

A tous mes collègues. **Safa, Samia, Chahra zed, Fatma, Hanane, Radia, Sabrina.....**

Ibtissam



Dédicace

Louange à Allah

Alors que nous faisons nos derniers pas dans la vie universitaire, Nous devons revenir aux années que nous avons passées avec nos éminents professeurs qui nous ont donné beaucoup Avec nos professeurs respectables qui nous ont donné beaucoup.

Je dédie ce travail.

A ma mère bien-aimée te A mon cher père, À l'Esprit qui a habité mon âme Mon mari bien-aimé, A Chers mes frères et mon collègue **Ibtissam**.

A tous ceux qui ont contribué à compléter cette recherche, Donnez-nous un coup de main et fournissez-nous les informations nécessaires, A tous ceux qui nous ont soutenus de près et de loin.

Hanane



Sommaire

Sommaire

Introduction.....1

Partie théorique

Chapitre I :rappel Bibliographique

I.1Généralité sur la famille lamiacée.....4

I.1.1.Sections sexuelles dans le monde4

I.2.Position systématique de la famille lamiacée.....5

I.3.Propriété pharmacologie du sideritis.....5

I.3.1.Utilisation en médecine traditionnelle le sideritis.....5

I.3.2.Extension géographique du sideritis6

I.4.Etude chimique antérieure sur sideritis6

I.4.1.Investigation chimique.....6

I.4.1.A.les flavonoïdes.....6

I.4.1.B.les terpènes.....7

I.4.1.C.Les composés acides phénoliques8

I.4.1.D.Les huiles essentielles.....8

I.4.2.Investigation biologique.....8

I.4.2.A.Propriété thérapeutique.....8

Chapitre II : Métabolite secondaire

II.1.Metabolite secondaire.....	11
II.2.Les terpènes.....	11
II.2.1.Classiffication des terpènes.....	11
II.3.Les composes phénolique.....	12
II.3.1Les acide phénoliques.....	12
II.3.2.les coumarine.....	12
II.4.Les saponosides.....	13
II.5.Tanin	14
II.6.Les huiles essentiels.....	14
II.7.Les flavonoïdes :.....	14
II.7.1.Introduction.....	14
II.7.2.Definition et classification	14
II.7.3.Biosynthese de chalcone.....	15
II.7.4.Biosynthese des flavonoïdes	16
II.7.5.Caractéristiques physico-chimiques des flavonoïdes.....	17
II.7.5.1.solibilité et extraction.....	17
II.7.5.2.caracterisation.....	18
II.7.5.2.A-.caracterisation chromatographiques.....	18
II.7.5.2.B- Caractéristique spectrophotométries.....	19
II.7.5.2.C- dosage.....	19
II.8.Etude chimique des flavonoïdes.....	19
II.8.1.La chromatographie.....	19

II.8.1. chromatographie Cp.....	20
II.8.2. chromatographie CC.....	20
II.8.3. chromatographie CCM.....	20
II.8.4. chromatographie HPLC.....	20
II.8.2.les méthodes d'analyse.....	20
II.8.2.1.Les méthodes chromatographie.....	20
A- La fluorescence.....	20
B-Facteur de retardement Rf.....	21
II.8.2.2.Les méthode spectroscopie.....	22
A-La spectrométrie UV –visible :	22
B-Spectre de masse.....	22
C-spectre RMN H et RMNC.....	22
II.9.activité biologique des flavonoïdes.....	22
II.9.1.activité anti-inflammatoires et immunologique	22
II.9.2.Activité anti-oxydante.....	23
II.9.3.activité antibactérienne.....	23
II.9.4.Activité anti ulcéreux :	23
II.10.Interet des flavonoïdes.....	24
Chapitre III : activité antioxydant	
III-1.Introduction.....	27
III-2-1.Difinition radicale libre	27
III-2-2.Piégeage du radical 2.2 diphényle DPPH fut l'un des permis radicaux	28

III-3.Les antioxydants.....	28
III-4.Classification des antioxydant.....	28
III.4.1.par rapport à leur mécanisme d'action.....	28
III.4.2.selon leur nature.....	29
III.4.3. Mécanisme d'action des antioxydants	29

Chapitre IV. L'étude phytochimique et l'activité antioxydant

IV.1.L'étude phytochimique de l'espèce sideritis incana	33
IV.1.1-Description sur la plant	33
IV.1.2-Position systématique sur sideritis incana L.....	33
IV.1.3-La répartition géographique des espèces de sideritis incana l.....	34
IV.1.4- Etude bibliographique.....	34
IV.1.5-Matiere végétale.....	34
IV.1.6- Extraction de la partie aérienne de la plante.....	34
IV.1.7- Tests phytochimique	37
IV.1.7.1-les composer polyphénolique.....	37
A- les flavonoïdes.....	37
B- les tanins.....	37
C- Les coumarines.....	37
IV.1.7.2Les alcaloïdes	38
IV.1.7.3-terpenoïde.....	38
IV.1.7.4.Les saponines (test de mouse).....	38

IV.1.7.5. Les composés réducteurs (Glycosides).....	36
IV.2. Séparation et purification.....	39
IV.3. Dosage polyphénol totaux et flavonoïdes.....	42
IV.3.1. Dosage polyphénol totaux.....	42
IV.3.2. Dosage des flavonoïdes.....	43
IV.4. activité antioxydant.....	44
IV.4.1. test DPPH.....	44
IV.4.2. test TAC.....	46
IV.5. activité antibactérienne.....	47
IV.5.1. Définition.....	47
IV.5.2. Les classes de bactéries.....	47
IV.5.3. Les souches étudiées.....	47
IV.5.3.1. pseudomonas aromagenosa.....	47
IV.5.3.2. Staphylococcus aureus.....	48
IV.5.3.3. Echerichia Coli.....	48
IV.5.6. test antibactérien.....	48
IV.5.6.1. Préparation de milieu de culture.....	48
IV.5.6.2. Préparation des disques.....	48
IV.5.6.3. Ensemencement.....	48
IV.5.6.4. Préparation des extraits.....	48

IV.5.6.5. Les résultats.....	49
------------------------------	----

Chapitre V. Résultats et discussion

V.1.Les tests phytochimique	51
V.2.Etude qualitative analytique des extraits.....	51
V.3.Analyse quantitative des composés phénoliques sur la plant.....	53
V.3.1.Dosage polyphénol totaux.....	53
V.3.2.Dosage de flavonoïdes	54
V.4.Activité antioxydant.....	54
V.4.1.Résultats de la capacité inhibitrice DPPH.....	55
V.4.2.Résultats de la capacité inhibitrice TAC.....	56
V.4.3.Résultats de bactérie.....	57
Conclusion.....	61

List des figures

Chapitre I Rappel bibliographie	
FigI.1.repartition géographique de l'espèce de sideritis.	4
Chapitre II : Métabolite secondaire	
FigII.1.un exemple de la liaison d'unité d'isoprène est le lien tête –queue.	11
FigII.2.coumarine	13
FigII.3.structures des principaux squelettes des génines stéroïde	13
FigII.4. structure de base de flavonoïdes	15
FigII.5.les structure de flavonoïdes	15
FigII.6.biosynthese de chalcone	16
FigII.7.squelette de base des flavonoïdes	16
FigII.8. la biosynthèse des flavonoïdes	17
FigII.9.les bondes caractéristiques d'un squelette flavonique	19
Chapitre III : Activité antioxydant	
Fig. III.1.mécanisme réactionnel d'un antioxydant avec DPPH*	28
Chapitre IV : travaille pratique	
Fig. IV.1. sideritis incana l	33
Fig. IV.2. les tests phytochimique	39
Fig. IV.3.les phase en CCM	39
Fig.IV.4.la phase d'acétate d'éthyle sous lumière UV	40
Fig. IV.5. chromatographie CCM	41
Fig. IV.6.les résultat sous lumière UV	41
Fig. IV.7. les résultats sous lumière UV	42
Fig. IV.8. acide gallique	42
Fig. IV.9. courbe d'étalonnage d'acide gallique	43
Fig. IV.10. quercétine	43
Fig. IV.11. courbe d'étalonnage de quercétine	43

Fig. IV.12. courbe d'étalonnage de DPPH par acide ascorbique	46
Fig. IV.13. courbe d'étalonnage d'acide ascorbique dans test molybdenuim	47
Chapitre V : Résultat et discussion	
FigureV.1. Quelques résultats du test phytochimique brut	51
Fig. V.2.sous lampe UV 365 nm	51
Fig. V.3.sous lampe UV	52
Fig. V.4.sous lampe UV l'extrait acétate d'éthyle	52
FigureV.5. graphie de comparer les valeurs des polyphénols de déférent extrait	53
Figure V.6. la comparer des flavonoïdes entre les déférentes phases	54
Figure V.7. les courbe d'inhibitrice par les extraits d'étudiée dans le test DPPH	55
Figure V.8. les courbe d'inhibitrice par les extraits d'étudiés dans le test TAC	56
Fig. V.9.Résultat des bactéries.	58

List des tableaux

Tableau II.1.classification des terpènes	11
Tableau II.2.classification des polyphénols	12
Tableau II.3.Fluorescence des structures flavonique sous lumière UV	18
Tableau II.4.la relation entre la fluorescence et la nature des flavonoïdes	21
Tableau II.5.la relation entre RF et structure flavonidique	21
Tableau II.6. quelque espèces des flavonoïdes que utilisé dans le traitement de quelque malade.	24
Tableau IV.1.le protocole d'extraction	36
Tableau IV.2.le poids et le rendement des extrait des <i>sideritis incana l</i>	37
Tableau IV.3.les résultats des tests phytochimie	38
Tableau V.1.montré la quantité de polyphénol total	53
Tableau V.2.montré les valeurs de CI50 des extraits	
Tableau V.3.les valeur de diamètre d'inhibition d'extrait chloroforme	57
Tableau V.4.les valeur de diamètre d'inhibition d'extrait acétate d'éthyle	57
Tableau V.5.les valeur de diamètre d'inhibition d'extrait n-Butanol.	57
Tableau V.6.les valeur de diamètre d'inhibition de phase aqueuse.	58

List d'abréviation

AcOEt	Acétate d'éthyle
ATCC	American Type Culture Collection
C	Concentration
CC	Chromatographie sur colonne
CHS	Chalcone synthèse
CP	Chromatographie sur papier
CCM	Chromatographie sur Couche Mince
mm	Millimètre
DPPH	2.2-diphenyl-picryl hydrazyl
DPPH*	2.2-diphenyl-picryl hydrazine
EP	Ether de pétrole
EAG	Equivalent d'acide gallique
EQ	Equivalent quercétine
EOR	Espèces Oxygénées réactives
Fig	Figure
G	Gramme
HPLC	Chromatographie liquide
I%	Inhibitrice
IC50	Concentration d'inhibitrice
MeOH	Méthanol
mg	Milligramme
ml	Millilitre
min	Minute
mg GAE/g	milligramme équivalente acide gallique par gramme
RMN	Résonnance magnétique nucléaire
OH [•]	Radical hydroxyle
O ₂ ^{-*}	Anion superoxyde
NO [*]	L'oxyde nitrique
TAC	Totale antioxydant capacité
ROO [*]	Radical peroxyde

RO*	radical alkoxyde
DMSO	diméthyle silfoxyde
Rf	Facteur de retardement

Introduction

Concentrer L'attention de l'homme sur les ressources naturelles, en particulier la végétation, qui est très important dans le traitement, Cosmétiques, industrie alimentaire et notre aspect environnemental. La nécessité de le restaurer a été démontrée par des efforts pour le développer et en prendre soin Bien que l'utilisation de plantes par l'homme ancienne reste la principale source de traitement de nombreuses maladies qui l'affectent.

La phytothérapie est un phénomène de longue date dans la péninsule arabe, où elle est appelée plante médicinale, et l'Organisation mondiale de la santé a confirmé que 80% de la population mondiale dépend du traitement des maladies avec l'utilisation des plantes et de plus de 80% de la population Africaine.

Dans cette recherche, nous cherchons une étude sur une plante médicinale *SIDERITIS incana* L. de la famille Labiées et le genre *sideritis* .d'importance thérapeutique différente comme les antibactériens .anti-inflammation, antioxydant, antifongique.....etc. il réparti au niveau de la mer Méditerranée et nous avons Coupé cette plant du sud de l'Algérie depuis la ville de Biskra.

dans ce travail nous discuté :

Chapitre I : Rappel Bibliographie

Chapitre II : Métabolisme secondaire

Chapitre III : Antioxydants

Chapitre IV : L'étude phytochimique de la plante , séparation ,l'estimation quantitative, antibactérien et oxydation

Chapitre V : Discussion et résultats

Partie

Théorique

Chapitre I
Rappel
bibliographie

I.1.Généralité sur la famille lamiacées

La famille des lamiacées dénommé aussi labiées regroupes des plante herbacée et sous arbustes repartis dans le monde entier^[01], elle est très important dans la flore algérienne^[02], ils sont utilisés dans la médecine traditionnelle et dans les plats de cuisine^[03], cette famille compte environ 6970 espèces reparties en 240 genres^[04].

La famille des lamiacées est l'une des famille les plus utilise comme source mondiale d'épices et d'extrait à fort pouvoir antimicrobienne ,antifongique, anti inflammatoire et antioxydant, les huiles essentielles caractérisent cette famille^[05], un très grand nombre de genres de la famille des lamiacées sont des source riche en terpenoide , flavonoïde ,irioïdes glycolyses ,les compose phénolique^[06].

I.1.1. Sections sexuelles dans le monde :



Figure I-1 : Répartition géographique de l'espèce de SIDERITIS^[07].

I.2. Position systématique de la famille lamiacée^{[08][59]}

Embranchement	Spermatophyta
Sous –embranchement	angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Gamopétales
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiacée
Genre	Sideritis

I.3. Propriété pharmacologie du sideritis

1/-plein d'antioxydant et de flavonoïdes^[09]

En 2011, le « Journal of Ethnopharmacology » a publié une étude sur la teneur en flavonoïdes de toutes les plantes trouvées dans le genre Sideritis. Malgré le large éventail de plus de 150 espèces disponibles, les chercheurs ont démontré que toutes les plantes de l'espèce Sideritis qu'ils ont trouvés, ont des propriétés antimicrobienne, anti-inflammatoire, antioxydant et antispasmodiques. Ils étaient riches en un certain nombre d'antioxydants naturels, notamment des flavonoïdes, et presque toutes les espèces contenaient également des huiles essentielles.

2/-abaisse la pression artérielle^[09]

L'étude animale mesuré la pression artérielle et constaté qu'une dose de Sideritis extrait a conduit à une dilatation des vaisseaux sanguins, qui a contribué à des niveaux inférieurs de la pression artérielle et réduire le stress sur le muscle cardiaque.

3/-protège le system digestif^[09]

I.3.1. Utilisation en médecine traditionnelle le sideritis

Les espèces de sideritis ont été traditionnellement utilisée comme thés pour l'alimentation, les agent aromatisants, dans la médecine traditionnelle la décoction ou l'infusion de arienne part administrés par voie orale ou topique, ils sont utilisés dans

la médecine populaire comme agents anti-inflammatoires, antiulcéreux, anti microbienne, vulnérants, anti oxydants ; antispasmodique, anti convulsivants, analgésique et carminatifs ^[10].

I.3.2. Extension géographique du sideritis :

Le genre *Sideritis* est généralement divisé en quatre sections de plantes vivaces et deux d'autres d'herbes annuelles.

La section *Sideritis* est endémique (répartition) de la Région de la Méditerranée occidentale (sud), allant du nord du Jura français au sud de l'Atlas du Maroc et de Cabo de San Vicente au Portugal , nord de l'Italie en Europe et le nord de Tunis en Afrique^[11].

I.4. Etude chimique antérieure sur sideritis

I.4.1. Investigation chimique

Grâce à l'étude phytochimique précédente de différentes parties du genre *SIDERITIS* on a découvert qu'elles contenaient plusieurs types différents de métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les acides phénoliques et d'autres terpènes.

I.4.1.A. les flavonoïdes

Composés	Espèces	Références
Chrysoeriol	<i>Sideritis</i> espèces	[12]
Chrysoeriol	<i>S. Montana</i>	[13]
Kaémphérol	<i>S. euboea</i>	[14]
Isoscutellarein	<i>Sideritis</i> espèces	[12]
Apigénin		
flavonoïde 7-O-diglycosides	<i>Sideritis</i> simples (<i>S. scardica</i> and <i>S. raeseri</i>)	[15]
acetylated flavonoïde 7-Odiglycosides		
Apigenin 7-O-B-D-glucopyranoside	<i>S. taurica</i> Stephan	[16]

Xanthocine		
8-hydroxyflavone glycosides	S.incana	[58]

I.4.1.B.les terpènes

Composés	Espèces	Reference
Trachinol acétate	Sideritis canariensis	[17]
Ribenol formate		
trachinodiol 7b acetate-18formate		
trachinodiol18-palmitate.		
Canadiol et sicanadiol		
Sidérol * sideridiol	<i>Sideritis</i> simples (<i>S. scardica</i> and <i>S. raeseri</i>)	[15]
Tri terpène rhoipletenol	S.candicans var.eriocephala	[18]
	S.lotsyi	
	S.discolor	
	S.tenoi	
	S.soluta	
Erythrodiol	S.discolor	
Lupeol	S.argosphacelus.var spicata	[16]
a- amyrin stigmastérol b-sitostérol	S.taurica Stephan	
Sideridiol Sideredol	S.italica	

Sidérol Linearol Epicandicandiol Foliole	S.siplytea .Bois Foliole	[18]
S.discolor	Acide oléanique	[18]
S.candicans var .eriocephala	Acide ursolique	
S.soluta		
S.lotsyi. var. mascaensis		

I.4.1.C.Les composés acides phénoliques

Composés phénolique	acide	Espèces	Référence
Acide chlorogique		S. montana	[13]
Acide caféique			

I.4.1.D.Les huiles essentielles

Espèce	Composés	Références
S.incana	Linalol Céderol Géranol a-terpinéol	[19]
S.condensata	B-caryophyllene a-pinène	[18]

I.4.2. Investigation biologique

I.4.2.A. Propriété thérapeutique

Espèce	Activité biologique	Reference
S.albiflora	Activité antimicrobiennes	[20]
S.brevibracteata		
S.pisidica		
S.albiflora	Antifungal	[20]
S.brevibracteata		
S.pisidica		
S.condensata bois &Helder	Activité antibactérienne	[21]

S.erythrantha bois &Helder		
S.euboea	Anti-oxydante	[14]
<i>Sideritis</i> simples (<i>S. scardica</i> and <i>S. raeseri</i>)		[15]
S. leucantha ssp.incana var	Anti-inflammatoire	
S.pusilla		

Chapitre II

métabolite

secondaire

II.1.Métabolite secondaire

Métabolites secondaire des plant sont des compose chimique synthèses directement par les plants. Dans ces cas les études intérieures montré que le genre sideritis est riche en métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les terpènesetc. ils sont des compose phénoliques, on le trouve dans la plupart des plantes ^[22].

II.2.Les terpènes

Les terpenoides, qu'on appelle parfois isoprénoides^[11] ils Sont un groupe de produits chimiques largement répandus qui sent dérivés d'une combinaison de deux ou plus isoprènes , ils présent dans tous les plant ,les insectes , et les germes comme peut être trouvé dans les algues et les champignons^[23].

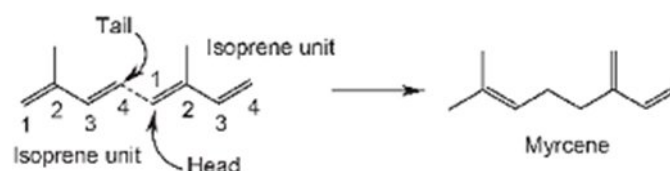


Fig .II.1 : Un exemple de liaisons des unités d'isoprène est le lien tête-queue

II.2.1.Classification des terpènes :

La classification selon le nombre de l'isoprène que introduire dans confirmation de compose.

Type de l'isoprène	Nombre de carbone	Nombre d'unité isoprène	Exemple
Mono terpène	10	2	Limonène
Sesquiterpène	15	3	Artemisinin
Di terpène	20	4	Fors Kolín
Tri terpène	30	6	a-amyrin
Tétra terpènes	40	8	b-carotène

Tableau II.1 :classification des terpènes^[23].

II.3. Les composés phénoliques :

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires végétaux qui contiennent un ou plusieurs cycles benzéniques portant un ou plusieurs fonctions hydroxyles^[24]. Ils sont divisés selon l'ensemble des substitutions, le nombre et les différentes fonctions. Le tableau suivant montre les structures de base des composés phénoliques.

Nombre de carbone	Structure	Les composés
7	C6-c1	Acides phénols
9	C6-c3	Acides hydroxycinnamiques
9	C6-c3	Coumarines
10	C6-c4c	Naphthoquinones
13	C6-c1-c6	Xanthones
15	C6-c3-c6	Flavonoïdes

Tableau II.2 : classification des Polyphénols

II.3.1. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques sont contenus dans un certain nombre de plantes agricoles et médicinales, les acides hydroxycinnamiques dérivent de l'acide cinnamique avec une structure de base (C6-C3)^[24].

II.3.2. Les coumarines

Les coumarines Ce nom dérive de la plante dont il a été séparé en 1820 par le chercheur VOGEL. Le composé parent des hydroxylates de coumarinate, simple^[25] les coumarines sont un groupe de composés polyphénoliques appartenant à la famille des benzopyrones, qui sont constituées d'un noyau benzénique relié par un noyau pyrone (1-benzopyran-2-one). Plus de 1300 coumarines ont été identifiées comme des métabolites secondaires de plantes, de bactéries et de champignons^[26]. Les coumarines responsables de l'odeur trouvée dans le haschisch (grasse)^[25]

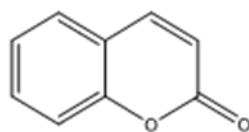


Fig II.2 : coumarine

II.4. LES SAPONOSIDES :

Les saponosides ou saponines sont un groupe de métabolites secondaires, abondamment trouvés dans certaines familles du règne végétal et les animaux marins. Leur nom provient du latin *sapo* signifiant "savon". Ce sont des glucosides stéroïdiques ou tri terpénique qui ont la propriété de former des solutions moussantes en présence d'eau [22,25,15].

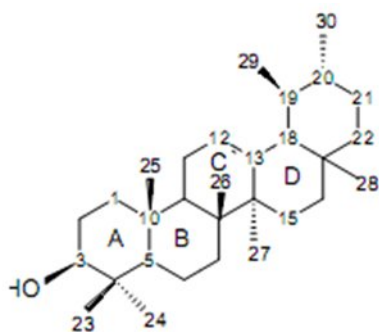
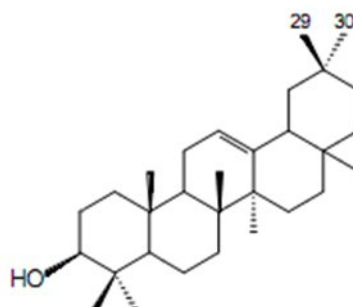
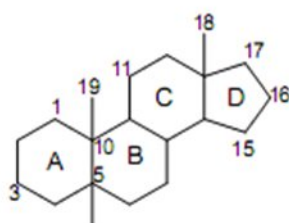
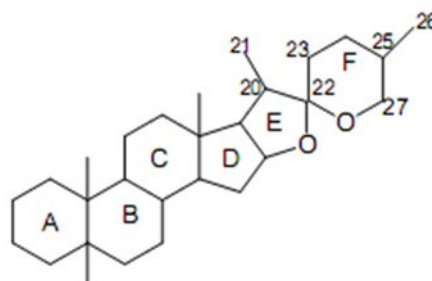
Type A-Amyrine
(Uranane)type B-Amyrine
(Oléanane)Structure de la molécule
du Stéranestructure de la molécule
du Spirostane

Fig. II.3: Structure des principaux squelettes des génines stéroïdiques [27].

II.5. Tanin :

Le mot tanin a été utilisé pour la première fois par Seguin en 1779 pour désigner les constituants chimiques de la noix de galle qui est capable de transformer la peau fraîche en cuir imputrescible et peu perméable^[28]. De nombreux composés ont une variété de phénols qui ont un goût très désagréable, Les composés utilisés dans le bronzage et leur propre La capacité de transformer des peaux d'animaux souples en peaux non pourries et peu perméables est attribuée à sa capacité à lier des protéines^[25].

II.6. Les huiles essentielles

C'est un produit issu de la distillation d'une ou de plusieurs de parties d'une végétal : feuille, fruits, fleur, écorces, racines, graines, résines.....

Les huiles essentielles sont présentes dans la plupart des plants, dans différents familles comme les lamiacées, les Myrlacées et les Apiacées...etc. Ils sont liquide à température ambiante avec forte odeur aromatique, nous obtenons à travers la distillation à la vapeur d'eau est la plus répandue^[29,30].

II.7. Les flavonoïdes :

II.7.1. Introduction :

Le nom flavonoïde provient du terme flavedo, ils ont été désignés sous le nom de vitamine P, Les flavonoïde représentent une classe de métabolites secondaire largement répandus dans le règne végétal^[31], ils ont tous une origine biosynthétique comme ce groupe de composés est défini par une structure générale en C₁₅^[32].

II.7.2. Définition :

Les flavonoïdes sont des polyphénol complexes dont la structure est constituée de deux noyaux aromatique (A et B) et d'un hétérocycle (cycle C)^[34]. ils sont localisés dans divers organe : fleurs .feuilles .fruites. Tiges et racine.

La couleur des fruits, des fleurs et des feuilles est une caractéristique des flavonoïdes^[33]. structurellement, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules cette division dépend de substituant du noyau de flavonoïde.

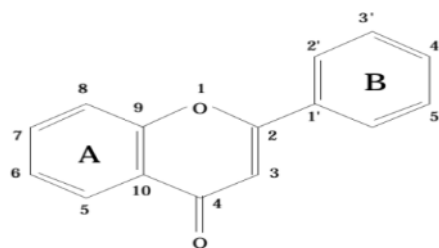


Fig.II.4. Structure de base des flavonoïdes

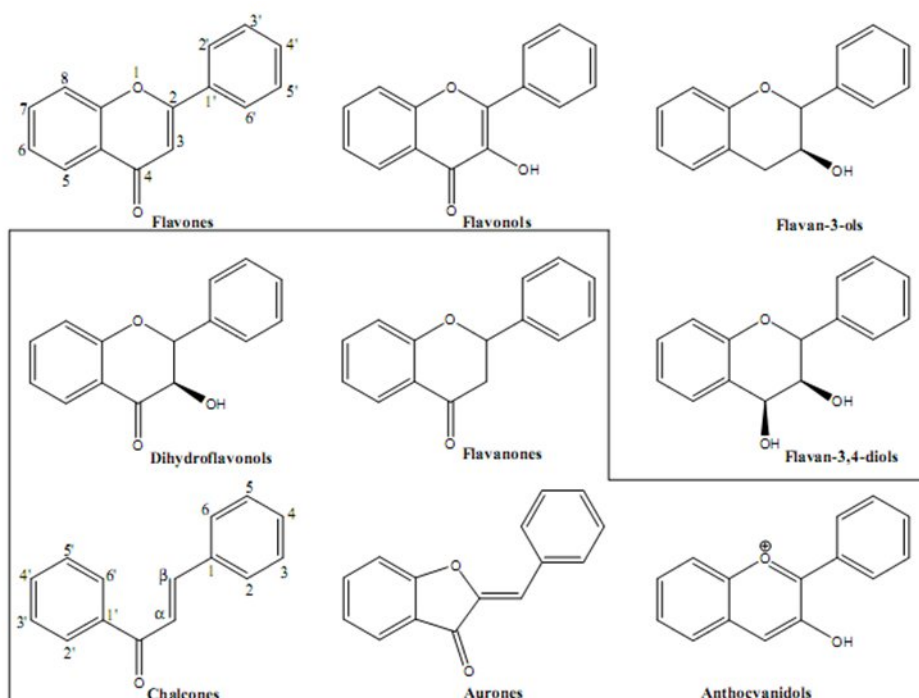


Fig.II.5. Les structures de flavonoïdes [32].

II.7.3. Biosynthèse de chalcone:

Au plan biosynthétique, les flavonoïdes ont tous une origine biosynthétique commune, ils résultent de la condensation de 3 unités de malonyl-CoA en formant le noyau A, et d'un acide cinnamique activé qui sera à l'origine du noyau B et de la chaîne propanique. Cette condensation est catalysée par la chalcone synthase (CHS), enzyme clé dans la formation des flavonoïdes, qui conduit à un précurseur appelé la chalcone.

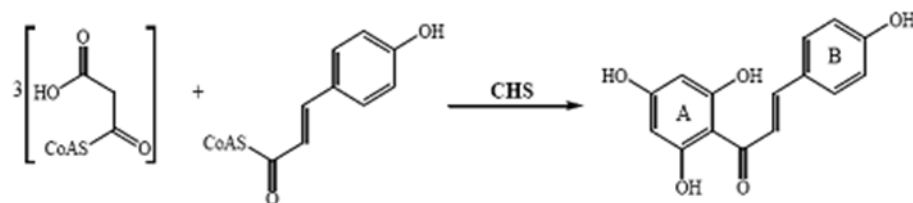


Fig. II.6. Biosynthèse de chalcone ^[22].

II.7.4. Biosynthèse des flavonoïdes

De nos jours, plus de 4000 flavonoïdes ont été identifiés. Ils ont un origine biosynthétique commune et par conséquent, possédant tout un même squelette de base à 15 atomes de carbone ^[35].

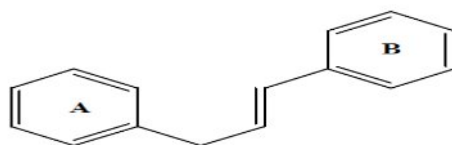


Fig. II.7. Squelette de base des flavonoïdes

Leur biosynthèse se fait à partir d'un précurseur commun, la 4,2',4',6'-Tétrahydrochalcone. Cette chalcone de couleur jaune est métabolisée sous l'action d'enzyme, la chalcone isomérase, en flavanone : naringénine. C'est sur cette dernière qu'agit ensuite la flavone synthase ou la (2S)-flavanone-3-hydroxylase pour donner la formation de la flavone : apigénine ou le dihydroflavonol : (2R, 3R)-dihydrokaempférol, respectivement. Les deux enzymes fonctionnent différemment, la première introduit la double liaison entre les carbones C-2 et C-3, tandis que la deuxième catalyse l'hydroxylation du carbone C-3. Le dihydroflavonol, en présence de la flavonol synthase ou la dihydroflavonol-4-réductase, se métabolise en flavonol : kaempférol ou en flavan-3,4-diol : leucoanthocyanidol, respectivement. Ce dernier semble être le précurseur des flavan-3-ols et anthocyanidols. Cependant, les étapes ultimes de leur formation ne sont pas encore élucidées. Le pélagonidol, sous l'action de la 3-O-glycosyltransférase, se transforme en anthocyanoside : pélagonidol-3-glucoside.

Les composés de chaque sous-classe se distinguent par le nombre, la position et la nature des substituants (groupements hydroxyle, méthoxyle et autres) sur les deux cycles aromatiques A et B et la chaîne en C3 intermédiaire. A l'état naturel, on trouve très souvent les flavonoïdes sous forme de glycosides. Une ou plusieurs de leurs fonctions hydroxyles sont alors glycosylées. La partie du flavonoïde autre que le sucre est appelée aglycone [36]

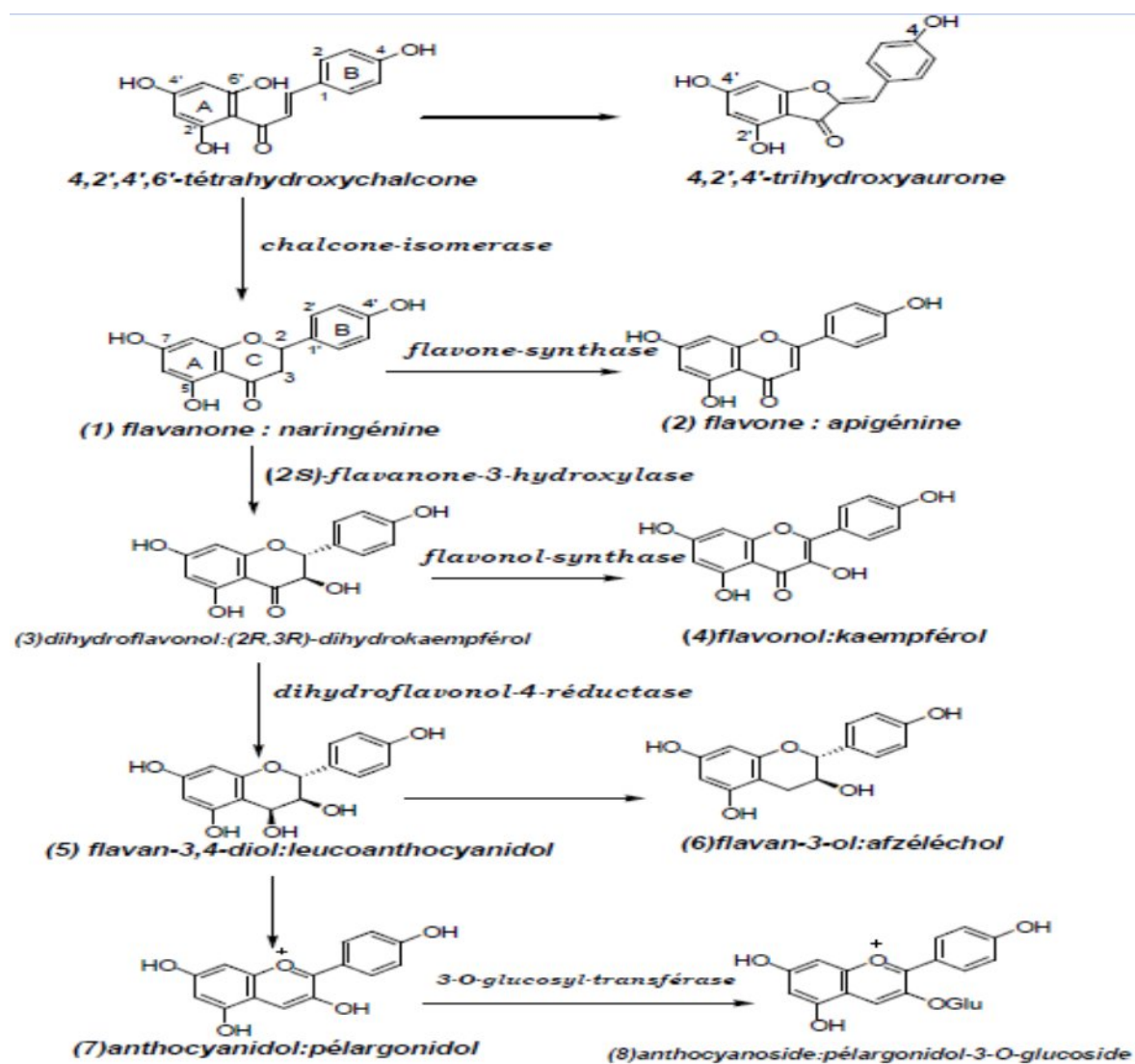


Fig. II.8. La biosynthèse des flavonoïdes (Bruneton, 1999)

II.7.5. Caractéristiques physico-chimiques des flavonoïdes

II.7.5.1. solubilité et extraction

. les génines sont pour la plupart , soluble dans les solvants organiques apolaires lorsqu'elles ont au moins un groupe phénolique libre. Les hétérosides sont hydrosolubles et soluble dans les alcools, ils peuvent être extraits , le plus souvent à chaud , par l'acétone ou par des alcools additionnés d'eau. il est possibles de

procéder ensuite à une évaporation sous vide et lorsque le milieu ne contient plus que de l'eau, de mettre en série d'extractions liquide-liquide par des solvant non miscible à l'eau. Si les aglycones sont les cibles, une hydrolyse chimique est habituellement effectuée avec de l'acide chlorhydrique ou l'acide formique à des températures élevées, l'hydrolyse enzymatique est également employée. Si l'intérêt des flavonoïdes –glycosylés intact, l'hydrolyse devrait naturellement être empêchée [38,37,35].

II.7.5.2. caractérisations

II.7.5.2. A. Caractérisation chromatographiques

Si plusieurs réactions colorées permettent de mettre en évidence génine et hétérosides dans les extrait brut, l'étude préliminaire de ces extraits est classiquement, dominée par une analyse en CCM [37] des indicateur significatives sur la structure chimique

des flavonoïdes peuvent être fournies par les valeur des Rf dans un système de solvant donné la couleur de la fluorescence sous lumière ultra-violette peut également orienter quant à la structure de la famille flavonique [33].

Le tableau suivant montre quelque résultat

Couleur des spots	Structures flavoniques
Noir –violette	Flavones-5,6,7 Flavonol substitué en 3
Bleu	Flavone ou flavonol sans OH en 5 Flavanone avec OH en 3 ou flavanol
Jaune ou jaune terne	Flavonol avec 3-OH, et avec ou sans 5-OH
Orange	Isoflavones
Jaune verte	Aurones
Verte	Chalcones
Bleu verte	Flavanone sans 5-OH

Tableau .II.3. Fluorescence des structure flavonique sous lumière UV [33]

II.7.5.2.B.Caractéristique spectrophotométries

L'étude sur les flavonoïdes par spectrophotométrie UV a révélé que la plupart des études sur des flavones et de flavonol qu'impliquent des fonctions chimiques responsables de cette absorption .ils sont constituées de liaisons riches en électrons délocalisés ou de la conjugaison de celles – ci. L'identification des flavonoïdes grâce aux spectres UV dans le méthanol et en présence de réactifs. Le spectre d'absorption d'une structure flavonique présente deux bandes d'absorption essentielle

*la bande 1 : située à entre 300 et 400 caractérise la forme cinnamoyle de la molécule.

*la bande 2 : située à 240-285 nm est attribuée à sa forme benzoyle^[33].

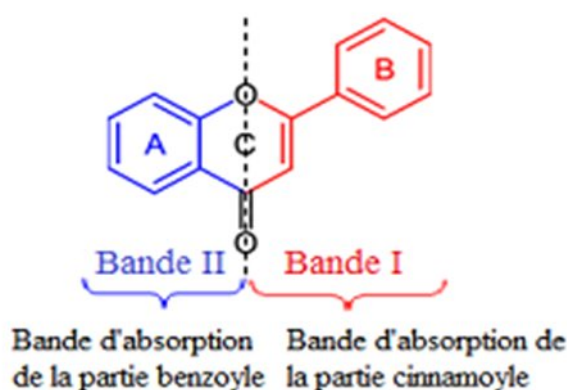


Fig II.9.Les bandes caractéristique d'un squelette flavonique

II.7.5.2.C.dosage

Les méthodes de dosage classique sont le plus souvent colorimétriques ou spectrophotométries^[38,37], la HPLC offre maintenant la possibilité d'une estimation rapide et précise de tous les flavonoïdes présents dans une drogue, elle est donc largement utilisée^[37].

II.8.Etude chimique des flavonoïdes^[39,40]

II.8.1.La chromatographie

La chromatographie est une méthode de séparation et de purification pour séparer les composants du mélange, découvre par Twestt à 1903, pour séparer les matériaux colorés.il dépend de la distribution du matériau entre deux phases, l'une fixe et l'autre mobile. Pour séparation les méthodes les plus importants suivant :

II.8.1.1. la chromatographie sur papier

C'est l'une des meilleures méthodes de séparation, utilisée pour analyser les fractions obtenues à partir de la colonne chromatographique ^[41] et en particulier pour la séparation des flavonoïdes glycosidiques avec le support papier Wattman^[41]

Les phases mobiles plus utilisées

BAW : n-BuOH/AcOH/H₂O(4/1/5)

TBA : t-BuOH/AcOH/H₂O(3/1/1)

MAW : MeOH/AcOH/H₂O [3 : 1 : 1]

Forestal : AcOH/H₂O/HCl[3 : 1 : 1]

II.8.1.2. La chromatographie sur colonne(CC)

Cette méthode est très ancienne mais reste la technique la plus utilisée pour une première séparation des produits, les supports utilisés connus pour la séparation des flavonoïdes sont le gel de silice, la cellulose et le plus utilisé est le polyamide pour ses fonction carbonyle –amide, qui permettent aisément la séparation ^[41].

II.8.1.3. la chromatographie sur couche mince (CCM)

C'est une méthode rapide et sensible, il correspond à la chromatographie sur papier utilisée pour la séparation des mélanges qui contiennent quelques composés, il est basé sur le principe d'adsorption

II.8.1.4. la chromatographie Chromatographie haute performance

C'est un type de l'analyse chromatographique fractionnée, qui nécessite l'utilisation d'une pression élevée pour pousser le solvant à travers la colonne, il est la meilleure technique pour séparer des mélanges complexes à un moment précis

L'importance solvant utilisée :

Eau/ acétonitril/acide acétique [900/100/40] ou [200/800/40]

II.8.2. les méthodes d'analyse

II.8.2.1. Les méthodes chromatographiques

A-La fluorescence

La spectroscopie d'absorption UV est largement utilisée dans l'analyse structurale et l'identification des flavonoïdes. Tous les flavonoïdes apparaissent sous UV sous forme de spots colorés, permettent d'avoir des renseignements pour déterminer leur structure.

La coloration	Type de flavonoïdes
Jaune pale	Di hydroxy flavonols sans OH libre en 5
Jaune fluorescent	Aurones avec OH libre en 4' et quelque chalcones avec OH en 2 ou en 4
Jaune vert brillant	Aurones avec OH libre en 4' Flavanones sans OH libre en 5
Jaune orange	Flavanols avec ou sans OH libre en 5
Bleu-claire	Flavones et flavanones 5-O-substituées Flavonols avec OR en 3 et sans OH libre en 5
Violet	5,4'-dihydroxy flavone ou 3-O-substitué Flavonols avec 5-OH ,4'-OH Quelque flavanones avec OH libre en 5
Invisible	Isoflavones sans OH libre en 5

Tableau. II.4. La relation entre la fluorescence et la nature des flavonoïdes

B-Facteur de retardement Rf

C' est une valeur caractéristique du composé dans certaines conditions chromatographiques(température, concentration d'échantillon et la nature de matériel absorbée.....)

$$= \frac{\text{distance parcourue par le composé}}{\text{distance parcourue par le solvant}}$$

Le tableau suivant montré la relation entre Rf et structure flavonidique.^[41]

structure flavonidique	Valeur
augmentation de groupe OH ou Glycosylation	Rf diminué dans les systèmes de solvant organique
Substitué groupe OH avec OMe	Rf augmentation dans les systèmes de solvant organique

Tableau II.5. la relation entre Rf et structure flavonidique

II.8.2.2. Les méthodes spectroscopiques :

A. La spectrométrie UV –visible :

C'est une méthode très importante pour l'analyse des flavonoïdes, pour cela l'enregistrement d'un spectre d'absorption ultraviolette dans le méthanol est indispensable. L'addition des réactifs (NaOH, AlCl₃, HCl, NaOAc, H₃BO₃) aux échantillons donne des informations importantes, en particulier la nature et la position des groupements de substitution ^{[40][39][33]}.

B. Spectre de masse ^[41].

La spectrométrie de masse est une méthode utilisée pour déterminer le poids moléculaire des composés, et déterminer la nature des substitutions hydroxyle et méthoxyles.

C. Spectre RMN ¹H et RMN ¹³C

Une technique qui permet l'identification de différents types de composés, y compris le composé flavonoïde, et leur permet de connaître le type de substitutions qu'ils portent.

II.9. Activité biologique des flavonoïdes :

Comme cela a été démontré par de nombreux travaux, les flavonoïdes sont des molécules de défense contre les organismes pathogènes, leurs propriétés ont été exploitées pour leur potentiel en thérapeutique contre les microorganismes. On leur reconnaît des activités anti-inflammatoires, anti-virales,comme suite :

II.9.1. activité anti-inflammatoires et immunologique :

-Les flavonoïdes possèdent des propriétés anti-inflammatoires et qu'ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire ^[42]. D'autre part, ils sont capables de diminuer la libération d'histamine des basophiles et des mastocytes ^{[33][43]}.

Ils agissent en tant qu'inhibiteurs puissants des lymphocytes B et T, et changent selon les flavones (apigénine, lutéoline et 7,4', 3' hydroxyflavone) et les flavonols (kaempférol, quercétine) inhibent le lymphocyte T et le flavonol myricétine active le lymphocyte B. L'explication est encore inconnue..... ^[42].

-L'effet antiprolifératif des flavonoïdes pourrait s'expliquer par leur capacité à inhiber l'activité de certaines protéines kinases (protéine Kinase C ou protéine

tyrosine kinase) ^[43].

II.9.2. Activité anti-oxydante

Le rôle des radicaux libres et des espèces oxygénées réactives dans la genèse de nombreuses maladies a fait l'objet d'un très grand nombre de travaux. Les radicaux libres sont des espèces chimiques présentant un ou plusieurs électrons célibataires (le radical hydroxyle $OH\cdot$, l'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$, l'oxyde nitrique $NO\cdot$...)^[43].

-les flavonoïdes sont des antioxydants puissants susceptible d'inhiber la formation des radicaux libre, ils sont des antioxydants puissants susceptibles, d'inhiber la formation des radicaux libres et de s'opposer à l'oxydation des macromolécules ^[42].

Les flavonoïdes sont considérés comme des agents antioxydants très puissants en raison de leur structure ^[33]. Ces dernières années, un intérêt particulier a été accordée aux propriétés antioxydants des flavonoïdes,, qui seraient attribuées à:

- leur capacité à piéger directement les radicaux libres.
- leur pouvoir de chélate les ions métalliques impliqués dans la production des espèces oxygénées réactives (EOR)^[33].

II.9.3. activité antibactérienne

Les flavonoïdes jouent un grand rôle dans les propriétés antibactériennes où le degré d'inhibition varie en fonction de la structure de ces composés ^[39].

II.9.4. Activité anti ulcéreux :

Dans des expériences réalisées sur des rats, Il a été suggéré que la quercétine exerce son activité via un mécanisme complexe impliquant la production du mucus, le piégeage des radicaux libres, et également l'inhibition de la production de leucotriènes . D'autres études ont permis d'établir une relation étroite entre les propriétés antiulcéreuses de la quercétine, naringénine, rutine et kaempférol^[33]

Tableau quelque espèces de flavonoïdes que utilisée dans le traitement de quelque malade ^[39].

Flavonoïde	Malades
Cyandidanol-3, meciadanol,(kaémpférol)catéchines (sofalcone,quercétine)	Ulcéré
(quercétine, apigenin,catechin) Hesperidin,rutin, luteolin (kaémpférol, myricetin,fisetin)	Inflammation
Quercétine, festin	Diabète
Rutine, citrin ;quercétine	Sensibilité

TableauII.6. quelque espèces de flavonoïdes que utilisée dans le traitement de quelque malade

II.10.Intérêt des flavonoïdes

II.10.1.Dans les plantes

Préserver les espèces végétales en attirant les insectes et les oiseaux pour aider à vaccination et enrichissement et jouer le rôle de protection des plantes contre les bactéries et protéger les tissus de la cellule contre les dommages a cause des dangereux rayons du soleil et défensifs pour certaines plantes ^[29].

Les flavonoïdes permettent aux plantes de rester dans le sol avec des métaux toxiques tels que l'aluminium ^[39].

II.10.2.Dans l'animal

Non seulement l'importance des flavonoïdes sur le terrain des plantes seulement, mais distribué aux animaux, où utilisé par les abeilles pour stériliser les cellules comme un inné car il fonctionne antifongique et les bactéries par leur présence dans le matériel collant produit par ces insectes pour combler les lacunes entre les cellules .

II.10.3.Autre propriété des flavonoïdes

- Protection des plantes contre les radiations UV
- Modulation de la distribution d'auxine
- Fonctionnent comme des signaux moléculaires de reconnaissance entre les bactéries symbiotique et les légumineuses afin de faciliter la fixation de l'azote moléculaire.
- intervient dans la maturité des fruits

-sont impliqués dans les processus de défense de la plant contre les infections bactériennes et virales.

-régulation de l'élongation des tiges ^{[44][45]}.

Chapitre III :
Activité
antioxydant

III-1.Introduction

L'oxydation est définie comme le processus de transmission d'électrons d'une substance à une autre, qui est l'une des réactions les plus importantes dans le corps humain car elle produit parfois quelque produit nocif ces des radicaux libres^[39] ils provenant de plusieurs sources intérieur et extérieure comme radiations, les fumes, les graisses,...etc. Ils inhibent par action des antioxydants. la présence de ce dernier naturellement dans l'organisme est capable de protéger contre les dommages et l'oxydation, les antioxydants se trouvent à la plupart dans l'alimentation que nous utilisons.

III-2.1.Définition radicale libre :

Un radical libre définie comme toute molécule possèdent un ou plus électron non appariés^[47] cette propriété rend ces éléments très réactif du fait de la tendance de cet électron à se ré-apparier .il aura toujours tendance à remplir son orbitale en captant un électron pour devenir plus stable^[46] .les sources des radicales libres sont nombreuses^[47] .

Parmi toutes les espèces radicalaire susceptible de se former dans les cellules, les composés radicalaire qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux libres primaires dérivent directement de l'oxygène exemple :radical hydroxyle OH^* , monoxyde d'azote NO^* . Les radicaux libres secondaires se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimique de la cellule exemple :radical peroxyde ROO^* ;radical alkoxyde RO^* les radicaux libre qui intervient partagent pour caractéristique celle d'avoir un électron célibataire sur un atome d'Oxygène ou d'azote .ceci leur confère la dénomination des espèces réactive de l'oxygène (EOR ou ROS) ou de l'azote (EAR ou RNS)

Le type le plus important de l'être humain est ROS, qui est produit dans le corps soit à partir de sources physiologiques, y compris l'auto-oxydation ou l'activation des cellules immunitaires ou de sources non physiologiques, y compris les ultraviolets^[39]

DPPH c'est l'un des méthodes utilisées en laboratoire pour mesurer l'efficacité des antioxydants.

III-2-2. Piégeage du radical 2,2 diphényle DPPH fut l'un des permis radicaux

le DPPH est un radical libre , stable possède une bande d'absorbance à 517nm [60] utilisé pour étudier la relation structure/activité antioxydant des composés phénolique .depuis , certains modifications ont été apportées et un paramètre important a été introduit : la détermination de la IC50 définie comme étant la concentration en substrat entraînant une diminution de 50% de l'absorption .A cette concentration 50% du DPPH est sous forme réduite .

Dans cet est les antioxydants réduisent le diphenyl-picrylhydrazyl ayant une couleur violette en un composé jaune ,le diphenyl-picrylhydrazine ,dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu réactionnel^[48] .

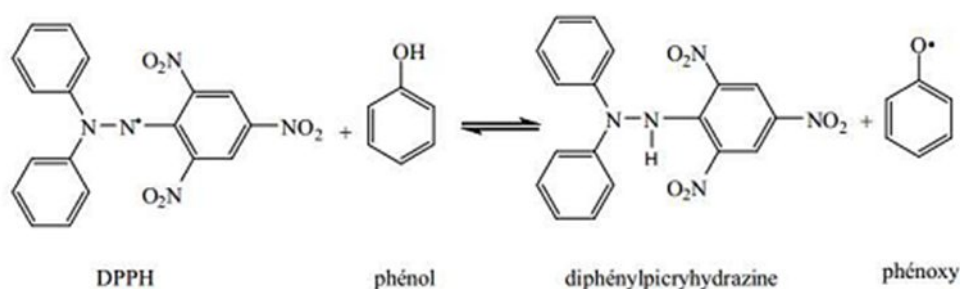


Fig.III.1.mécanisme réactionnel d'un antioxydant avec le DPPH*

III-3.Les antioxydants

L'antioxydant peuvent être définis comme toute substance qui présent à faible concentration par rapport au substrat oxydable [46].ils sont capables de neutraliser ou de réduire les dommages causé par les radicaux libre dans l'organisme [48] .

III-4.Classification des antioxydants

III-4-1.Classification des antioxydants par rapport à leur mécanisme d'action :

III-4-1.1.Les antioxydant primaire : sont généralement des composés phénolique capables de donner un atome d'hydrogéné au radical libre et le convertir en un composé stable non radicalaire [49] .

III-4-1.2. Les antioxydant secondaire : englobent(inclus) une large gamme de différentes substances chimiques chélateurs de métaux pro-oxydatifs, des piègeurs de la molécule d'oxygène et destructeurs des hydroperoxide^[49].

III-4-2. Les antioxydants sont classés en deux types selon leur nature ^[39]

III-4-2.1. Les antioxydants des enzymes telles que les catalyseurs comme clotathion réductase ,clotathione biroxydise ,....etc.

III-4-2.2. Les antioxydants non-enzymatiques sont produits par l'alimentaire ou fabriqués à l'intérieur du corps tels que l'albumine , clotathion et vitamines A,C, E

Classé en deux catégories distinctes :

III-4-2.2.1. les antioxydants endogènes :

les système antioxydant non enzymatique endogènes incluent de nombreux thiols dont le majoritaire est le glutathion présent sous forme réduite ^[50].

De molécule antioxydant de petit taille :(glutathion, acide urique, bibirubine, ubiquinone,.....) et de protéines (transferrine, ferritine,.....) ^[51].

III-4-2.2.2. Les antioxydants exogènes :

Toutes ces défonce peuvent être renforcée par des apports exogènes en :médicaments ,antioxydant naturels(vitamine C et E, le sélénium, les caroténoïdes et les composés phénolique(les flavonoïdes ,les tanins, les coumarinesetc.) ^{[52][50]}.

III.4.3. Mécanisme d'action des antioxydants :

Les mécanisme d'action des antioxydants sont divers ,incluant le captage de l'oxygéné singulier, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la chélation des métaux de transition^[48].

Chapitre IV

Partie Pratique

Partie pratique

Chapitre IV:
L'étude phytochimique
Et
l'activité antioxydant

IV.1. Etude phytochimique de l'espèce *sideritis incana*

IV.1.1. Description sur la plant :

SIDERITIS incana L c'est une plante médicinale sous forme Arbuste aromatique sauvage de longue durée de l'espèce lamiacée. il habitées à forets, il connu comme Halhal avec un gout amer, il croissant sur des sols sableux et sablonneux dans toute la région des collines, haut de 20 à 50 cm. Avec beaucoup de tiges et nombreux de feuilles florales plus courtes avec couleur gris, de la forme elliptique. Ses fleurs sont de couleur violette, son odeur est tubulaire ^{[53][45]}.

Il y a un dicton populaire tunisien qui dit "Si vous êtes mauvais, vous devez le Halhal".

les noms de cette plant : Ses noms au Maroc et Tunisie sont halal et aussi Khozema. Le Tamazight amzir, timzra.



Fig. IV.1: sideritis incana L

IV.1.2. Position systématique sur sideritis incana L

Règne	Plante
Sous –embranchement	Angiospernes
Classe	Dicotylédones vraies
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	Sideritis
Nom binominal	<i>sideritis incana l 1763</i>

IV.1.3. La répartition géographique des espèces de *sideritis incana* L

Se situe sur la côte méditerranéenne et dans le monde arabe en Algérie, elle est située dans les régions du sud-est, comme notre étude et l'est, ainsi qu'au Maroc et en Tunisie.

IV.1.4. Etude bibliographique

L'étude bibliographique de *s. incana* L nous a montré la présence de Flavonoïde suivant: 8-hydroxyflavone glycosides. Et des huiles essentielles suivantes Linalol (25.2%). Céderol (13.7%). Géraniol (7%). α -Terphénol (5.4%)

IV.1.5. Matière végétale

La plante a été récoltée au nord sud d'Alger de la ville de Biskra . Le processus de séchage de ce matériel végétal a été réalisé dans une région loin de l'humidité. Ils couper petites parties.

Il a identifié le nom scientifique de la plante par le chercheur Halliss Youcef Centre de la Recherche Scientifique Touggourt.

IV.1.6. Extraction de la partie aérienne de la plante

Nous en avons pris 370 g des parties aériennes de *sideritis incana* L , séchés puis coupés en petites parties, puis nous avons macérer la plante dans le mélange éthanol / eau. (8/2) ;(1600ml EtOHet 400 ml H₂O) Nous l'avons laissé pendant 72 h puis 24 h le deuxième jour à 24 h pour le dernier jour (le processus a été répété pendant trois jours). Chaque fois que nous filtrons le simple retenir la filtration dans une bouteille à obscurité.

Après avoir recueilli la phase d'alcool ensemble, nous l'avons concentré en évaporant le mélange avec l'évaporateur rotatif (rotavapeur) à T=40C° Après élimination d'éthanol, l'extrait devient lourd et double sa volume avec l'eau distillée chaude de volume connue à 148 ml et ainsi de l'application du rapport (1 kg compensée par 400 ml ou 600 ml d'eau) laisser pendant 24heure, puis il est filtré d'enlever les impuretés restantes.

Suivie par la phase d'extraction du liquide -liquide dans l'ampoule décanté en utilisant des solvants avec différent polarité et non miscibles avec l'eau ,en commençant par éther de pétrole pour éliminer le chlorophylle , le chloroforme, puis l'acétate d'éthyle et en dernier le n-butanol .les phases organiques ainsi obtenues(chloroforme, acétate d'éthyle, et n-butanol) sont séchées par Na_2SO_4 pour éliminer toutes traces d'eau , puis filtrées et enfin concentrées à sec sous pression .

les étapes d'extraction montré dans Le protocole suivant :

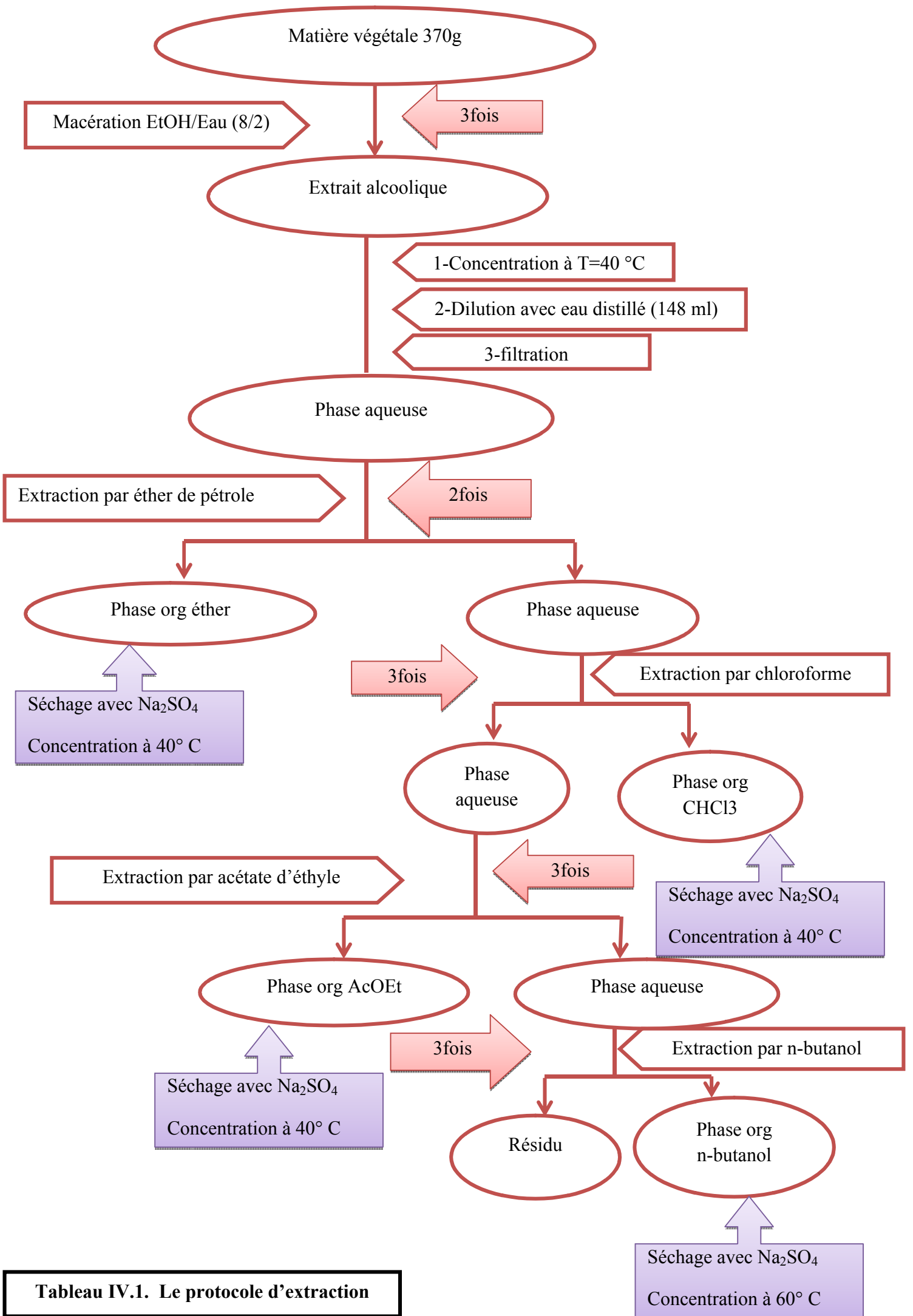


Tableau IV.1. Le protocole d'extraction

Après l'extraction et la concentration des phases ont été prises poids et déterminer le rendement de chaque extrait comme suite :

Matière végétale	L'extrait	La masse(g)	Rendements %
370g	Ether de pétroluim	0.3701g	0.1%
	Chloroforme	1.3938g	0.3767%
	Acétate d'éthyle	2.9401g	0.7946%
	n-butanol	3.1815	0.8598%

Tableau IV-2 : le poids et le rendement des extraits de sideritis incana l ;(les extrait sous forme solide) .

IV-1.7- Tests phytochimique :

La détection phytochimique est l'une des étapes les plus importantes pour savoir que la plante contient des métabolites secondaires, où la détection dépend du phénomène de sédimentation (précipitation) ou des couleurs en utilisant les détection spéciale de chaque famille. Dans cette étude, nous nous sommes concentrés sur la phase alcoolique directement sans d'autres extraits

IV-1-7-1-les composés poly phénolique :

A- les flavonoïdes

Dans un tube à essai, introduire 1ml d'extrait à tester , ajouter 1ml d'acide chloridrique et 3 copeaux de magnésium. L'apparition d'une coloration rouge ^[55] .

B. les tanins

1ml d'extrait à analyser, ajouter 0.5ml d'une solution aqueuse de FeCl₃ à 1%, la présence de tanins est indiqué par une coloration vert ^{[55][39]} .

C. Les coumarines

2ml d'extrait dans un tube ajouter 0.5ml de NaOH10% mélange et observe la couleur jaune ^{[55][56]} .

IV.1.7.2-Les alcaloïdes

Les tests sont réalisé par des réactions de précipitation avec les réactifs de dragendrouff et Wagner, 1ml de chaque extrait est divisé en deux volumes égaux, un traité par 0.5ml de dragendrouff et l'autre par 0.5 ml de réactif Wagner. L'apparition marron et jaune respectivement ^[55].

IV.1.7.3.terpenoïde

2 ml d'extrait avec 3ml de l'acide sulfurique .L'apparence de la couche marron entre les deux couches.

IV.1.7.4.Les saponines (test de mouse)

Dans un tube à essai, introduire 10ml d'extrait à tester et agiter pendant quelque secondes puis laissés au repos pendant 15 min, un hauteur de mousse persistante indique la présence des saponines ^[39].

IV.1.7.5. Les composés réducteur (Glycosides)

Introduire 1ml d'extrait dans un tube à essai, ajouter 2ml de liqueur de Fehling (1ml réactif A et 1ml réactif B) incuber l'ensemble pendant 8min dans un bain marie bouillants, l'apparition d'une précipité rouge brique indique la présence des composés réducteur ^[56].

Composés	Réactif utilisée	Résultat positif de détection	Résultat
Alcaloïdes	Dragendrouff	marron	++
	Wagner	jaune	++
Saponines	Agitation	Aucun mousse	--
Tanins	FeCl3 (1%)	Vert	++++
Coumarines	NaOH (10%)	Jaune	++++
Terpène	H2SO4	marron entre les deux couches	+
Glycosides	Réactif Fehling (A+B)	Rouge brique	+++

Flavonoïdes	HCl+Mg	Rouge	+++
-------------	--------	-------	-----

+ : résultat positive. - : résultat négative.

TableauIV.3. les résultats des tests phytochimique

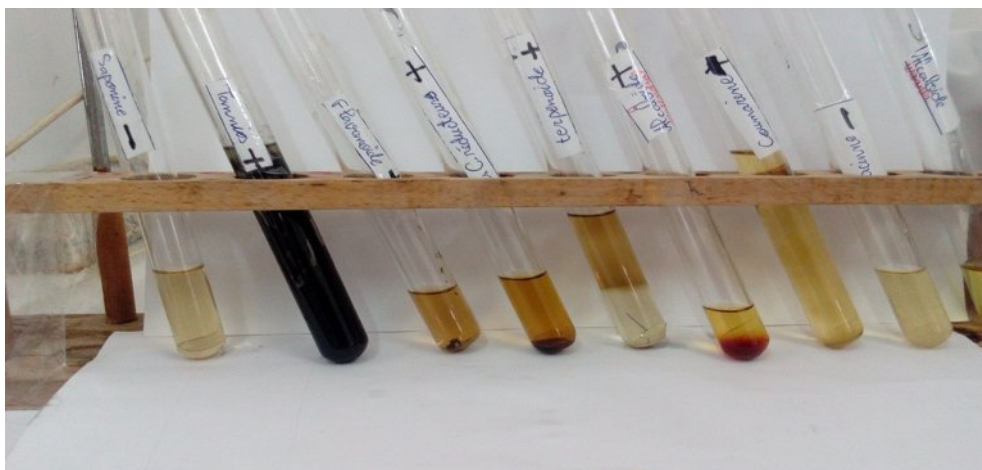


Fig.IV.2.les test phytochimique

IV.2.Séparation et purification

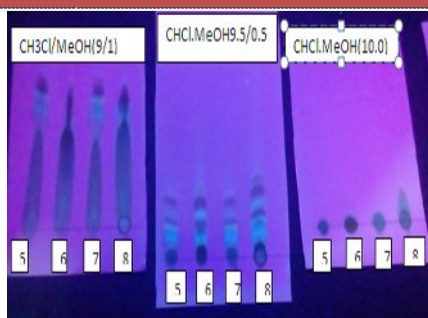
IV.2.1.Etude qualitative analytique des extraits de plante

La séparation et la purification de composés selon déférent méthode de chromatographie CCM, Cp , CC. Dans cette étude nous utilisée la chromatographie sur couche mince CCM où nous permettant d'identifier les systèmes qui nous permettent de séparer les meilleurs composés dans les quatre phases (éther, chloroforme, acétate d'éthyle et n-butanol).

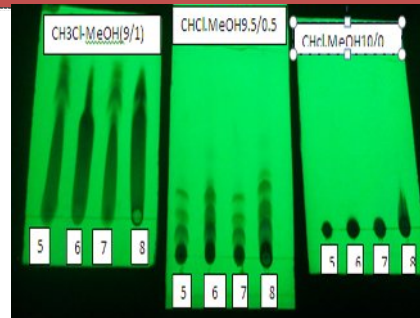
Les résultats de nos travaux analytiques nous a poussé à sélectionner l'extrait acétate d'éthyle qui est riche avec les métabolites secondaires, c'est pour ça, nous avons donc consacré notre étude sur cette phase.



FigIV.3. les phase en CCM

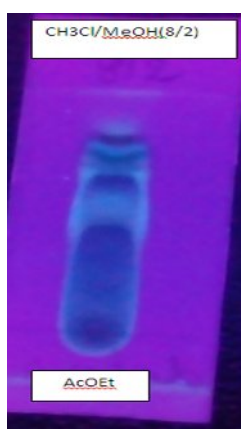


lampe UV à 365nm

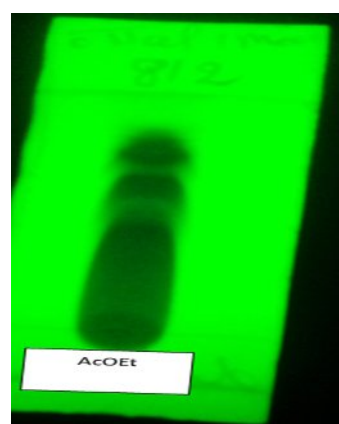


Lampe UV à 256nm

L'étude a été réalisée sur le tube N °6 testé sur le système $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (8/2)



lampe UV à 365nm



Lampe UV à 256nm

Fig. IV.4. la phase acétate d'éthyle sous la lumière UV

IV.2.2.La séparation par CCM :

Après avoir terminé les tests initiaux des systèmes, nous avons obtenu le système $\text{CH}_3\text{Cl}/\text{MeOH}$ (8 / 2) comme le meilleur système de séparation, à travers lequel nous avons effectué la chromatographie préparatoire sur couche en utilisant la chromatographie sur couche mince comme suit:

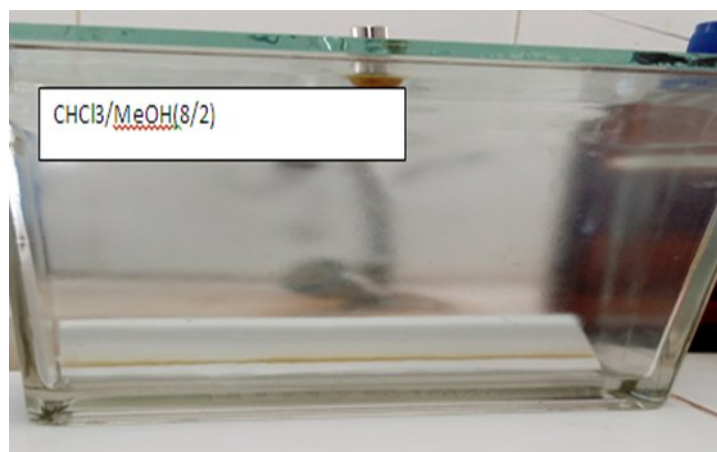
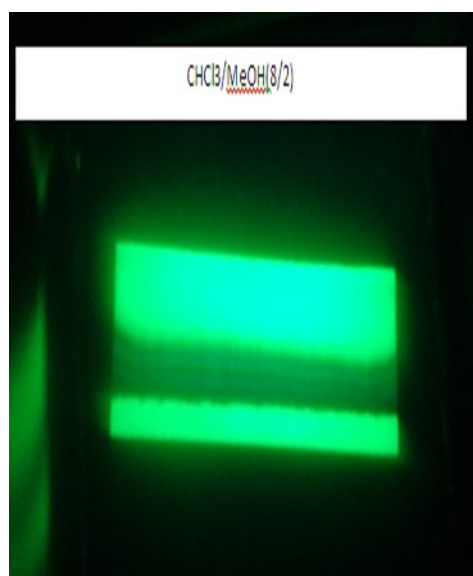


Fig. IV.5. Chromatographie CCM

Les résultat sous lumière UV



Lampe UV à 365nm

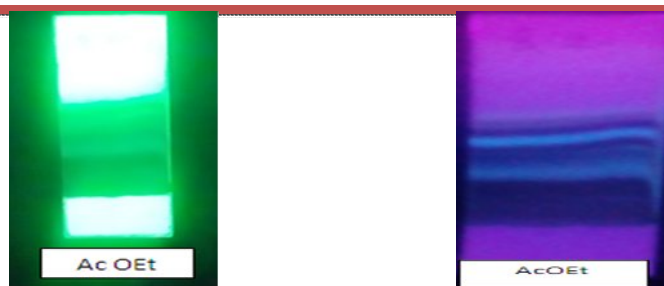


Lampe UV à 256nm

FigIV.6. les résultat sous la lumière UV

En utilisant le détecteur le vapeur d'ammoniac, nous obtenons les couleurs suivantes :

Noir violet, bleu, noir violet, jaune, jaune.



Lampe UV à 256nm

Lampe UV à 365nm

Fig. IV.7. :les résultat sous lumière UV

Après avoir préparé un certain nombre de couches ccm, on enlève chaque couleur et on la dissout dans du méthanol avec la concentration après, ensuite on effectue le test de chromatographie pour s'assurer de sa pureté. Les résultats montrent dans les résultats et discussion.

IV.3.Dosage polyphénol totaux et flavonoïdes.

IV.3.1.Dosage des polyphénols totaux.

Le dosage des polyphénoliques totaux a été effectué avec le réactif colorimétrique Folin-ciocalteu^[38].

en utilisant le réactif de folin ciocalteu en milieu alcalin, ce réactif est constitué par de l'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et de l'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) de coloration jaune. Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène^[46]

Détermine le dosage de polyphénol avec la mesure d'absorbance par spectroscopie UV à 760nm avec polyphénol témoin : acide gallique. Les composés phénoliques totaux étaient exprimés en gallique équivalents acides (mg GAE/g de plante).

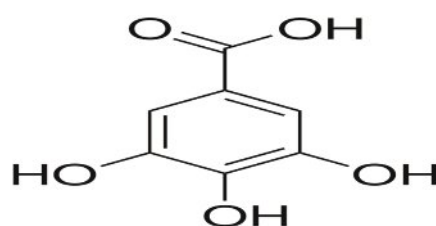


Figure IV.8. Acide gallique

La courbe d'étalonnage

On prépare des solutions de différente concentration d'acide gallique entre (0.3-0.03) mg/ml). brièvement 0.5ml de réactif folin-ciocalteu (dilué 10 fois) sont ajouté à 0.1ml d'extrait dilué, après 5min on ajoute 2 ml de NaCO₃ (20%) ensuit agités et portés à l'obscurité à Température ambiante pendant 30min, la lecture de l'absorbance à 760nm [46].

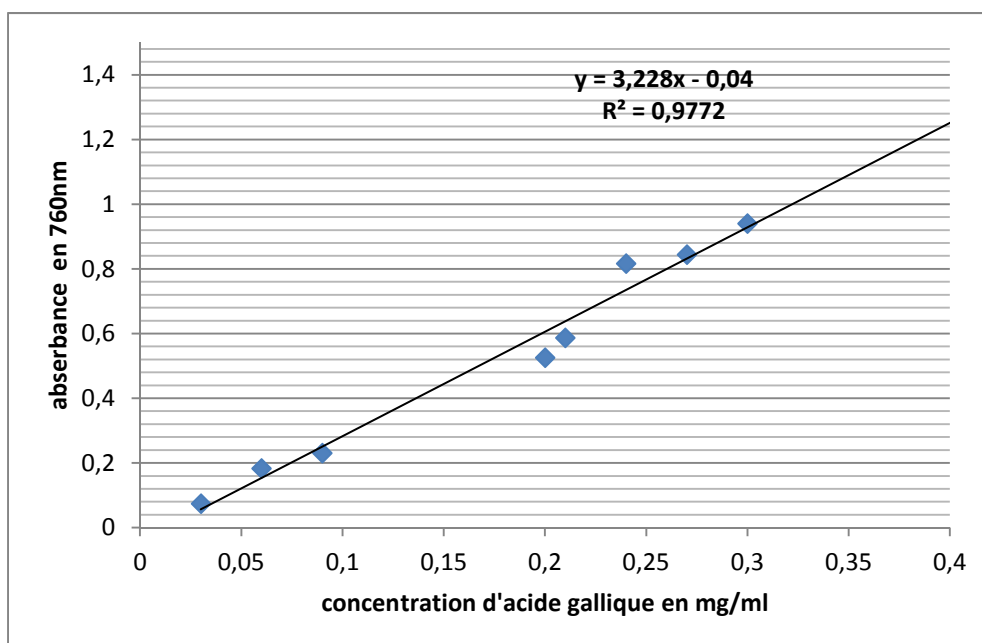


Fig. IV.9.Courbe d'étalonnage d'acide gallique (mg/ml)

De la même manière, nous avons traité les différents extraits à l'aide du détecteur Folin ciocalteu. Les résultats sont expliqués dans le chapitre des résultats et discussions

IV.3.2.Dosage de flavonoïdes

La méthode du trichlorure d'aluminium est utilisé pour quantifier les flavonoïdes dans les différent extrait .1ml de chaque extrait ou du standard (quercétine).diluée dans l'éthanol est ajouté à 1ml de la solution d'AlCl₃ (2% en EtOH) après 30min d'incubation l'absorbance est à 430 nm par spectroscopie UV .les concentration des flavonoïdes des différents extraits sont déduites à partir de la gamme d'étalonnage,

établie avec la quercétine. Il sont exprimées en microgrammes équivalents de quercétine par milligramme d'extrait (mg EQ/g d'extrait)^{[38][33]}.

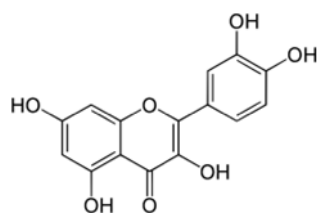


Figure IV.10. Quercétine

La courbe d'étalonnage :

on prépare des solution de différente concentration de quercétine (0.1-0.01)mg/ml

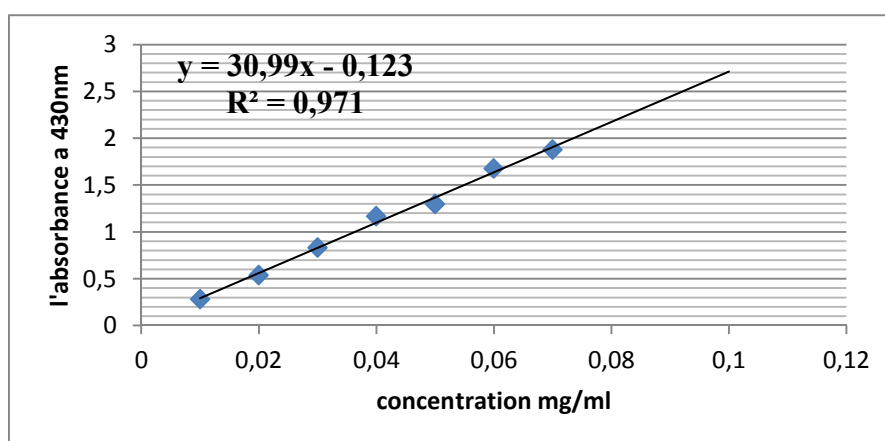


Figure IV.11.Courbe d'étalonnage de quercétine

De la même manière, nous utilisons les différents extraits à l'aide du détecteur $AlCl_3$. Les résultats sont expliqués dans le chapitre de les résultats et les discussions.

IV.4.Activité antioxydant

Dans notre étude, la mise en évidence de l'activité antioxydant des différents extraits issus de la plante étudiée est réalisée par les méthodes : piégeage du radical libre DPPH et le phosphomolipden.

IV.4.1.test DPPH

L'évaluation du pouvoir antioxydant des différents extraits est réalisée par le test DPPH qui est considéré comme un radical libre relativement stable.

Le principe

Le principe de cette méthode est basé sur la mesure du piégeage des radicaux libres de DPPH (1,1-Diphényl-2picryl-hydrazyl) de couleur violette. En présence de molécule dites antioxydants, le DPPH est transformé en sa forme réduite (1,1-Diphényl-2picryl hydrazine) de couleur jaune. Ce qui conduit à une diminution de l'absorbance. la décoloration du DPPH est directement proportionnelle à la capacité des molécules bioactives à la réduire [33][54] .

Le protocole

Dans cette étude en utilisée l'acide ascorbique (VC) comme référence avec des différentes concentrations (0.01-0.1)mg/ml

La solution DPPH (0.1mM) est préparée par solubilisation de 4mg de ce produit dans 100ml d'éthanol. 150ul de chaque solution éthanolique des extraits à différentes concentrations sont ajoutés à 3ml de solution DPPH. Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min et la lecture de l'absorbance est faite contre un blanc à 517 nm [33].

Les résultats de l'activité anti-radicalaire ou l'inhibition des radicaux libre sont exprimés en pourcentage d'inhibition (I%)estimée selon l'équation suivant :

$$\% = \frac{A_0 - A_i}{A_0} \times 100$$

I% : pourcentage de l'activité anti radicalaire

A0 : absorbance de control

Ai : l'absorbance des extraits

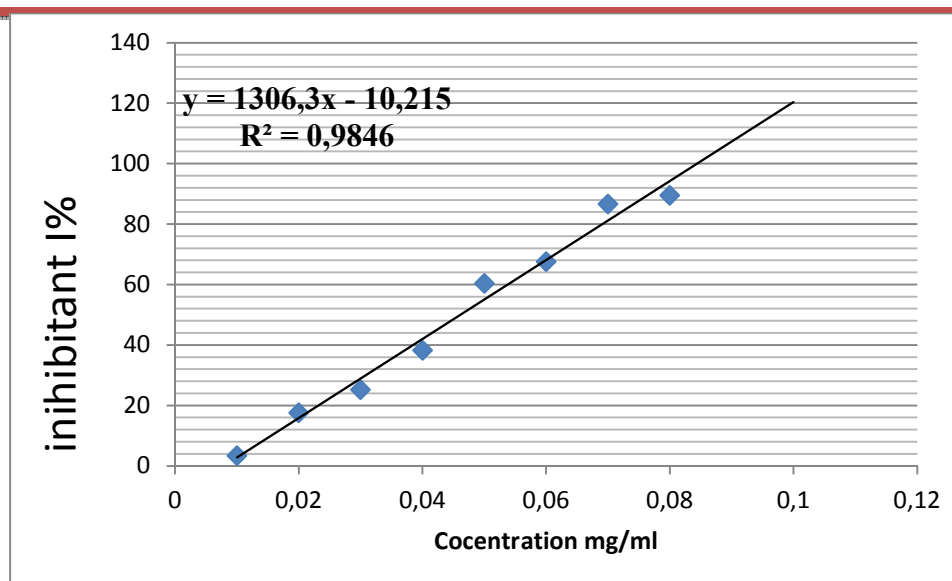


Fig IV.12.Courbe d'étalonnage de DPPH par VC

IV.4.2.La capacité antioxydant totale TAC

cette technique est basée sur la réduction des molybdates Mo (VI) en présence d'un antioxydant avec la formation d'un complexe vert (phosphate/ Mo (V)) à pH acide

en préparée solution diluées d'acide ascorpique (solution témoin)à concentration entre (0.2-0.02)uM.

le réactif au phosphomolybdate a été préparé à partir d'un mélange d'acide sulfurique (H₂SO₄ ,0.6M)de phosphate soduim (NaPO₄,28mM) et de molybdate d'ammonuin ((NH₄)₈Mo₇O₂₄.H₂O,4mM).

Mode opératoire

une prise de 1ml de ce réactif est additionnée à 100ul de chaque concentration dilué.le tube est incubé à 95c°pendant 90min .Après un repos à température ambiante . l'absorbance est mesurée à 695nm. contre un blanc qui contenant ethanol à la place de l'extrait.les résultats sont exprimés en equivalent de l'acide ascorbique ^[48,54] .

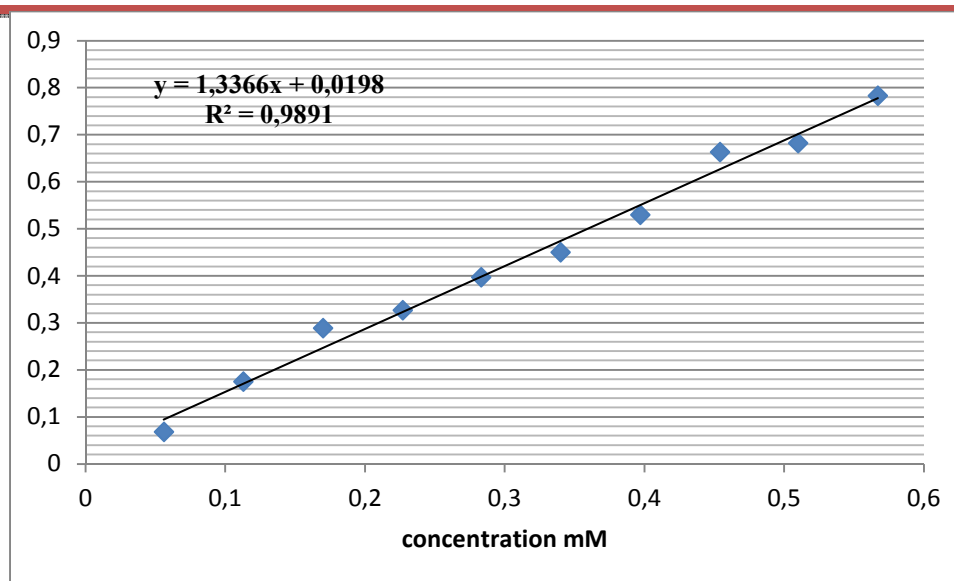


Fig IV.13. Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique dans test molybdénium

IV.5. Activité antibactérienne :

IV.5.1. Définition

Les bactéries sont des micro-organismes de taille comprise entre 0,3 et 2 micromètres, invisibles. Il se trouve dans le sol, dans l'eau et dans le corps humain, qui sont des organismes procaryote, ils sont caractérisés par leur structure, dont la paroi cellulaire, la membrane cytoplasmique, le noyau.

IV.5.2. Les classes de bactérie

Selon la technique du gram (Gram 1884) il y a deux types :

- positifs qui absorbent la couleur et apparaissent pourpre
- Le négatif est libéré et le colorant apparaît en rouge

IV.5.3. Les souches étudiées

Les espèces étudiées sont *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*

IV.5.3.1 *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853) : Bacille aérobie, Gram négatif et très mobile grâce à un flagelle polaire. Il est de plus en plus souvent responsable d'infections nosocomiales. C'est l'une des bactéries les plus difficiles à traiter cliniquement^[57].

IV.5.3.2. *Staphylococcus aureus*(ATCC25923) : est une bactérie à Gram positif, de forme ronde, il est responsable d'infection, d'intoxications alimentaire

IV.5.3.3. *Escherichia coli*(ATCC11303) : Bacille aérobie et Gram négatif que l'on trouve couramment dans Le tube digestif de l'être humain et des animaux à sang chaud^[57]

IV.5.4. Mode opératoire (test antibactérien)

Le test a été effectué selon la méthode de diffusion des disques

IV.5.4.1. Préparation de milieu de culture :

La gélose de Muller Hinton (MH) stérile prête à l'usage a été coulée dans des boites de pétrie stériles de 90 mm de diamètre. les boites séchées 30min à température ambiante du laboratoire.

IV.5.4.2. Préparation des disques

Des disques de papier wattman N°1 de 6mm de diamètre, stérilisés par autoclave, ils sont chargés de l'extrait naturel à test .

IV.5.4.3. Préparation de l'inoculum :

Les colonies bien isolées ont été transférées dans des tubes contenant de H₂O₂

Afin d'avoir des suspensions microbiennes ayant une turbidité

IV.5.4.4. Ensemencement

Des boites de pétrie stériles préalablement coulées, sont ensemencées par étalage à l'aide d'un râtelier stérile' ensemencement s'effectue de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries.

IV.5.4.5. Préparation des extraits

Les extraits de plantes (chloroforme, acétate d'éthyle, n-butanol et phase aqueuse) sont entièrement séchés et pesés pour dissoudre dans un solvant diméthyle-silfoxyde DMSO avec volume différentes avec des concentrations spécifiques :100 mg/ml ;50mg/ml ;25mg/ml.

IV.5.4.6.Dépôt des disques et incubation

Avec pince stérile, les disques de papier filtre contenant les produits à tester sont déposés à la surface de la gélose .ensuit, On pose la boite dans l'incubation à 37c°pendant 24 h.

IV.5.4.7.Les résultats

Après 24h en va passer pour lire les résultats et déterminer la zone de l'inhibition

Diamètre de la discipline La plus grande circonférence du disque signifie que l'extrait a un effet antibactérien efficace avec une zone claire et son absence est considérée comme négative.

Chapitre V :

Résultats

Et

Discussions

V.1.Les tests phytochimique :

Selon l'investigation phytochimique qui menée sur la plante *sideritis incana l*, elle s'est révélée riche en métabolites secondaires, en particulier les tanins, les flavonoïdes et les alcaloïdes, sur la base de ce que nous avons trouvé en effectuant une étude sur l'extrait brut de la plante.

Les flavonoïdes



les tanin



les alcaloïdes



FigureV.1. Quelques résultats du test phytochimique brut

V.2.Etude qualitative analytique des extraits

Chromatographie en couche mince CCM

Extrait éther de pétrole :

Après la concentration de l'extrait éther de pétrole, nous avons obtenu un précipitation que nous avons isolé et lavé avec le méthanol. Nous avons ensuite dissoudre dans le solvant chloroforme et avons fait la CCM pour s'assurer de sa pureté, nous avons utilisé les systèmes : CHCL₃/MeOH (9.5 / 0.5) et 5/5 (Ether / Chloroforme) les résultat a été positif, Après s'être assuré de sa pureté, nous le reconcentrons puis le dissolvant dans du méthanol et le laissons sécher.

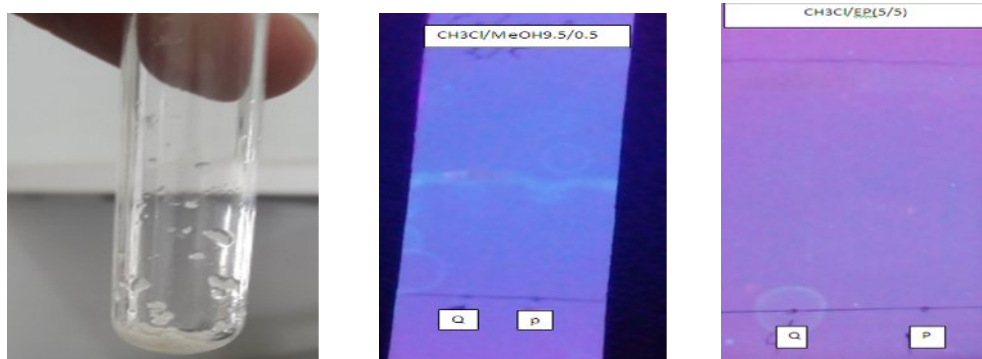
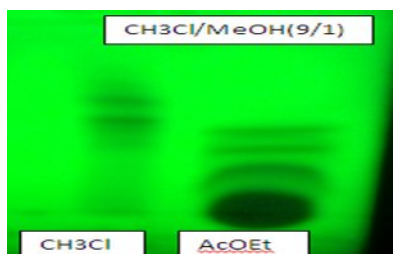


Fig. V.2.sous lampe UV 365 nm

Extraits de chloroforme et d'acétate d'éthyle

A travers les photos obtenues de CCM, nous constatons que les phases acétate et chloroforme sont riches en composés.



Lampe UV à 256nm

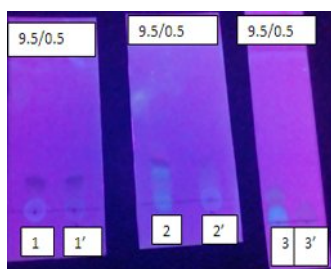


Lampe UV à 365nm

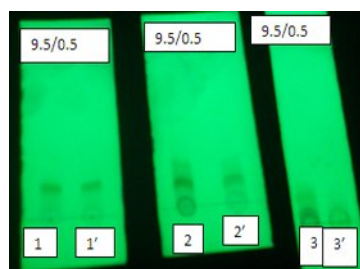
Fig. V.3.sous lampe UV

Extrait acétate d'éthyle :

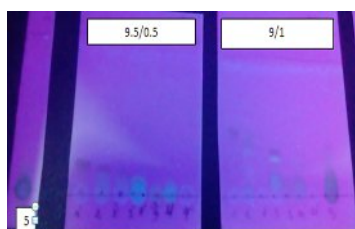
Après séparation avec l'utilisation des plaques CCM, nous avons séparé cinq composés selon les couleurs : noir violet, bleu et jaune.



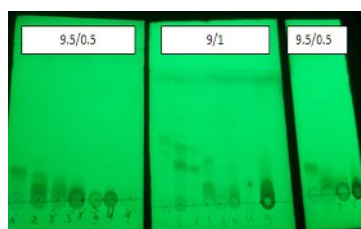
Lampe UV à 365nm



Lampe UV à 256nm



Lampe à 365 nm



Lampe à 256 nm

Couleur : 1-noir violet 2-bleu 3-noir violet 4-jaune 5-jaune

Fig. V.4.sous lampe UV l'extrait acétate d'éthyle

Après avoir testé des les composés qui séparer dans différents systèmes, il a été constaté que le premier composé pur et Le reste des composés ne sont pas purs au moins contenant deux composés ou plus.

V.3.Analyse quantitative des composés phénoliques sur la plant

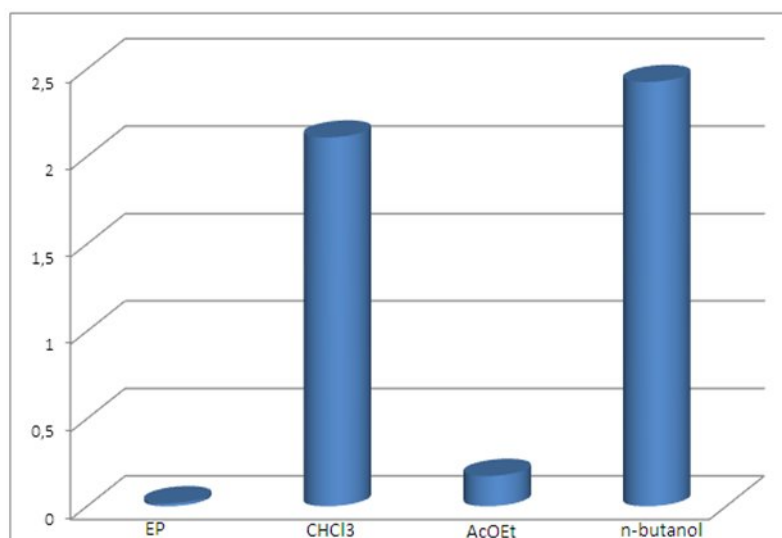
V.3.1.Dosage polyphénol totaux

La quantité totale de phénols a été estimée en utilisant la courbe d'acide gallique standard, le rapport étant exprimé en milligrammes d'acide gallique par gramme de poids de la plante.

Extrait	Ether	chloroforme	Acétate	n-butanol
Quantité (mg EAG/g)	0.0173	2.109	0.1738	2.426

Tableau V.1: montré la quantité de polyphénols totaux.

Les résultats ont montré le pourcentage le plus élevé de n-butanol où il a été estimé 2.426 mg EAG/g suivi par le chloroforme 2.109 mg EAG/g et suivi par l'acétate avec 0.173 mg EAG/g .enfin le pourcentage le plus bas enregistré à l'éther 0.0173mg EAG/g. qui confirme la présence d'un pourcentage élevé de polyphénols dans la phase de n-butanol.



FigureV.5. graphie de comparer les valeurs des polyphénols de déférent extraits

V.3.2.Dosage de flavonoïdes :

La quantité des flavonoïdes a été estimée en utilisant la courbe de quercétine standard le rapport étant en mg EQ/g.

Extrait	Ether de pétrole	chloroforme	Acétate d'éthyle	n-butanol
Quantité(mg EQ/g)	29.55	5.317	9.707	16.97

Selon les résultats obtenu l'éther de pétrole le plus riche en flavonoïdes 29.55mg EQ/g suivi par n-butanol ensuite acétate d'éthyle et enfin la chloroforme avec 5.317mg EQ/g.

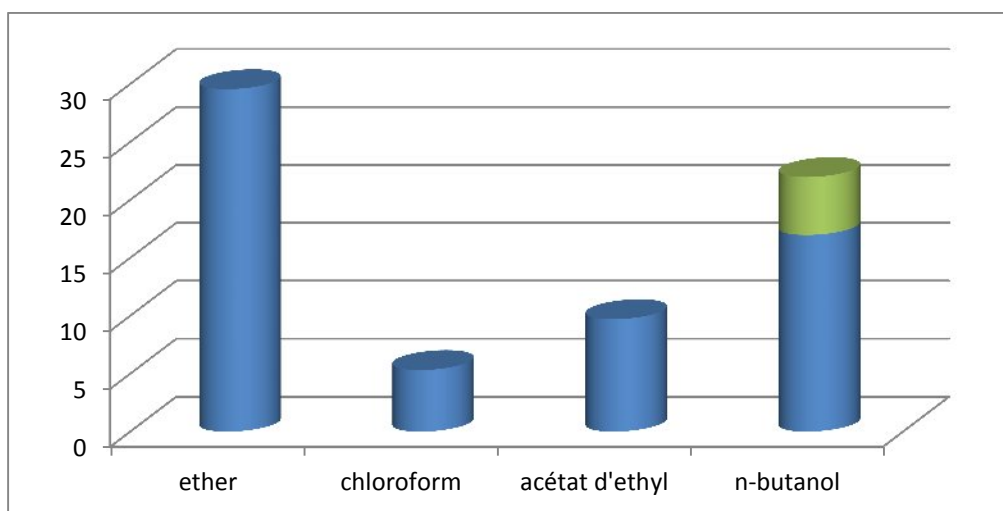


Figure V.6. la comparer des flavonoïdes entre les différents phases

V.4. Activité antioxydant

V.4.1. Résultats de la capacité inhibitrice DPPH

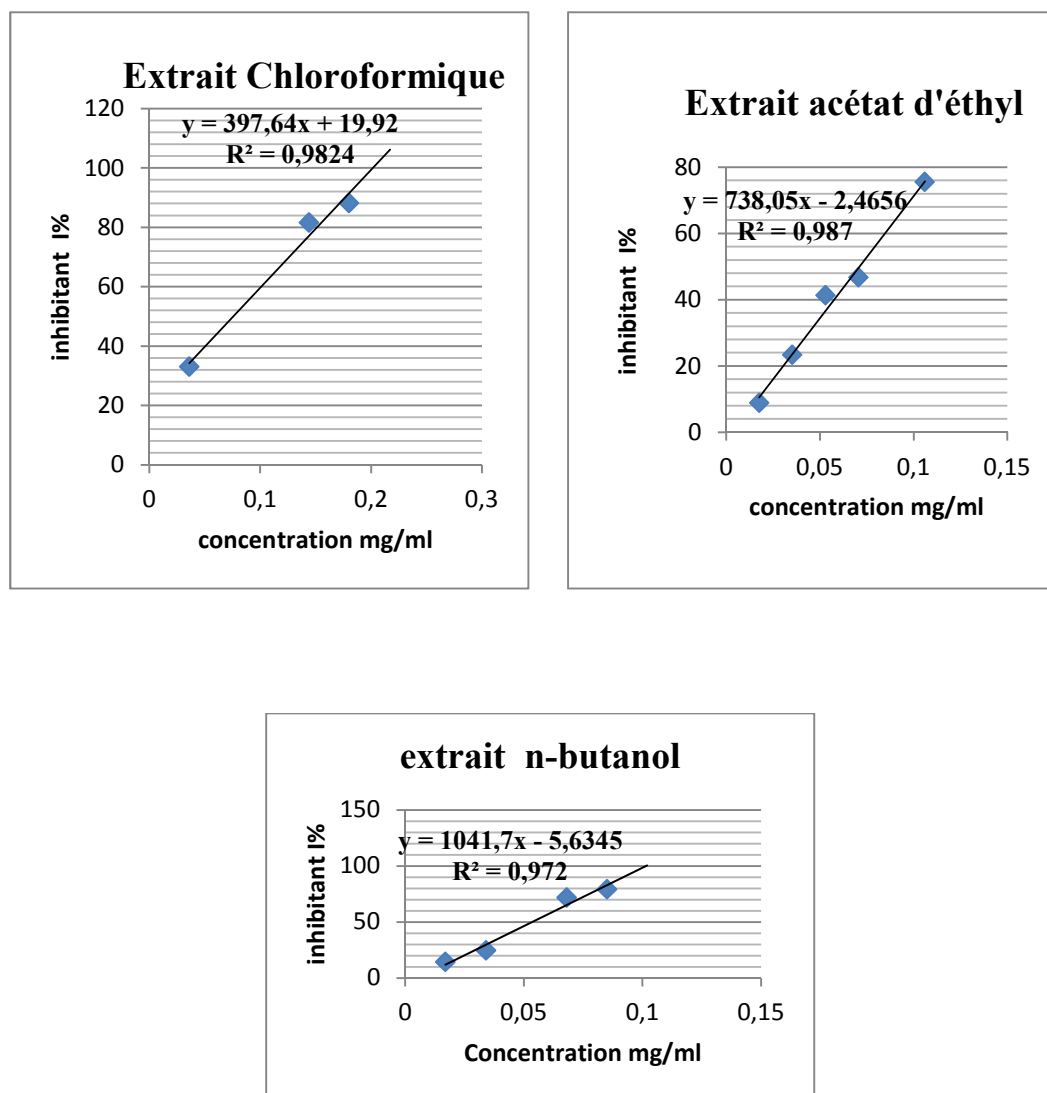


Figure V.7. les courbe d'inhibitrice par les extrait étudiée dans le test DPPH

Afin de comparer l'efficacité antioxydant des extraits étudiés, nous calculons CI_{50} à partir de l'équation de la courbe $I\% = f(c)$ pour chaque extrait

extrait	Acide ascorbique	chloroforme	Acétate d'éthyle	n-butanol
$CI_{50}\%(mg/ml)$	0.046	0.0756	0.071	0.0534

On sait que la plus faible valeur de CI_{50} est un antioxydant le plus efficace, dans ces résultats est l'acide ascorbique, le plus grand effet antioxydant et comparé aux extraits naturels étudiés, nous trouvons que le n-butanol suivi par moins d'un (1) fois

par 0.0534mg/ml. ensuite, l'acétate par moins de (2 fois) par 0.071mg/ml et enfin le chloroforme le moins efficace avec 0.0756mg/ml (2 fois).

V.4.2. Résultat de test molybdate

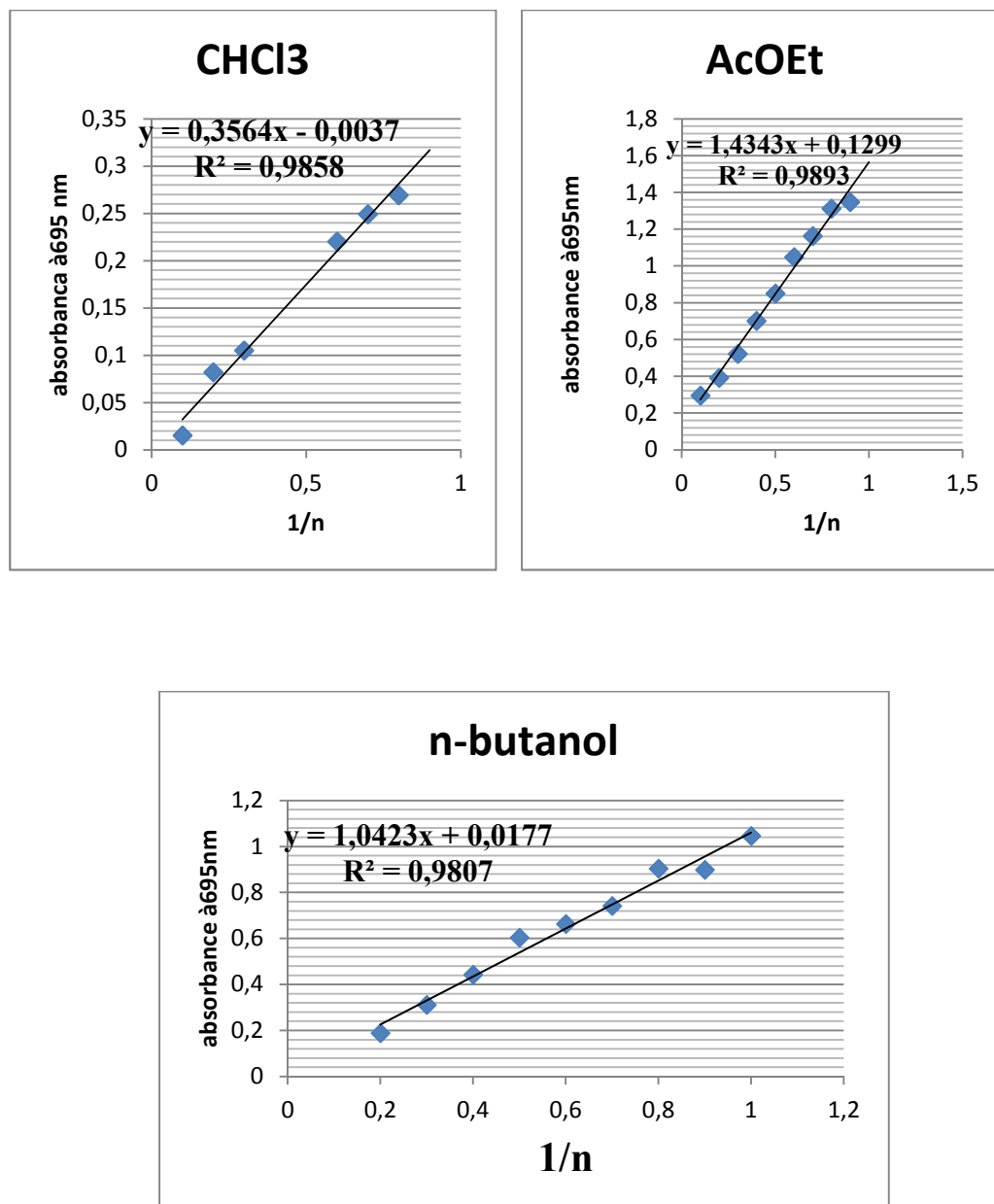


Fig. V.8. Les courbes d'inhibitrice par les extraits étudiés dans le test TAC.

On sait que la capacité de réduction supérieure à 1 de l'extrait était meilleure, l'extrait acétate d'éthyle se révélant le plus efficace à **1,073mM** par contre d'extrait n- Butanol avec **0.7798mM** et le minimum c'est l'extrait chloroforme avec **0.268mM**.

V.5. Résultat de bactérienne

Après 24 heures d'incubation, nous obtenons les résultats suivants

Extrait chloroformé

	100mg/ml	50mg/ml	25mg/ml
Diamètre E-coli	10mm	13mm	-
Diamètre S-aureus	9mm	7mm	6mm
Diamètre p-aromagénosa	-	-	-

Tableau V.3.les valeur de diamètre d'inhibition d'extrait chloroforme

Extrait acétate d'éthyle

	100mg/ml	50mg/ml	25mg/ml
Diamètre E-coli	7mm	6mm	-
Diamètre S-aureus	-	-	-
Diamètre p-aromagénosa	-	-	-

Tableau V.4.les valeur de diamètre d'inhibition d'extrait acétate d'éthyle

Extrait n-butanol

	100mg/ml	50mg/ml	25mg/ml
Diamètre E-coli	-	-	-
Diamètre S-aureus	-	7mm	8mm
Diamètre p-aromagénosa	-	-	-

Tableau V.5.les valeur de diamètre d'inhibition d'extrait n-Butanol.

Phase aqueuse

	100mg/ml	50mg/ml	25mg/ml
Diamètre E-coli	-	-	-
Diamètre S-aureus	-	-	-
Diamètre p-aromagénosa	-	-	-

Tableau V.6.les valeur de diamètre d'inhibition de phase aqueuse.

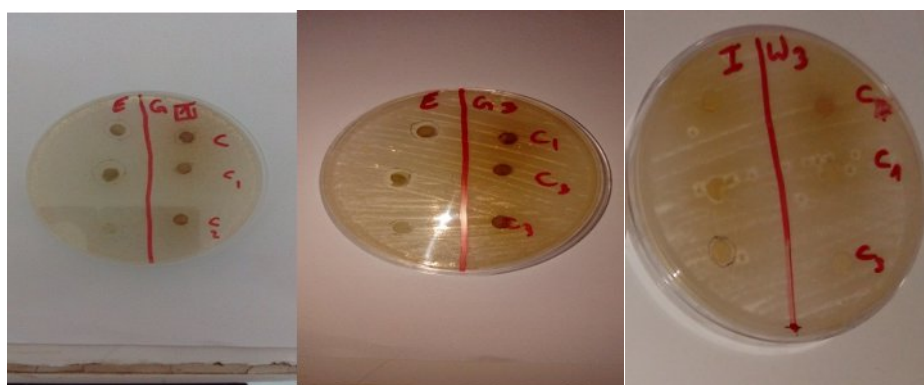


Fig. V.9 .Résultat des bactéries

Les phases : E : Chloroforme

G : acétate d'éthyle

I : n-butanol

W : phase aqueuse

Les souches : 1 - Eherichia coli

2- pseudo aromagénosa

3-

staphylococcus aureus

La souche pseudo (souche2) avec tout les phases qui étudiée aucun résultats (Résultat Négative) par contre les autre souches avec les extraits.

L'extrait chloroforme :

Pour le staphylo (souche 3) le plus diamètre 9mm à 100 mg/ml.et pour le E.Coli (souche 1) le plus diamètre 13mm à 50 mg/ml.

L'extrait acétate d'éthyle :

Pour le staphylo (souche 3) résultat Négative et pour l'E. Coli (souche 1) le plus diamètre d'inhibition 7mm à 100 mg/ml.

L'extrait n-Butanol :

Pour le staphylo (souche 3) le plus diamètre 8mm à 25 mg/ml et l'E. Coli (souche 1) résultat Négative.

Le phase aqueuse : Résultats négative avec toutes les souches.

Conclusion

Conclusion

Cette étude a été réalisée sur la plante médicinale *sideritis incana l* qui, appartient à la famille Lamiaceae où nous avons discuté sur l'étude phytochimique en appliquant l'une des méthodes de séparation et d'analyse de la chromatographie en couche mince (CCM) où nous avons obtenu deux composés pur, l'un c'est un précipité dans l'éther de pétrole et l'autre dans l'extrait acétate par ccm. Ainsi que l'étude biologique en appliquant deux méthodes différentes : la première anti-oxydation en utilisant deux tests différents DPPH et molybdate, à travers lequel nous avons constaté que le n-Butanol a le plus d'inhibition ($CI_{50}=0.0534\text{mg/ml}$) et la phase acétate d'éthyle la plus capacité de réduction avec ($1.073\mu\text{M}$), en ce qui concerne l'activité anti-bactéries, on a utilisé différents types de bactéries (staphylo, pseudo et E. Coli) où la phase de chloroforme était plus efficace contre deux espèces étudiées staphylo avec diamètre 9mm et E. Coli avec diamètre d'inhibition 13mm. Nous avons fait également estimé la quantité de flavonoïdes et de polyphénols dans cette plante en utilisant les réactives de AlCl_3 et Folin ciocalteu respectivement où les résultats étaient le plus grand pourcentage d'éther de pétrole environ 29.55 mg EQ/g et de n-butanol environ 2.426mg EAGA/g.

Référence

Référence

- [01] Chenni, M., Etude comparative de la composition chimique et de l'activité biologique de l'huile essentielle des feuilles du basilic « *Ocimum basilicum* L. » extrait par hydro-distillation et par micro-ondes, mémoire doctorat, Oran1, Université Ahmed BenBella, 2016. p66.
- [02] Tabti, M. E. Mouloud., Tahadjerit, ouarda., Etude taxonomique de quelques populations de *Salvia verbenaca* ssp. *euberbenaca* et ssp. *clandestina* (Lamiacée) du Golfe de Bejaia et de la Vallée de la Soummam , mémoire de Master. Bejaia , Université Abderrahmane Mira, 2017.p12.
- [03] Kabouche, Ahmed., Etude phytochimique de plantes médicinales appartenant à la famille des Lamiaceae. mémoire doctorate. Constantine .Université Mentouri. 2005 .
- [04] Meyer, S.,Reeb,C-Bosdeveix ,R. 2004.botanique , biologie et physiologie végétal. Edition maloine,Paris.
- [05] Benayache, F ; Benayache, S., Etude phytochimique et biologique de l'espèce *Thymus numidicus* Poiret, mémoire de magister, Constantine1, Université Constantine1.p13.
- [06]Naghbi,F., Mosaddegh ,S.M.,Ghorbani, G., 2005.,*iranian journal of pharmaceutical research* , 4(2) :63-79.
- [07]Peris,J.B.,Strubing,G.,Figuerola,R., 1990,An outline revision of the subsection *Cymnocarpae* Font Quer of the genus *Sideritis* L. (Lamiaceae) in the western part of the Mediterranean region. *Botanical Journal of the Linnean Society* .. 103: 1-37..
- [08] R.Ramasubramania, Raja.,Z ., 2012,Medicinally Potential Plants of Labiatae (Lamiaceae) Family , An Overview.*Jornal of Medicinal Plant*, 1819-3455.
- [9]site : www.ammmos.com
- [10]E. Gonzalez-Burgos., M.E. Carretero., M.P. Gómez-Serranillos., 2011, *Sideritis* spp. Uses, chemical composition and pharmacological activities—A Review *Journal of Ethnopharmacology*, (135), 209–225.
- [11]D. R,Nunez., C. Obon de Castro., 1990,Infrasystematics of the genus *Sideritis* L. section *Sideritis* (Lamiaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*,103, 325-349.

- [12] Biser, J., Marina, S., Kalina, A., 2007, Assay of flavonoïde aglycones from the species of genus *Sideritis* (*Lamiaceae*) from Macedonia with HPLC-UV DAD. *Acta Pharm*, (57), 371–377.
- [13] Barbara, T., Lorand, B., Andrea, V., Zsolt, S., Nikoletta, J., Gyula, P., Judit, H.D., 2014, Excitatory and Smooth Muscle-relaxing Effect of *Sideritis montana* L. Extract on Guinea-pig Ileum. *Naturel Product Communications*, (9), 1 – 2.
- [14] John, T., Stavros, L., 2005, Extraction and Identification of Natural Antioxidant from *Sideritis euboea* (Mountain Tea). *J. Agric. Food Chem*, (53), 6375, 6381, 6375.
- [15] Alban, L., Anatoaneta, B., Boban, D. A., Bujar, Q., 2015, comparative study of balkan *Sideritis* Species from Albania, Bulgaria and Macedonia. *European Journal of Medicinal Plants*, 5(4): 328-340.
- [16] E.A., Aboutabl., M.I., Nasser., F.M., Elsakhawy., Y.A. Maklad., A.F., Osman., E.A.M. El-Khrisy, 2002, Phytochemical and pharmacological studies on *Sideritis taurica* Stephan ex Wild, *Journal of Ethnopharmacology*, (82), 177-184.
- [17] Braulio, M. F., Ricardo, G., Melchor G.H., Teresa, M., Jose M, Arteaga. 1991, diterpenes from *Sideritis canariensis*, *Phytochemistry*, (30), 10, p.3361-3364.
- [18] Dragica, B., Slobodan, Ja., Zorica, P., Vanija, T., 2011, Summary of the phytochemical research performed to date on *Sideritis* species, *Original article*, 12(3), 109-122.
- [19] Essential Oil Analysis of the Aerial Parts of *Sideritis incana* and *Calamitha hispidula*, *International journal of Chemical and Molecular Engineering*, 2015, (9), 1.
- [20] Basarand, D., Ahmet, G., Tulay, B., 2005, Antimicrobial studies on three endemic species of *Sideritis* from Turkey, *Acta biologica cracoviensla Series Botanica*, 47/2, 153–156.
- [21] Basim, E., Basim., H., Özkan, Gn., Sagdic, O., 2012, Antibacterial activity of the methanol extracts of two endemic *Sideritis* species of Turkey against plant pathogenic bacteria, *Scientific Research and Essays*, 10 December, 7(48), 4146 -4150.
- [22] Fakraoui, L., Investigation phytochimique d'une plante médicinale algérienne de la famille des zygophylaceae, mémoire de master, Constantine, Université des Frères Mentouri, 2016, p 28-36.
- 23 – طارق بوديار. فصل وتحديد نواتج الايض الثانوي ودراسة الفعالية المضادة للأكسدة لنبتة (*Euphorbia guyoniana*). قسنطينة. جامعة منتوري 2008. ص21
- [24] Idrisisi, F.E., Caractérisation chimique ,activités biologiques de substances naturelles issues de plantes médicinale et de métabolites secondaire isolés de

champignons endophytes. mémoire doctorat .Maroc Université Mohammed V, 2015,p53.

25- العابد ابراهيم. دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا والمضادة للأكسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران .ورقلة .جامعة قاصدي مرباح ورقلة2009 ص10-14

[26] Labib, A.S.N.,Secondary metabolic components and biological effectiveness study on two species *Thymelaea microphylla* and *Gnidia somalensis*, doctorate memoir, Constantine1 , Mentouri Brothers University,2017, P.20.

[27] Saihi,R.,étude phytochimique , extraction des produits actifs de la plante *Artemisia campestris* de la région de Djelfa. Mise en évidence de l'activité biologique. Mémoire Magister . Oran. Université D'Oran. 2011.p.36.

[28] Ben Abbes, F., Etude de quelques propriétés chimiques et Biologiques d'extraits de dattes « *Phoenix dactylifera L.* », mémoire magister , Sétif , université Ferhat Abbas,2011, p.40.

[29] Melinda,W., ,2010 , essentielles Pour la cuisine et le bien-être les presses de l'imprimerie transcontinental (canada) mars,978-2-7621-2968-7.

[30]Ouis,N,Etude chimique et Biologique des huiles essentielles de coriandre, de fenouillet de persil, mémoire doctorate,Oran,université d'oran 1,2015,p5.

[31] Harrar,A.N.,Activités antioxydant et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus L.*,mémoire de magister ,Sétif , université Farhet Abbas, 2012.

[32] Mekhelfi,T., Séparation et Détermination Structurale de Métabolites Secondaires de deux Plantes Algériennes - Activités Biologiques, mémoire doctorat ,Constantine , Université frères mentouri, 2016, P.61.

[33] Safidine,k.,Etude analytique et biologique des flavonoïdes extraits de *Carthamus caeruleus L.* et de *Plantago major L.*,mémoire doctorat ,,Sétif , Université Ferhat Abbas, 2015.

[34] Akroum,S., Etude Analytique et Biologique de Flavonoïdes Naturels. Thèse doctorat : physio-toxicologie,Constantine , Université mentouri, 2011.

[35] Talbi,M., Dosage des polyphénols de la plante d'*Artemisia campestris*. L par chromatographie HPLC. Mise en évidence de l'activité biologique, Mémoire de magister, Oran ,université Ahmed Benbella, 2015, P.20.

[36] Touafek.O . Etude phytochimique de plantes médicinales du nord et du sud algérien. memoir doctorat . Constantine .Université mentouri.P.22.

[37]Ozenda.P,flore du sahara 2eme Edition ,1977,P.241-318-319-321.

[38] Athmena, S. étude quantitative des flavonoïdes des graines de *Cuminum cyminum* et les feuilles de *Rosmarinus officinalis* et l'évaluation de l'activité biologique. Mémoire Magister. Biochimie Appliquée. Batna : université el hadj Lakhdar. 2009. p.39

39- علاوي مسعودة. الدراسة الفيتوكيميائية والتقييم الميكروبيولوجي لنبتتين من الفصيلة اليرمادية تستعملان في الطب التقليدي الصحراوي. مذكرة دكتوراه. ورقة. جامعة قاصدي مرباح 2015. ص 38

[40] Bentabet, O., Benayache, F., Recherche et détermination structurale des métabolites secondaires de *santolina chamaecyparissus* L, mémoire de magister, Constantine, Université montauri. 2008.

41-ع. بن مرعاش. دراسة نواتج الايض الثانوي الفلافونيدي والفعالية المضادة للأكسدة لنبتة. قسنطينة. مذكرة ماجستير. جامعة منتوري قسنطينة. 2012.

[42] Kebieche, M., Activité biochimique des extraits flavonoïdiques de la plante *Ranunculus repens* L : effet sur le diabète expérimental et l'hépatotoxicité induite par l'Epirubicine. Thèse de doctorat, Constantine, Université Mentouri, 2009, P.28

[43] Benguerba, A., étude phytochimique de l'espèce *Inula crithmoides* L. mémoire Magister, constantine, université mentouri, 2008, P.20

[44] Zeghad, N., Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne, Mémoire de magister, Constantine, Université Mentouri Constantine, 2009.

45- حلومي. ع. كتاب النباتات الطبية في الجزائر 2004. الجزائر. دار النشر الجزائر ص 79-80

[46] Boubekri, C. Etude de l'activité antioxydant des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques. mémoire doctorat. Beskra. université Mohamed khider. 2004.

[47] Bouhadjra, K., Etude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge. Mémoire de magister. Tizi-Ouzou. université mouloud Mammeri. 2011.

[48] Beddou, F., Etude phytochimique et activités biologiques de deux plantes médicinales sahariennes *Rumex vesicarius* L. et *Anvillea radiata* Coss. & Dur. Mémoire doctorat, Tlemcen, université Abo Bekr Belkaid, 2015, P.74.

[49] Frenkfel EN.,Meyer A.S.,2000, the problemes of using one-dimensioal methods to evaluate multidimensional food and biological antioxidants. *Journal of science and food agriculture* p80 :1925-1947

[50] Bouchouka,E., Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes sahariennes, mémoire doctorat , Annaba .université Badji Mokhtar, 2016.

[51] Djemai,Z.S., Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de *Zizyphus lotus*L,Mémoire Magister , Batna ,Université-el hadj Lakhdar ,2009.

[52] Trabsa,H.,Activité antioxydant et anti-inflammatoire des fractions des plantes médicinales ,*Sedum sediforme* et *Lycium arabicum*. Thèse de doctorat : biochimie. Sétif , Université Ferhat Abbas, 2015.

[53] Quzel ,P ., Santa,S., 1963,Nouvelle Flore De L'Algérie et des régions Désertiques Méridionales.editions du centre national de la recherche scientifique 15. Paris 7.tome II , p.232.

[54] RadhaaA.C. Phenolic composition, antioxidant and antimicrobial activities of free and bound phenolic extracts of *Moringa oleifera* seed flour. *Journal of functional foods*, 2013. (5), 883-89.

[55]koffi n'guessan,2009.Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire) .*sciences nature* (6) N°1 : 1 - 15

56-م.ع.الدليمي. 2009. الكشف عن المركبات الكيميائية والتنقية الجزئية للقلويدات في مستخلصات (ثمار واوراق وجذور) نبات عنب الذيب المجلة العراقية للعلوم المجلد 50 العدد3. الصفحة 303-314

[57] Abedini, A., Evaluation biologique et phytochimique des substances naturelles d'*Hyptis atrorubens* Poit. (Lamiaceae), sélectionnée par un criblage d'extraits de 42 plantes. mémoire doctorat France, université Lille nord de France,2013.

6[58]Francisco,T.L.,Federico,F.,Francisco,T.B.,Diego,R.,1989,Verification of *Sideritis incana* * *S. angustifolia* hybrids by flavonoid analysis .*phytochemistry*,28,8,p 2141-2143.

[59] Ferhat, M., Etude phytochimique et évaluation des activité biologiques des espèces *aquatica*, *Stachys guyoniana* et *Thymus dreatensis* (lamiaceae),mémoire doctorat, Constantine, Université Freres Mentori. 2016

[60] Zeghad,N., Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales

d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne, Mémoire Magister , Constantine ,Université Mentouri,2009.

Résumé

Dans ce travail, nous visons à étudier l'investigation phytochimique et l'efficacité biologique de la plante médicinale *Sideritis incana*, nous avons fait les tests phytochimique, ou nous avons trouvés un grand nombre de métabolites, en particulier les tanins, les flavonoïdes et les alcaloïdes avec leur couleurs foncées vert, rouge et jaune perspective, ainsi que l'estimation quantitative des flavonoïdes avec réactif trichlorure Aluminium et des polyphénols avec réactif Folin ciocalteu ou la phase éther de pétrole en 29.55mg EQ/g et n-butanol en 2.426mg EAG/g la plus pourcentage respectivement. Nous avons également discuté de l'efficacité biologique de deux manières, les antioxydants et les antimicrobiens, le premier c'est l'antioxydants que nous avons utilisés dans les deux méthodes de DPPH et de molybdate le résultat comme suite Le n-butanol est le plus efficacité contre le DPPH. à 0.0534mg/ml, et l'acétate c'est le meilleure capacité réducteur (1.0734mM). Et l'autre est antibactérien utilises les souches bactérie de références staphylo .pseudo et E. Coli dans lesquels nous avons obtenu les résultats dans la phase chloroforme contre Staphylococcus aureus à diamètre 9mm et E. Coli à diamètre 13mm.et l'acétate effet contre E. Coli à diamètre 7mm .et n-Butanol contre staphylo à diamètre 8mm.

Les mots clés : *Sideritis incana*, activité biologique, antioxydant, anti bactérienne.

Abstract :

In this work, we aim at the phytochemical study and the biological effectiveness of the medicinal plant *Sideritis incana*, we did the phytochemical tests, or we found a lot of metabolites, especially tannins, flavonoids and alkaloids with their dark green, red and yellow perspective, as well as the quantitative estimation of flavonoids with aluminum trichloride reagent and polyphenols with Focal reagent ciocalteu or ether phase in 29.55 mg EQ / g and n-butanol in 2.426 mg EAG / g the highest percentage respectively. We also discussed the biological effectiveness of two ways, antioxidants and antimicrobials, the first being the antioxidants we used in both DPPH and molybdate methods as a result. n-Butanol is the most effective against DPPH. at 0.0534 mg / ml, and acetate is the best reducing capacity (1.0734 mM). And the other is antibacterial used bacterial references staphylo, pseudo and E. coli strains in which we obtained the results in the chloroform phase against Staphylococcus aureus at diameter 9mm and E. coli at diameter 13mm. the acetate effect against E. coli at the diameter 7mm and the n-butanol against the staphylo at the diameter 8mm.

Keywords :

Sideritis incana, biological activity, antioxidant, antibacterial

المخلص

نهدف من خلال هذا العمل الى المسح الفيتو كيميائي وكذا الفعالية البيولوجية للنبتة الطبية الحلال حيث قمنا بالكشف الفيتو كيميائي ووجدنا بانها تحتوي على عدد لا بأس به من مواد الايض الثانوي خاصة التانينات الفلافونيدات وكذا القلويدات المتميزة بالألوان الغامقة على التوالي الاخضر الداكن.الأحمر وأخيرا الأصفر. وكذا التقدير الكمي للفلافونيدات باستخدام كاشف ثلاثي كلوريد الالمنيوم والبوليفينولات باستخدام كاشف فولن حيث كانت اعلى نسبة لدى الطورين الايثر ب29.55مغ/غ والبوتانول2.426مغ/غ.كما ناقشنا ايضا الفعالية البيولوجية باستخدام مضادة الاكسدة ومضادة البكتيريا حيث ان المضادة للأكسدة تمت باستعمال طريقتين الجدر الحر وكذا الموليبيدات حيث في الاولى توصلنا الى أن الطور البوتانولي الأكثر فعالية وقدرت نسبة تثبيطه ب 0.0534مغ/مل والأسيتاتي الافضل قدرة إرجاعيه ب1.0736مليمولر. والدراسة الفعالية المضادة للبكتيريا باستعمال انواع بكتيرية مرجعية: بكتيريا عنقودية والقولونية و الزواحف الزرقاء حيث حصلنا على نتائج في المستخلص الكلوري ضد النوعين العنقودية والقولونية بالأقطار التثبيطية الاتية 9مم و13مم على التوالي. كما كان للطور الأسيتاتي فعالية ضد البكتيريا القولونية بقطر 7مم. أما البوتانولي ضد العنقودية بقطر 8مم.

الكلمات المفتاحية : الحلال . الفعالية البيولوجية. الفعالية المضادة للأكسدة . الفعالية المضادة للبكتيريا.

