

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE LARBI TEBESSI – TEBESSA
FACULTE DE SCIENCES EXACTES V ET DE SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE SCIENCES DE LA MATIERE



PROJET DE FIN D'ETUDES
EN VUE DE L 'OBTENTION DU DIPLOME DE MASTER
DOMAINE : SCIENCES DE LA MATIERE
SPECIALITE: CHIMIE ORGANIQUE
Thème

ETUDE ET EVALUATION DES PROPRIETES THERAPEUTIQUES D'UNE
PLANTE MEDICINALE " *Rhus tripartitum* "

PRESENTE PAR : BOUZIDA HANINE

Président :	Boudiba Sameh	MCB	ULT Tébessa
Rapporteur:	Kalla Ali	MCA	ULT Tébessa
Examineur :	Houam Chahrazed	MAA	ULT Tébessa

Date de soutenance : 25/06/2019



Déclaration sur l'honneur de non-Plagiat

(A joindre obligatoirement au mémoire; Remplie et signée)

Je soussigné(e).

Nom, prénom: *Benzida Hamine*

N° de carte d'étudiant: *14/34021579/2014*

Régulièrement inscrit (e) en **Master** au **Département Sciences de la Matière**

Année universitaire: **2018/2019**

Domaine: **Sciences de la matière**

Filière: **Chimie**

Spécialité: *Chimie organique*

Intitulé du mémoire: *Etude et évaluation des propriétés thérapeutiques d'une plante médicinale "Alhus tripartitum"*

Atteste que mon mémoire est un travail original et que toutes les sources utilisées ont été indiquées dans leur totalité. Je certifie également que je n'ai ni recopié ni utilisé des idées ou des formulations tirées d'un ouvrage, article, ou mémoire, en version imprimée ou électronique, sans mentionner précisément leur origine et que les citations intégrales sont signalées entre guillemets.

Sanctions en cas de plagiat prouvé:

L'étudiant sera convoqué devant le conseil de discipline, les sanctions prévues selon la gravité du plagiat sont:

- L'annulation du mémoire avec possibilité de le refaire sur un sujet différent.
- L'exclusion d'une année du master.
- L'exclusions définitive.

Fait à Tébessa, le: *02/07/2019*

Signature de l'étudiant (e):



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE LARBI TEBESSI – TEBESSA
FACULTE DE SCIENCES EXACTESV ET DE SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE SCIENCES DE LA MATIERE



PROJET DE FIN D'ETUDES
EN VUE DE L 'OBTENTION DU DIPLOME DE MASTER
DOMAINE : SCIENCES DE LA MATIERE
SPECIALITE: CHIMIE ORGANIQUE
Thème

ETUDE ET EVALUATION DES PROPRIETES THERAPEUTIQUES D'UNE
PLANTE MEDICINALE " *Rhus tripartitum* "

PRESENTE PAR : BOUZIDA HANINE

Président :	Boudiba Sameh	MCB	ULT Tébessa
Rapporteur:	Kalla Ali	MCA	ULT Tébessa
Examineur :	Houam Chahrazed	MAA	ULT Tébessa

Date de soutenance :25/06/2019

Remerciements

Tout d'abord, je tiens à remercier le bon Dieu le tout Puissant de m'avoir donné la force et le courage de mener à bien ce modeste travail.

Mes plus grands remerciements vont à docteur Kalla Ali mon encadreur pour m'avoir guidé pour la réalisation de ce projet.

Mes remerciements vont à Dr Boudiba Sameh et à Dr Houam Chahrazed. Pour leur acceptation de l'évaluation de mon travail pratique est modeste.

Je remercie vivement les étudiants Master II Chimie pour leur aide morale durant toute la période de préparation.

Enfin, Je tiens à remercier tous ceux et celle qui ont contribué à finaliser ce modeste travail.

Dédicace

Je dédie ce travail qui n'aura jamais pu voir le jour sans les soutiens indéfectibles et sans limite de mes chers parents qui ne cessent de me donner avec amour le nécessaire pour que je puisse arriver à ce que je suis aujourd'hui.

Que dieu vous protège et que la réussite soit toujours à ma portée pour que je puisse vous combler de bonheur.

A mon frère Said et mes sœurs Samiha, Amel, Abir, Oumaima et Intissar qui m'avez toujours soutenu et encouragé durant ces années d'études et puisse Dieu vous donne santé, bonheur, courage et surtout réussite.

A mon cher fiancé et mon futur mari et tout sa famille.

A mes chères amies Khadidja, Saoussane, Donia, Laila Que Dieu nous garde si tendres et aimants les uns envers les autres.

A toute personne qui m'a aidé à franchir un horizon dans ma vie.

LISTE DES ABREVIATIONS

% : Pourcentage

µl: Microlitre

DPPH : 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyle

DMSO : Diméthyl sulfoxyde

DCM: Dichlorométhane

ml: Millilitre

L: Litre

cm : Centimètre

km : Kilomètre

m : Mètre

mm : Millimètre

g : Gramme

°C : Degré Celsius

MeOH : Méthanol

H₂O : Eau

t: Temps

s: Seconde

Abs: Absorbance

m: Masse

ABTS: Acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)

K₂S₂O₈ : Persulfate de potassium

UV: Ultraviolet

min: minute

Vc : l'acide ascorbique

h : heure

Liste des figures

Figure	Titre	Page
1	Répartition géographique de la famille d' <i>anacardiacee</i>	6
2	Répartition géographique de l'espèce de <i>Rhus tripartitum</i> dans le monde	8
3	Répartition géographique de l'espèce de <i>Rhus tripartitum</i> en Algérie	9
4	Exemples de quelques tanins	15
5	Structure de l'isoprène	15
6	Structure de base des stéroïdes	16
7	Exemples des dérivés d'alcaloïdes	16
8	Structure de base des coumarines	17
9	Montage d'une unité d'extraction par hydrodistillation.	20
10	Montage d'une unité d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau.	21
11	Modes d'extraction des huiles essentielles	23
12	Différents types d'ampoule à décanter	24
13	Piégeage du radical DPPH [•] avec l'antioxydant (AH).	28
14	Oxydation de l'ABTS avec K ₂ S ₂ O ₈ et sa génération	28
15	Localisation de la zone de la cueillette	34
16	<i>Rhus tripartitum</i>	35
17	Dispositif d'hydrodistillation utilisé	39
18	Grains (fruit), feuilles et tiges de la plante émergés dans l'eau	40
19	Macération	40
20	Filtration	40
21	Evaporation	40
22	Séparation par DCM	41
23	Extrait de DCM	41
24	Séparation par l'acétate d'éthyle	41
25	Extrait de l'acétate d'éthyle	41
26	Séparation par n-butanol	42
27	Extrait de n-butanol	42
28	Extrait aqueux	42
29	Organigramme des différentes opérations d'extraction	43
30	Molécule de diphényl picrylhydrazyl (DPPH)	44
31	Equation d'inhibition de la racine DPPH en présence des anti-radicaux libres	44
32	Cinétique de réduction du radical DPPH [•] . (A) Extrait du DCM (B) Acétate d'éthyle (C) Extrait du n-butanol (D) Extrait aqueux (E) Acide ascorbique.	52
33	(A) concentration 1mg/ml; (B) concentration 0.5 mg/ml; (C) concentration 0.25 mg/ml; (D) concentration 0.125 mg/ml; (E) concentration 0.06125 mg/ml; (F) concentration 0.03125 mg/ml	54
34	Histogramme représentant les valeurs d'absorbance après 5 min.	56
35	Histogramme représentant les valeurs d'absorbance après 10 min.	56
36	Boîte avant 24 heure	58
37	Activité antibactérienne de l'extrait du DCM de la plante <i>Rhus tripartitum</i>	58
38	L'activité antibactérienne de l'extrait d'acétate d'éthyle de la plante <i>Rhus tripartitum</i>	58
39	Activité antibactérienne de l'extrait du n-butanol de la plante <i>Rhus tripartitum</i>	59
40	Activité antibactérienne de l'extrait aqueux de la plante <i>Rhus tripartitum</i>	59

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
1	Principales classes des flavonoïdes	13
2	Résultats des tests de présence des principes actifs	38
3	Absorbance de l'extrait du DCM à différentes concentrations	46
4	Absorbance de l'extrait d'acétate d'éthyle à différentes concentrations	47
5	Absorbance de l'extrait du n-butanol à différentes concentrations	48
6	Absorbance de l'extrait aqueux à différentes concentrations	49
7	Absorbance de l'acide ascorbique à différentes concentrations	50
8	Comparaison de l'absorbance des différents extraits pour les mêmes concentrations	55

Résumé

Dans ce modeste travail, nous avons étudié une plante médicinale nommée "*Rhus tripartitum*" populairement connue sous le nom d'ellouk. C'est une plante qui appartient à la famille des *anacardiacees* et qui pousse dans des vallées rocheuses sous forme de colonie. La cueillette est faite dans la région d'Amentane à Batna.

Le but de ce travail était l'étude de l'efficacité phytochimique et biologique (antioxydant et antibactérien des tiges de la plante en question. Les tests préliminaires de présence des principes actifs ont montré la présence des principes testés à l'exception des coumarines. Après une hydrodistillation qui n'a aboutie à aucune récupération quantitative, nous avons tenté de macérer la plante dans une solution de méthanol à 70% pendant plus de 24 heures. L'opération est répétée trois fois pour s'assurer de la récupération totale de la matière active. Après l'évaporation sous vide, élimination de la chlorophylle et la répartition chromatographique, nous avons obtenu quatre extraits. L'activité antibactérienne de ces extraits a été testée avec des souches bactériennes *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeryginosa* où les résultats ont montré que ces souches étaient résistantes. L'activité antioxydante des extraits (à des concentrations de 0,03125, 0,06125, 0,125, 0,25, 0,5, 1, 1 mg / ml) avec des radicaux libres de DPPH a montré qu'ils avaient la capacité de retenir le radical.

Les mots-clés: *Rhus tripartitum*, famille *anacardiacees* , extraits, étude phytochimique, efficacité biologique.

Abstract

In this modeste work, we studied a medicinal plant known popularly as "Sumac ellok" which is an Amazigh name "*Tainekht*", belonging to the family of "*Anacardiacees*" and scientifically named "*Rhus tripartitum*". The plant under study which grows up in the form of a colony was taken from the region of Amentane – Batna.

The aim of this research is to study the phytochemical and biological efficiency (antioxidant and antibacterial) of the stems, which is an aerial part. The preliminary tests proved the presence of all active substances studied except the coumarins. The extraction of essential oil hadn't lead us to expected results we count on. After that we passed to the method of soaking in methanol solution (70 %) which was repeated several times to confirm the total extraction of active substances and after evaporation under pressure, separation of chlorophyll and liquide-liquide extractions, we obtained 4 extracts. The antibacterial activity was tested against bacterial strains (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeryginosa*), where the results showed that these strains were resistant, and the antioxidant activity of the extracts (in concentrations 0.03125, 0.06125, 0.125, 0.25, 0.5, 1 mg / ml) with free radical DPPH showed the ability to restrain these radicals.

Keywords: Sumac ellok, *Anacardiacees*, extracts, phytochemical study, biological efficiency.

الملخص

في هذا العمل المتواضع، قمنا بدراسة نبات طبي منتشر خاصة في الوديان الصخرية مسمى علميا باسم "*Rhus tripartitum*" و معروف باسم سماق اللك. النبتة قيد الدراسة مأخوذة من منطقة امنطان- باتنة و هي نامية على شكل مستعمرة وادية ومعروف لدى أهل المنطقة بالاسم الأمازيغي – ثاينغث- و هي منتمية الى العائلة البطمية. الهدف من هذا البحث يتمثل في الدراسة الفيتوكيميائية و الفعالية البيولوجية (المضادة للأكسدة و ضد البكتيرية) لساق الشجرة و هو جزء هوائي. الفحص السريع أثبت تواجد كل المواد الفعالة المدروسة باستثناء الكومارينيات. استخلاص الزيوت الأساسية لم يوصلنا إلى أية نتيجة كمية يمكن الاعتماد عليها. استخدمنا بعد ذلك طريقة النقع بواسطة محلول الميثانول 70% و المعادة عدة مرات للتأكد من الاستخلاص الكلي و بعد التبخير تحت الضغط، فصل اليخضور و الفصل الكروماتوغرافي، استخرجنا 4 مستخلصات. تم اختبار نشاطها المضاد للبكتيريا مع السلالات البكتيرية *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* النتائج أن هذه السلالات مقاومة. و اظهرت النشاطية المضادة للأكسدة للمستخلصات (في التراكيز 0.03125, 0.06125, 0.125, 0.25, 0.5, 1 مغ/مل) مع الجذر الحر DPPH أن لها قدرة على كبح الجذر. **الكلمات المفتاحية:** سماق اللك, العائلة البطمية, مستخلصات, الدراسة الفيتوكيميائية, الفعالية البيولوجية.

SOMMAIRE

Matière	Page
Introduction générale	1
CHAPITRE I : PARTIE THEORIQUE	
I- Généralités sur la famille <i>Anacardiaceae</i>	5
I.1- Description botanique	5
I.2- Genre <i>Rhus</i>	6
I.2.1- Description botanique du genre <i>Rhus</i>	6
I.2.2- Répartition géographique du genre <i>Rhus</i>	7
I.2.3- Propriétés et usage du genre <i>Rhus</i>	7
I.3- Description botanique de <i>Rhus tripartitum</i>	7
I.4- Répartition géographique de <i>Rhus tripartitum</i>	8
a- Dans le monde	8
b- En Algérie	8
II- Métabolites des plantes	12
II.1- Définition d'une plante médicinale	12
II.2- Définition des principes actifs	12
II.3- Métabolites secondaires	12
a- Polyphénols	12
b- Flavonoïdes	13
c- Tanins	14
d- Terpènes	15
e- Stéroïdes	15
f- Saponosides	16
g- Alcaloïdes	16
h- Coumarines	16
i- Huiles essentielles	17
III- Méthodes d'extraction et de séparation	20
III.1- Introduction	20
III.2- Méthodes d'extraction des huiles essentielles	20
III.2.1- Extraction par hydrodistillation	20
III.2.1.1- Relargage	21
III.2.2- Extraction par entraînement à la vapeur d'eau	21

III.2.3- Autres méthodes d'extraction	22
III.3- Méthodes d'extraction solide – Liquide	23
III.3.1- Infusion	23
III.3.2- Décoction	23
III.3.3- Macération	23
III.3.4- Purin ou l'extraction fermentée	23
III.4- Méthodes d'extraction liquide – liquide	24
III.4.1- Types d'extraction liquide-liquide	24
A) Extraction liquide-liquide discontinue	24
B) Extraction liquide-liquide continue	24
IV- Activités des principes actifs	26
IV.1- Introduction	26
IV.2- Radicaux libres	26
IV.3- Activité antioxydante	26
IV.3.1- Antioxydants	27
IV.3.2- Antioxydants naturels	27
IV.3.3- Antioxydants de synthèse	27
IV.3.4- Méthodes les plus fréquemment utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante	27
IV.3.4.1- Méthode du DPPH	27
IV.3.4.2- Piégeage de l'ABTS+•	28
IV.3.4.3- Dosage des polyphénols	29
IV.4- Activités Antibactériennes	29
IV.4.1- Technique de diffusion en milieu gélosé (antibiogramme)	29
IV.4.2- Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	29
CHAPITRE II : PARTIE EXPERIMENTALE	
1- Coordonnées géographiques de la zone de récolte	34
2- Taxonomie	35
3- Récolte	35
4- Etude antérieures sur l'espèce <i>Rhus tripartitum</i>	35
5- Criblage des métabolites secondaires	36
5.1- Tests de présence des tanins	36
5.2- Test de présence des quinones	37

5.3- Test de présence des alcaloïdes	37
5.4- Test de présence Saponines	37
5.5- Test de présence des flavonoïdes et des leuco anthocyanes	37
5.6- Test de présence des coumarines	37
5.7- Test de présence des stérols et terpènes	38
6- Hydrodistillation	38
7- Macération	40
7.1- Extraction liquide-liquide	41
8- Estimation de l'activité anti oxydante	44
8.1- Préparation de DPPH	45
8.2- Résultats du test	45
9- Résultat et discussion	55
10- Etude de l'activité biologique des extraits retenu de la plante <i>Rhus tripartitum</i>	57
Conclusion générale	61

Introduction générale

Pendant des millénaires, l'emploi des plantes médicinales fut la principale demande pour guérir l'homme. Cette utilisation est généralement adaptée à des pathologies lourdes, en visant un traitement symptomatique.

Il y'a environ 500 000 plantes sur terre, 100 000 d'entre elles, environ, ont des propriétés médicinales participées à leur principes actifs qui impact directement sur l'organisme.

On les utilise aussi bien en médecine traditionnelle qu'en phytothérapie : elles montrent en effet des avantages dont les médicaments classiques sont souvent dépourvus. [1] [2]

En effet, l'usage de plantes médicinales peut apporter directement des résultats à certains problèmes de santé; mais avant de pouvoir recommander l'utilisation de telle ou telle espèce pour une maladie, il est obligatoire de valider l'usage traditionnel de telle ou telle plante, en d'autres façons, il convient d'évaluer scientifiquement l'activité pharmacologique de la plante médicinale retenue, et apprécier si celle-ci confirme sa célébrité ou non. De plus, il est impératif de vérifier identiquement l'absence de toxicité des plantes employées. L'usage des plantes médicinales locales, en réponse à des problèmes de santé peut-être aperçu comme une alternative aux médicaments conventionnels.

Les plantes médicinales sont importantes pour la recherche pharmacologique et l'élaboration des médicaments, non seulement lorsque les constituants des plantes sont utilisés directement comme agent thérapeutique, mais aussi comme matière première pour la synthèse de médicaments ou comme modèle pour les composés pharmacologiquement actifs. [3]

La famille des *anacardiaceaes* est principalement pantropicale distribuée sur plus de 80 types et 700 espèces. Certains genres s'étendent dans la zone tempérée. [4] [5]. La région malaisienne est considérée comme un centre de diversité des *anacardiaceaes* avec 17 genres et 55 espèces. Certaines espèces de *Dobinea*, *Pistacia*, *Rhus*, et *Toxicodendron* atteignent des altitudes élevées à 2000 m dans le Guangxi, Guizhou et Yunnan.[6]

La catégorie *Rhus*, avec 200 espèces est présent dans les deux régions tempérées et tropicales des deux hémisphères. Il est polyphylétique, avec un maximum de cinq origines différentes [7] dont la plupart sont africaines. [8]



Introduction générale

L'objectif de ce modeste travail est basé essentiellement sur L'étude phytochimique de la plante *R. tripartitum* populairement connue sous le nom de *Sumac ellouk* ou encore *Tainekht*.

Le travail est réparti en deux parties importantes :

Après une brève introduction, nous avons entamé d'exposer l'essentiel théorique en partant des données historiques de la plante, passant par l'exposition de différents principes actifs des plantes.

Les méthodes d'extraction et de purification des plantes et leurs extraits font part de la partie théorique qui sera clôturée par une introduction sur les différentes méthodes utilisées pour décrire l'activité biologique, sujet de notre deuxième partie pratique.

Dans la deuxième partie, après une description rapide de la famille, du genre et de l'espèce de la plante étudiée, nous avons décrit l'essentiel de l'extraction, purification et fractionnement de la plante. Les extraits obtenus ont été testés pour connaître certaines de ces activités biologiques.

Ce travail est achevé par une conclusion avec une perspective ultérieure.

Notons enfin que ce travail a été réalisé en collaboration avec le laboratoire de recherche des molécules bioactives et leurs applications

Références

- 1- W.Gilles, L'Encyclopédie des Médecines Naturelles et des Secrets de Santé, Elina, Lavoisier, Paris, (1976), pp 212-222.
- 2- P.Lserin, Encyclopédie des Plantes Médicinales, Identification, Préparation, Soins 2ième édition Ed Larousse/VUEF, (2001), pp13-16, p 250, pp291-296.
- 3- G. Ameenah, Plantes médicinales: traditions d'hier et drogues de demain, Molecular aspects of Medicine, (2006), 27 (1), 1-93.
- 4- S. K. Pell, Molecular systematics of the cashew family (Anacardiaceae) (2004), pp: 1-193.
- 5- J.M. Féraud, Association des naturalistes de Nice et des Alpes-Maritimes, (2013).
- 6- M.Tianlu, A.Barfod, Anacardiaceae. Flora of China ,(2008),Vol, (11): 335-357.
- 7- A.J. Miller, D.A. Young et J. Wen, Phylogeny and biogeography of *Rhus* (Anacardiaceae) based on ITS sequences, International Journal of plant Sciences, (2001),162, 1401-1407.
- 8- R.O. Moffet, Name change in the Old World *Rhus* and recognition of *Searsia* (Anacardiaceae), (2007) Bothalia,37,165-175.

CHAPITRE I

PARTIE THEORIQUE

I- Généralités sur la famille *d'anacardiaceae*

I.1- Description botanique

Les *anacardiacées* appartiennent à l'ordre des sapindacées, à la sous-classe des rosidae dialypétales qui comprend plus de 600 espèces connues et 60 genres, à la classe des Magnoliopsida, au sous-embranchement des Magnoliophyta ou Angiospermes et à l'embranchement des Spermaphytes. Les espèces de cette famille sont des arbres, des arbustes ou des lianes à feuilles alternées, composées et imparipennées. [1]

Dépourvues de glandes ponctiformes, inflorescence en panicules, fleurs actinomorphes, hétérochlamydées, parfois apétales, 5-mère, (hétérosexuées) et /ou unisexuées, généralement hypogynes, diplomones ou haplostémones (à filets souvent concrets à la base), le fruit est généralement une drupe souvent à mésocarpe résineux. Graine exalbuminée ou presque à embryon courbe. Pollen divers, souvent 2-3- colportés ou avec 3-8 ouvertures circulaires ou non. Cloisons des vaisseaux à perforation unique (sauf quelques cas). [2]

Les genres les plus importants dans le monde des anacardiacées sont: *Anacardium*, *Continus*, *Mangifera*, *Pistacia*, *Rhus* (Sumac), *schinopsis*, *schinus*, *tapirira*, *Toxicodendron*. [3], réparties dans des régions tropicales, bien représentée en Amérique du sud, en Afrique et en Malaisie, mais s'étendant jusqu'aux zones tempérées de l'hémisphère Nord .

Le genre *Rhus* (*Sumac*) représente le plus grand genre de la famille des *Anacardiacées*, avec plus de 250 espèces. [4] Il croît à l'état spontané dans tout le bassin méditerranéen et dans d'autre régions chaudes. [5] Ce sont des arbustes et de petits arbres pouvant atteindre une hauteur de 1 à 10 m. Les feuilles sont disposées en spirale, bien que certaines espèces aient des feuilles trifoliées ou simples. Les fleurs sont groupées en panicules denses ou des épis 5-30 cm de long, chaque fleur est très petite, verdâtre, blanc crémeux ou rouge, avec cinq pétales. Les fruits forment des grappes denses de drupes rougeâtres appelées sumac bobs.

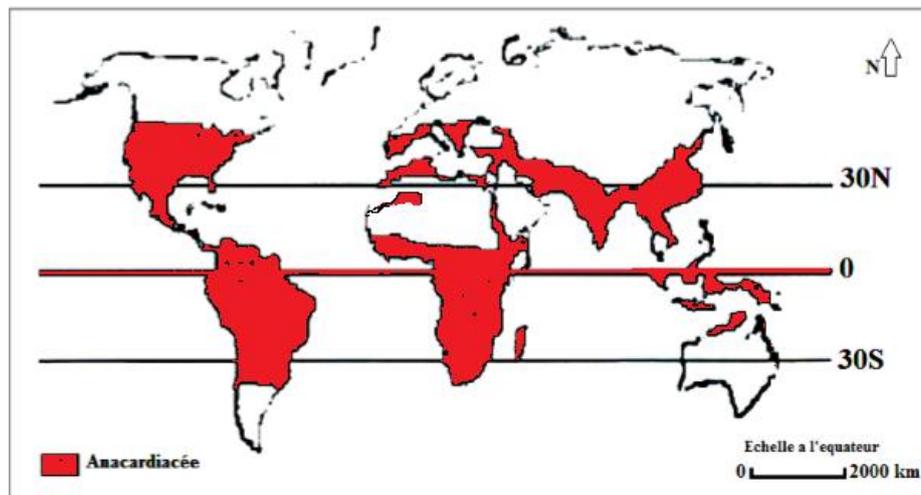


Figure 01. Répartition géographique de la famille d'*anacardiacee*

I.2- Genre *Rhus*

I.2.1- Description botanique du genre *Rhus*

Sumac est le nom commun pour le genre *Rhus* qui contient plus de 250 espèces différentes de plantes à fleurs. [6] Les sumacs sont des plantes ligneuses rampantes ou volubiles, des buissons, des arbrisseaux ou des arbres, dont plusieurs espèces sont utilisées pour l'ornementation des jardins, car elles sont très décoratives surtout en automne quand le feuillage de certains d'entre elles prend une couleur orange à rouge écarlate, tous les *Rhus* produisent du latex, un suc incolore ou blanchâtre. Les espèces les plus connues sont : *Rhus javanica*, *Rhus glabra*, *Rhus vernicifera*, *Rhus typhina*, *Rhus succedanea*, *Rhus coriaria*, *Rhus toxicodendron*, *Rhus aromatica*, *Rhus chinensis*, *Rhus retinorrhoea*, *Rhus taitensis*. [7]

Le genre *Rhus* regroupe des arbustes ou des arbres à feuilles dépassées, polygames ou dioïques. Les feuilles sont composées imparipennées, à rachis parfois ailé et folioles pétiolées ou sessiles, à marges dentelées ou entières. Les inflorescences terminales sont paniculées ou thyrsoides, à bractées florales persistantes ou caduques. Les fleurs sont fonctionnellement unisexuées ou bisexuées. [8] Les étamines insérées aux dessous du disque sont en nombre égal aux pétales (de 5 à 10), parfois plus, seulement 1 ou 2 fertiles en fleurs. [9] Les rameaux secrètent un suc laiteux comme celui des Euphorbes. [10] L'ovaire est uni-loculaire et uni-

ovulaire à 3 styles, souvent unis à la base. Le fruit est une drupe globuleuse, légèrement compressée, pubescente glandulaire et poilu, rouge à maturité. [8]

Parmi les plantes les plus redoutés de phytodermatite allergique sont *Rhus Toxicodendron* ou herbe à puce dite sumac vénéneux. Le produit chimique qui provoque des lésions cutanées est connu comme l'urushiol. Dans ce genre, les feuilles, les tiges, les fruits, les fleurs et les racines dégagent une sève qui vire au noir si la plante est toxique. [11] Egalement, les espèces de ce genre sont les hôtes pour les insectes produisant les galles tels que les pucerons. Les galles de *Rhus chinensis* sont particulièrement recherchées après avoir des fins médicinales. Autres espèces du genre offrent également des galles, mais ceux-ci sont considérés comme de qualité inférieure. [8]

I.2.2- Répartition géographique du genre *Rhus*

Les espèces du genre *Rhus* sont réparties pratiquement dans tout le monde, notamment en Afrique, en Asie, en Amérique centrale, en Europe, Madagascar, Amérique du Nord, et les Pacifiques. Environ 250 espèces sont réparties dans les régions subtropicales tempérées et chaudes du monde dont six espèces *R. chinensis*, *R. wilsonii*, *R. teniana*, *R. hypoleuca*, *R. punjabensis*, *R. potaninii* sont endémiques au Chine. [8]

I.2.3- Propriétés et usage du genre *Rhus*

La littérature suggère fortement un potentiel antimicrobien, antifongique et antiviral accordé pour quelques espèces du genre *Rhus*. On peut citer à titre d'exemple :

Rhus glabra : traditionnellement utilisée par les peuples autochtones d'Amérique du Nord dans le traitement des maladies bactériennes (la syphilis, la gonorrhée, dysenterie et la gangrène. [12]

Rhus coriaria : couramment utilisé comme une épice en broyant les fruits secs avec du sel, et est également largement utilisé comme plante médicinale dans la Méditerranée et le Moyen-Orient, en particulier pour la cicatrisation. [12]

Rhus cotinus : utilisé en tannerie et comme plante tintoriale et médicinale (en gargarisme et pour stopper les saignements). [12]

I.3- Description botanique de *Rhus tripartitum*

Le *Rhus tripartitum* est un petit arbre ou arbrisseau de 1 à 3 m de hauteur, dioïque à rameaux tortueux et très épineux. Les feuilles caduques d'une couleur vert foncé sont

composées de 03 folioles, rarement 05 à contour ovale denté. Les fleurs d'un blanc jaunâtre sont réunies en petites grappes rameuses. Le fruit est drupacé à maturité, subglobulaire à 03 tubercules au sommet peut être consommé frais ou stocké. [13]

I.4- Répartition géographique de *Rhus tripartitum*

a- dans le monde

Rhus. tripartitum pousse dans les pays méditerranéens, l'Afrique du Nord et au Moyen-Orient. Par son action anti-érosive, il colonise particulièrement les oueds rocheux. [14]



Figure 2: Répartition géographique de l'espèce de *Rhus tripartitum* dans le monde

b- En Algérie

C'est une espèce plus au moins abondante en Algérie, on la trouve dans les steppes des zones arides et semi-arides (Djelfa, M'sila, El Bayadh, Naama, Laghouat et Batna). Elle est colonisée singulièrement dans les oueds rocheux du Sahara central (Tassili Ajjers, la région de Tindouf, le Hoggar, Téfedest). [15]

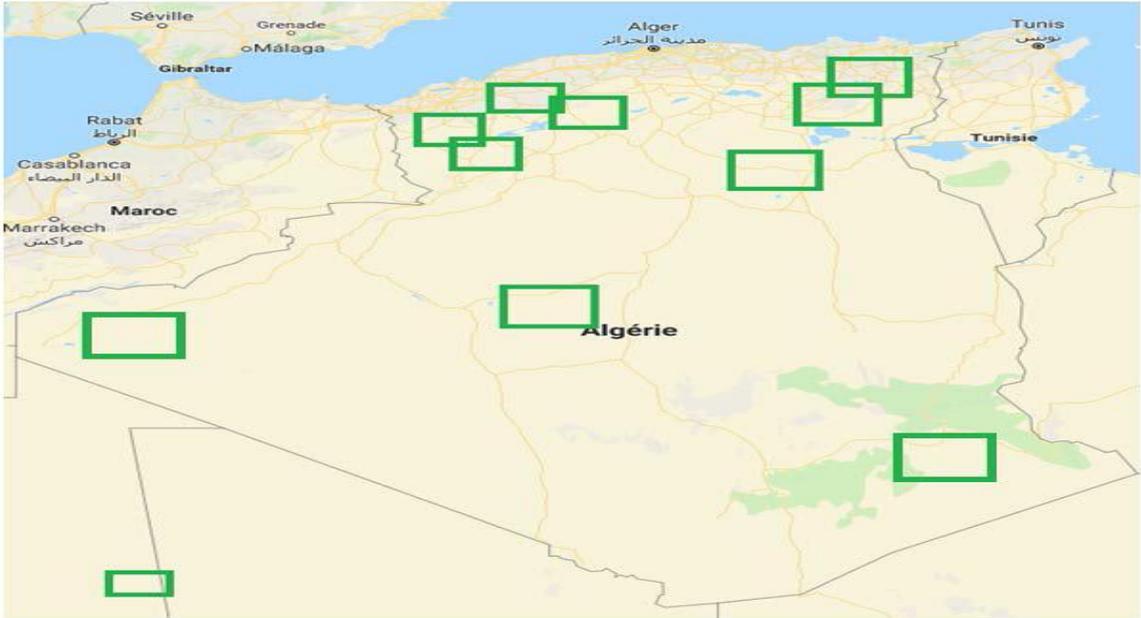


Figure 03: Répartition géographique de l'espèce de *Rhus tripartitum* en Algérie

Références

- 1- A. Kpemissi, 2007, Les Anacardiaceae du Togo : études botaniques, écologiques et propriétés antifongiques. Thèse de doctorat en biologie végétale ,Unv, Reims : 25.
- 2- F .Belfadel, 2009,Huile de fruits de Pistacia lentiscus, caractéristiques physicochimiques et effets biologiques (Effet cicatrisant chez le rat), Mémoire de Magister en chimie organique, Unv, Mentouri Constantine: 6.
- 3- Rodolphe-Edouard , V .Spichiger Vincent, Savolainen Murielle Figeat Danial Jeanmonod,2001,2002,2004,Botanique systématique des plantes à fleurs. Presses polytechniques et universitaires romandes. 413p.
- 4- E. Olchowik., S. Agnieszka., M .Saidmukhtar., A .Nodira., Z .Maria, 2012,Antioxidant capacities of polyphenols from Sumac leaves in protection of erythrocytes against oxidative damage, Original Journal of Experimental & Clinical Cancer Research : 5, 6.
- 5- Delachaux et Niestle, 2013,500 Plantes comestibles, ed Paris,360p.
- 6- J .Pourahmad, M .Eskandari, M. Kamalinejad, 2009, A search for hepatoprotective activity of aqueous extract of Rhus coriaria. Journal of Food and chemical toxicology, 48: 854-858.
- 7- Y. Sell, C. Benezra, B. Guerin, 2002,Plantes et réactions cutanées: 53 Y. Son, K. Lee, J. Lee, H. Jang, J. Kim, Y. Jeon, Y. Jang, 2005- Selective antiproliferative and apoptotic effects of flavonoids purified from Rhus verniciflua stokes on normal versus transformed hepatic cell lines. Journal of toxicology letters, 155: 115-125.
- 8- M.Tianlu, A.Barfod ,Anacardiaceae, Flora of China, (2008),Vol, (11): 335-357.
- 9- G.K. Brizicky ,The genera of Anacardiaceae in the southeastern united states, J, of the Arnold Arboretum (1962), pp: 359-375.
- 10- P. Fournier ,Les quatre flores de France ,Ed, Lechevalier, Paris (1977).
- 11- P. Svihra, Some arborists and gardeners begin itching when planting or pruning certain ornamental plants, Ornamentals Northwest Archives, (1987), Vol, (11) 3, pp: 8-10.
- 12- Tirse Malika, Etude microphytodermique des folioles de Pistacia et des genres affiliés à la famille des Anacardiaceae en région Nord-occidentale oranaise, thèse de doctorat unversité Sidi Belabès (2017).

- 13- N. Tlili, H Mejri., Y. Yahia, E. Saadaoui, S. Rejeb, A. Khaldi, N. Nasri,
Phytochemicals and antioxidant activities of *Rhus tripartitum* (Ucria) fruits
depending on locality and different stages of maturity, *Food chemistry* (2014),
Vol, (160), pp: 98-103.
- 14- Z. Refka, M. Ksontini, A. Ferchichi ,Seed Germination Characteristics of *Rhus*
tripartitum (Ucria) Grande and *Ziziphus lotus* (L.): Effects of Water Stress, *Int, J,*
of Ecology,(2013), pp : 1-7.
- 15- H. Saad ,2013,Développement de bio-compistes à base de fibre végétales et de
colles écologiques. Thèse de doctorat en chimie, Université de Pau et des pays de
l'Adour, p 321.

II- Métabolites des plantes

II.1- Définition d'une plante médicinale

La plante médicinale est une forme de drogues végétales au sens de la pharmacopée si au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Par extension, on appelle souvent « plante médicinale » non seulement l'entité botanique, mais aussi la partie utilisée. [1]

II.2- Définition des principes actifs

Les principes actifs d'une plante médicinale sont les composants naturellement présents dans cette plante, ils lui confèrent ses activités thérapeutiques, ces composants sont souvent en quantité extrêmement faible dans la plante : ils représentent quelques pour-cent à peine du poids total de celle-ci, mais ce sont eux qui en sont l'élément essentiel. [2]

II.3- Métabolites secondaires

Si les métabolites secondaires peuvent être définis comme des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes, alors que les métabolites primaires alimentent les grandes voies du métabolisme central. Les métabolites secondaires exercent une action déterminante sur l'adaptation, la tolérance des végétaux à des stress variés (attaque de pathogènes d'insectes, sécheresse, lumière UV...). D'un point de vue applicatif, ces molécules constituent souvent la base des principes actifs des plantes médicinales. L'évaluation de la valeur thérapeutique de ces métabolites fait l'objet de nombreuses recherches et amène à l'identification des principaux éléments actifs d'une telle plante. [3]

Plus de 45 000 composés sont définis comme métabolites secondaires des plantes. Ces derniers peuvent être répartis dans trois groupes, selon leur structure chimique: Les composés phénoliques environ (8000 molécules définies), les alcaloïdes (12 000 molécules définies) , les terpènes (25 000 molécules définies)... [4]

a- Polyphénols

Les composés phénoliques se caractérisent par la présence d'un noyau aromatique (benzénique) ou plus qui porte un groupement hydroxyle libre ou engagé dans une fonction ester, éther, ou hétéroside. [5]

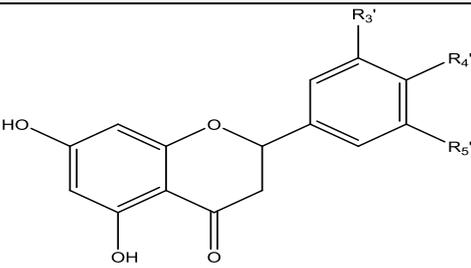
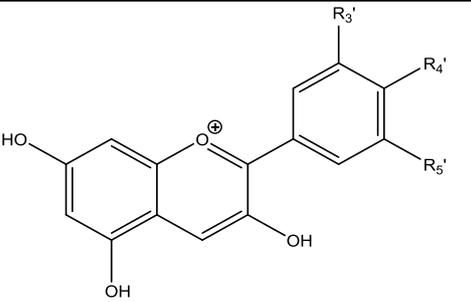
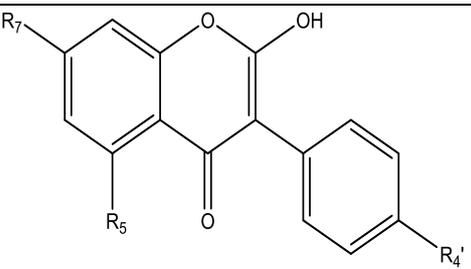
Les composés phénoliques peuvent être regroupés en classes qui se différencient par la complexité du squelette de base allant d'un simple C-6 (acides phénoliques) et par les formes très polymérisées (tanins), et même par le degré de modification de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation, de méthylation ...). Les liaisons possibles des molécules de base avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines, autres métabolites secondaires pouvant être ou non des composés phénoliques) font partie de cette classification. [6]

b- Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des molécules aromatiques poly-substituées. Ils sont caractérisés par un squelette de base à 15 carbones (C6-C3-C6), correspondant à la structure de la 2-phényl-benzopyrone. Ce groupe comprend plusieurs familles qui se différencient par le degré d'oxydation du noyau pyranique central comme les catéchines, les flavones, les flavonols, flavanones, isoflavones et anthocyanes. [7]

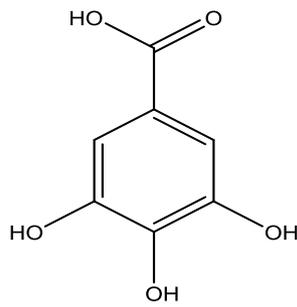
Tableau 1: Principales classes des flavonoïdes. [8]

Classes	Structures chimiques	R3'	R4'	R5'	Exemples
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH3	H	Diosmétine
Flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myrecétine
Flavanols		OH	OH	H	Catéchine

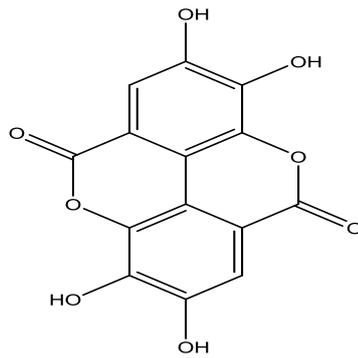
Flavanones		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Anthocyanidines		H	OH	H	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine
Isoflavones		R5	R7	R4'	
		OH	OH	OH	Genisteine
		H	O-Glu	OH	Daidezine

c- Tanins

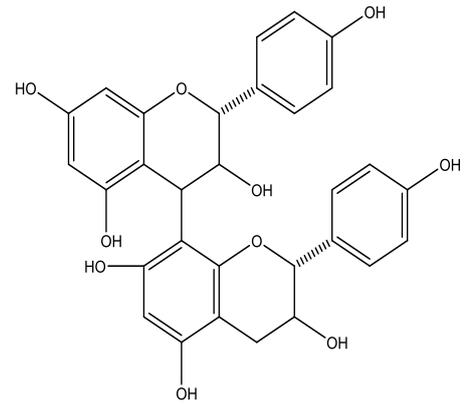
Les tanins parfois (tannins) sont définis comme étant des composés polyphénoliques (polymères), de masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 g/mol, ayant la propriété de tanner la peau. Les tanins solubles dans l'eau, se caractérisent par leur faculté à se combiner aux protéines et d'autre polymères organiques tels que des glucides, des acides nucléiques, des stéroïdes et des alcaloïdes, pour former avec eux des complexes stables. La constitution chimique des tanins est variée ; les plus simples sont construits sur le motif C₆-C₁ (l'acide gallique et son dérivé, l'acide ellagique), [9] [10] [11]



Acide Gallique



Acide ellagique



Tannins condensés

Figure 4: Structures de quelques tanins

d- Terpènes

Les terpènes constituent une famille de composés largement répandus dans le règne végétal. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'une unité isoprénique à 5 atomes de carbone (C_5H_8) (figure 5). La classification des terpénoïdes est basée sur le nombre de répétitions de l'unité de base l'isoprène, on distingue: hémiterpènes (C_5), monoterpènes (C_{10}), sesquiterpènes (C_{15}), diterpène (C_{20}), sesterpènes (C_{25}), triterpènes (C_{30}), tetraterpènes (C_{40}) et polyterpènes. [12]

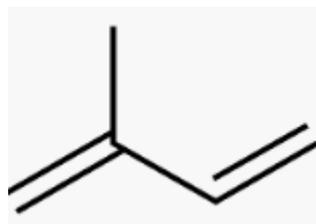


Figure 5: Structure de l'unité terpénique

e- Stéroïdes

Les stéroïdes constituent une importante famille de lipides contenant de nombreuses molécules terpéniques, ils sont caractérisés par la présence d'un motif structural commun, trois noyaux à six atomes de carbones et un noyau à cinq atomes de carbones accolées. [13]

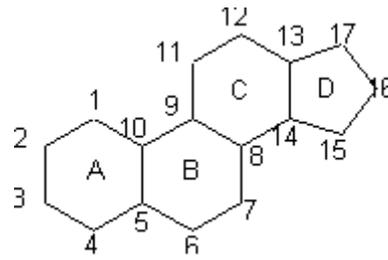


Figure 6 : Structure de base des stéroïdes

f- Saponosides

Les saponosides parfois saponines sont des hétérosides (substances comportant dans leur structure un ou plusieurs molécules de sucre), ils tirent leur nom du latin *sapo* signifiant savon en raison de leur propriété à former des solutions moussantes en présence d'eau. En fonction de la nature de leur génine les saponines pouvant être de type stéroïdique ou triterpénique. [14]

g- Alcaloïdes

Le nom alcaloïde a été donné par un pharmacien allemand Carl Meissner en 1819. La racine de ce mot vient de la langue arabe « *al-qali* » qui signifie une plante marine d'où la soude a été isolée pour la première fois. A cette époque, les alcaloïdes sont définis comme des produits d'origine végétale, basiques, pharmacologiquement actifs). Ils ont comme caractéristique commune de renfermer l'azote, le plus souvent intracyclique. [4] [15]

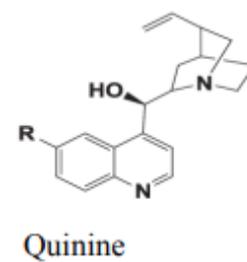
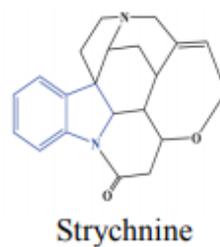
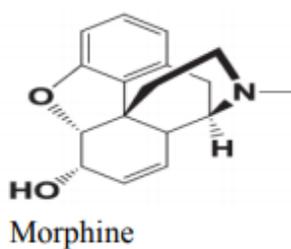


Figure 7: Exemples des dérivés d'alcaloïdes

h- Coumarines

Les coumarines sont des composés phénoliques végétaux, portant un noyau benzopyrone dans leur structure, ils sont des 2H-1-benzopyran-2-ones que l'on peut

considérer, en première approximation, comme étant les lactones des acides 2-hydroxy-Z-cinnamiques. [16]

La structure de base des coumarines est la suivante :

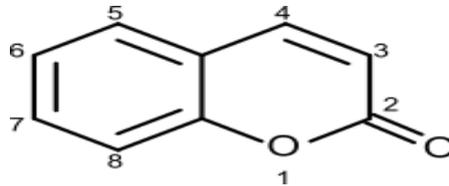


Figure 8 :La structure de base des coumarines

i- Huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des substances volatiles non grasses sécrétées par les plantes aromatiques. Elles sont constituées d'un mélange souvent complexe de molécules organiques. Les huiles essentielles sont ainsi définies en pharmacopées Européennes (2098), comme produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition. [18]

Références

- 1- P. Filliat., 2012, Les plantes de la famille des Apiacées dans les troubles digestifs Thèse de doctorat en pharmacie. Unv. Joseph Fourier (France): 70.
- 2- M. Sebai et M. Boudali, 2012 , La Phytothérapie entre la confiance et méfiance Mémoire professionnel d'infirmier de la sante publique, Institut de formation paramédical, Alger, p 9.
- 3- J.I Garcia-Plazaola et J.M.N. Becerril , A rapid high-performance liquid chromatography method to measure lipophilic antioxydants in stressed plants *Phytochimemicol Analysis* (1999),10 (6) ; pp 307-313.
- 4- A. Aksamija, 2012, Etude chimique des matériaux résineux: oliban, dammar et mastic. Application à des prélèvements artistiques et archéologiques. Thèse de doctorat en chimie, Unv, D'Avignon (France): 23.
- 5- B. Druzynska, A. Stepniewska, R. Wolosiak, 2007, the influence of time and type of solvent on efficiency of the extraction of polyphenols from green tea and antioxidant properties obtained extracts, *Acta Sci, Pol, Technol, Aliment*, 6: 27-36.
- 6- S. Pascale, C. VeroniqueE, 2006, Les polyphénols en agroalimentaire, (Edition TEC &DOC) Lavoisier: 2.
- 7- M. Ducass, 2009, Impact des enzymes de macération sur la composition en polysaccharides et en polyphénols des vins rouges, Etudes de l'évolution de ces composes en solution modèle vin. Thèse de doctorat en biochimie, Unv, Montpellier II (France): 37.
- 8- K. Narayana, M. Reddy, M.Chaluvadi, D.Krishna, 2001, Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therpeutic potential. *Indian journal of pharmacology*, 33: 2-16.
- 9- S. Sweeney, B. Palmer, D. Neill, D. Krause, 2001, Microbial interaction with tannins: nutritional consequences for ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 91: 83-93.
- 10- D. Robert, J. Roland, 1998, Organisation cellulaire ,Vol, I: 276p.
- 11- I. Tarascou, 2005, Synthèse et caractérisation de procyanidines oligomères pour l'identification de tannins du raisin et du vin. Thèse de doctorat en chimie organique ,Unv, Bordeaux (France): 21.

- 12- A. Lamarti, A. Badoc, J. Deffieux, J. Carde, 1994, Biogenèse des monoterpènes
Journal de pharmacologie, 13: 69-118.
- 13- H. Reginald, C. Garrett, M. Grisham, 2000, Biochimie, Tec et Doc, Paris: 238.
- 14- J. Bruneton , 1999, Pharmacognosie, Phytochimie des plantes médicinales, 2ème
Edition, Technique et documentation Lavoisier, Paris: 915 p.
- 15- M. Muniz, 2006, Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs, Thèses de doctorat en
chimie, Unv, Joseph Fourier Grenoble: 25.
- 16- S.P. Felter, J.D. Vassallo, B.D. Carlton, G.P. Daston, « A safety assessment of
coumarin taking into account species-specificity of toxicokinetics », Food and
Chemical Toxicology, vol, 44, 2006, p. 462-475
- 17- W. Nouioua, 2011, Biodiversité et ressources phylogénétiques n'un écosystème
forestier «paeonia mascula (L.)Mill. »,Mémoire de magister en biodiversité et gestion
des écosystèmes, Unv, Frehat Abbas –Sétif : 22.
- 18- H. Lehmann ,2013, Le médicament à base de plantes en Europe (Statut,
Enregistrement, contrôle, Thèse pour l'obtention du grade de docteur de Strasbourg,
Vol ,I,P: 53

III- Méthodes d'extraction et de séparation

III.1- Introduction

Il s'agit d'étudier les techniques permettant d'extraire des corps naturels tels que les huiles essentielles et les fractions aqueuses ou organiques contenant des mélanges à extraire.

III.2- Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Il existe plusieurs méthodes d'extraction des huiles essentielles, mais les plus utilisées sont l'hydrodistillation et l'entraînement à la vapeur d'eau de la plante fraîche ou sèche. Nous nous sommes intéressés plus particulièrement au procédé d'hydrodistillation puisque c'est un unique équipement que nous possédons au sein de notre laboratoire et qui est le plus adapté aux travaux que nous avons envisagés. Le procédé d'hydrodistillation est illustré dans la figure 9. [1]

III.2.1- Extraction par hydrodistillation

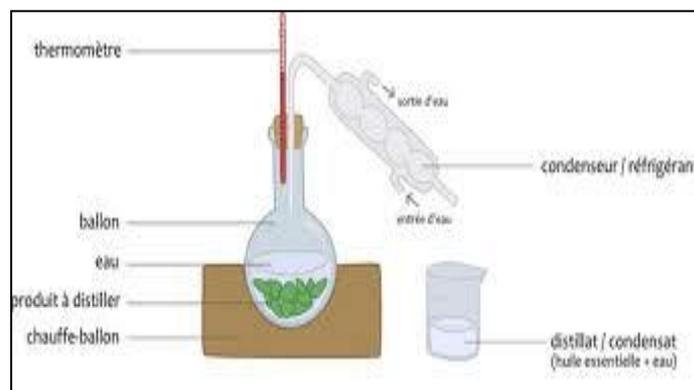


Figure 9: Montage d'une unité d'extraction par hydrodistillation

Le principe de l'hydrodistillation correspond à une distillation hétérogène. Le procédé consiste à immerger la matière première végétale dans un ballon d'eau. L'ensemble est ensuite porté à ébullition généralement à pression atmosphérique par un chauffe ballon.

La température d'ébullition d'un mélange est atteinte lorsque la somme des tensions de vapeur de chacun des constituants est égale à la pression d'évaporation. Elle est donc inférieure à chacun des points d'ébullition des substances pures. Ainsi le mélange « eau + huile essentielle » distillé à une température inférieure à 100°C à pression atmosphérique. Par contre, les températures d'ébullition des composés aromatiques sont pour la plupart très élevés.

La durée d'une hydrodistillation peut considérablement varier, pouvant atteindre plusieurs heures (généralement entre 3 et 5 heures) selon le matériel utilisé et la matière végétale à traiter. La durée de la distillation influe non seulement sur le rendement mais également sur la composition de l'extrait.

L'hydrodistillation possède des limites. En effet, un chauffage prolongé et trop puissant engendre une détérioration de certains végétaux et la dégradation de certaines molécules aromatiques. [2]

III.2.1.1- Relargage

Si les huiles essentielles que l'on désire extraire sont des composés organiques en partie solubles dans l'eau ou lourdes, on utilise souvent le relargage qui consiste à les rendre moins solubles dans l'eau en ajoutant du chlorure de sodium. De cette façon il sera plus aisé de récupérer ces huiles essentielles. [3]

III.2.2- Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

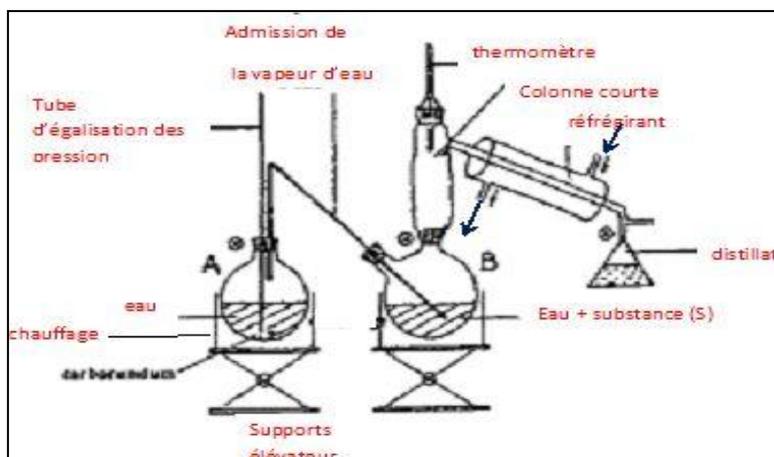


Figure 10: Montage d'une unité d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau

L'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles des plantes aromatiques. A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. La vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange "eau + huile essentielle". Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique (l'huile essentielle).

L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile.

Les étapes de l'extraction des huiles essentielles d'origines végétales restent identiques quel que soit le type d'extraction utilisé. Il est nécessaire dans un premier temps d'extraire de la matière végétale afin d'obtenir une huile essentielle, puis dans un second temps de séparer cette huile formée du milieu par distillation. Rappelant que la phase aqueuse est totalement non miscible avec la phase des huiles essentielles. [4]

III.2.3- Autres méthodes d'extraction

D'autres méthodes d'extraction sont utilisées pour des spéciaux tel que l'extraction aux solvants volatils qui consiste à dissoudre le composé recherché dans un solvant non miscible avec l'eau et à séparer la phase organique contenant le composé à extraire de la phase aqueuse. [5] L'extraction au CO₂ supercritique est une autre méthode de séparation des huiles essentielles dont l'originalité de cette technique repose sur le solvant utilisé; il s'agit du CO₂ en phase supercritique. À cet état, le CO₂ n'est ni liquide, ni gazeux, et cela lui confère un excellent pouvoir d'extraction des huiles essentielles.[6]

Nous pouvons regrouper les différentes méthodes d'extraction des huiles essentielles, citées ou non-citées dans le schéma suivant. [7]

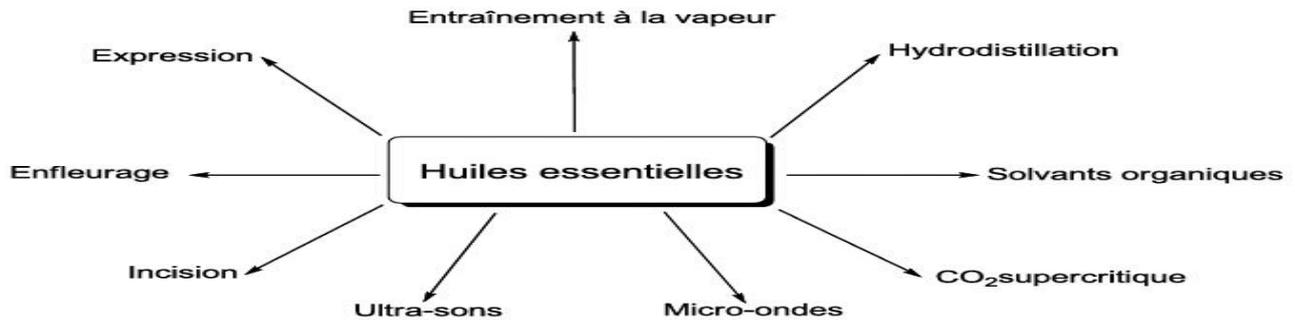


Figure 11: Modes d'extraction des huiles essentielles

III.3- Méthodes d'extraction solide – liquide

Le principe de ces préparations est d'extraire les principes actifs contenus dans certaines plantes pouvant avoir un rôle bénéfique sur d'autres. Les décoctions et infusions sont des préparations rapides qui s'utilisent immédiatement et ne se conservent pas (contrairement au purin).

III.3.1- Infusion

On plonge la plante dans l'eau froide. On fait bouillir puis l'on arrête le feu immédiatement pour laisser infuser et refroidir avec le couvercle.

III.3.2- Décoction

On laisse tremper les feuilles de la plante dans de l'eau fraîche durant une journée. On fait bouillir 30 minutes avec le couvercle puis on laisse refroidir avec le couvercle.

III.3.3- Macération

On laisse la plante hachée macérer deux jours dans l'eau froide...

III.3.4- Purin ou l'extraction fermentée

On fait macérer la plante dans de l'eau froide et on laisse fermenter entre quelques jours à quelques mois. C'est la fermentation qui libère les produits de la plante.

III.4- Méthodes d'extraction liquide – liquide

L'extraction liquide-liquide est l'une des techniques de préparation d'échantillons les plus anciennes. C'est une opération fondamentale de transfert de matière entre deux phases liquides non miscibles, sans transfert de chaleur. Cette technique permet d'extraire ou de répartir une substance dissoute dans un solvant, à l'aide d'un autre solvant, appelé solvant d'extraction, dans lequel elle est plus soluble. Le solvant initial et le solvant d'extraction ne doivent pas être miscibles. L'extraction liquide-liquide est réalisée par le contact intime du solvant avec la solution dans des ampoules à décanner, des colonnes et/ou des mélangeurs. La séparation des phases s'obtient par décantation gravimétrique ou centrifuge.

L'extraction liquide-liquide est la succession de plusieurs étapes. La première étape est la mise en contact des deux phases. Pour augmenter la surface d'échange, la phase à extraire et la phase d'extraction sont mélangées. La seconde étape consiste à obtenir l'équilibre du système (saturation de la phase d'extraction) qui est régi par les lois de la diffusion et de la solubilité (coefficient de partage). La dernière étape est la séparation des phases (décantation).

III.4.1- Types d'extraction liquide-liquide

Il existe deux types d'extraction liquide-liquide:

A) Extraction liquide-liquide discontinue :

Elle est réalisée grâce à des ampoules à décanner. Il existe plusieurs modèles d'ampoules à décanner (Fig. 14). Celles ayant la tubulure au-dessus du robinet sont les plus utilisées, car elles permettent de mieux visualiser l'interface et donc de mieux séparer les deux phases.



Figure 12: Différents types d'ampoule à décanner

B) Extraction liquide-liquide continue

Lorsque le produit à isoler est relativement soluble dans la phase à extraire, l'extraction discontinue peut se révéler insuffisante. On peut alors utiliser une méthode d'extraction en continu. Le solvant est recyclé et passe continuellement à travers la solution à extraire. [8]

Références

- 1- A. Koedam, The influence of some distillation conditions on essential oil composition in aromatics plants : basic and applied aspects, M. N. Publishers. Nerlands, 1982, pp 229-236.
- 2- F. Shahidi and al, Critic Reviews in Food Science and Nutrition, (1992), p 32,67.
- 3- N. Constans, B. Geysler, et F. Graner, La Recherche no 399, juillet-août (2006), p: 103.
- 4- F. Bakkali, S. Averbeck, D Averbeck, M.I. Donar, Biologico effects of essential oils, Food Chemical toxicology, vol, 46 (2008), pp 446-475.
- 5- A. Assarson, G. Akerlund,1966, Studies on wood resin, especially the change in chemical composition during seasoning of the wood, Part 4, The Comparison of the Petroleum Ether Soluble Nonvolatile Extractives from Fresh Spruce, Pine, Birch and Aspen Wood, Svensk Papperstidn, 16:517-525.
- 6- Martine Poux, Patrick Cognet, Christophe Gourdon, Génie des procédés durables, Du concept à la concrétisation industrielle, Collection: Technique et Ingénierie, Dunod/L'Usine Nouvelle, 2010.
- 7- Luque de Castro, M.D. Jiménez-Carmona, M.M. et Feràndez-Pérez, V.Trends Anal, Chem,1999,18,708.
- 8- H. Benabdallah Polycopié du Cours: Techniques d'extraction, de purification et de conservation Master I: Analyses biochimique

IV- Activités des principes actifs

IV.1- Introduction

Parmi les activités biologiques des plantes médicinales, ces dernières années l'attention s'est portée sur l'activité antioxydante en raison du rôle qu'elle joue dans la prévention des maladies chroniques telles que les pathologies du cœur, le cancer, le diabète, l'hypertension, et la maladie d'Alzheimer en combattant le stress oxydant. [1] [2] Certaines études ont aussi montré que les antioxydants peuvent retarder la progression de la maladie d'Alzheimer qui est fréquemment observée chez les personnes âgées. [3] Beaucoup de plantes ont été utilisées pour leurs effets antibactériens en médecine traditionnelle dans le monde entier depuis longtemps. Ces dernières années les études ont été effectuées sur les plantes médicinales pour trouver des agents antibactériens en raison de la construction de la résistance des micro-organismes pathogènes contre les antibiotiques. [4]

IV.2- Radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique possédant un électron célibataire, par exemple:

- La molécule de l'oxygène O_2 possède deux électrons célibataires: $O \cdot - \cdot O$
- L'oxyde d'azote NO , un radical peut réactif ne possédant qu'un seul électron sur ses orbitales.

Dans ces deux exemples, le radical libre est synthétisé à partir des deux atomes formant la molécule de départ par rupture homogène Les radicaux libres interviennent dans les phénomènes du stress oxydant, par la présence d'un électron célibataire sur un atome d'oxygène ou d'azote, ceci leur confère la dénomination d'espèces réactives.

IV.3- Activité antioxydante

L'utilisation des molécules antioxydantes de synthèse est actuellement remise en cause à raison des risques toxicologiques potentiels. Désormais, de nouvelles sources végétales d'antioxydants naturels sont recherchées. [5] [6] En effet, les polyphénols sont des composés naturels largement répandus dans le règne végétal qui ont une importance croissante notamment grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé. [7] Leur rôle d'antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies

inflammatoires et cardiovasculaires. [8] ils sont également utilisés comme additifs en industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique. [5]

IV.3.1- Antioxydants

Un antioxydant est une molécule capable d'empêcher l'oxydation d'autres molécules. Selon Halliwell est toute substance qui, en faible concentration par rapport au substrat susceptible d'être oxydé, prévient ou ralentit l'oxydation de ce substrat. [9] [10]

IV.3.2- Antioxydants naturels

Certains aliments sont particulièrement riches en composés qui possèdent des activités antioxydantes tel que les vitamines, les flavonoïdes et les acides phénoliques.

IV.3.3- Antioxydants de synthèse

Les antioxydants de synthèse les plus connus sont les composés phénoliques tels que : Hydroxyanisole butylé (BHA), Hydroxytoluène butylé (BHT), tert-butylhydroquinone (THBQ) et Gallate de propyle (GP). Les antioxydants synthétiques sont toujours substitués par un alkyle pour améliorer leurs solubilité dans les graisses et les huiles. [11]

IV.3.4- Méthodes les plus fréquemment utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante

Il existe plusieurs méthodes qui ont été mises au point pour l'estimation in vitro du pouvoir antioxydant d'un échantillon.

IV.3.4.1- Méthode du DPPH

Les principales méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant d'un produit ont été rassemblées selon leurs principes. Le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH[•]) est un radical stable et coloré, qui est centré sur l'azote, de couleur violette en solution. [12] Ce radical est réduit en présence d'une substance réductrice pour donner la couleur jaune du diphényl-picrylhydrazine. [13] Le maximum de son absorption dans le visible se situe vers 515-517 nm dans le méthanol et l'éthanol. La réduction du radical par un donneur d'atome H (AH) conduit à la 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine incolore (DPPH-H) et au radical (A[•])

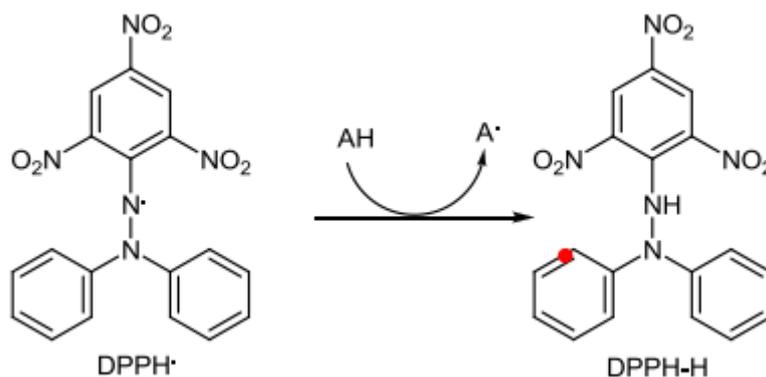


Figure 13 : Piégeage du radical DPPH[•] avec l'antioxydant (AH)

IV.3.4.2- Piégeage de l'ABTS^{•+}

La méthode ABTS est la plus utilisée pour déterminer la concentration des radicaux libres, elle est déterminée selon la méthode de R. Re et al. [14] Cette activité d'une molécule est déduite de sa capacité à inhiber le radical ABTS^{•+}, obtenu à partir de l'ABTS [sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azino-bis-(3-éthylbenzothiazoline-6- sulfonique)]. La génération du cation radical ABTS^{•+} est la base de l'une des méthodes spectrophotométrique qui ont été appliquées pour mesurer l'activité antioxydante totale des substances pures, aqueuse ou des mélanges. [15]

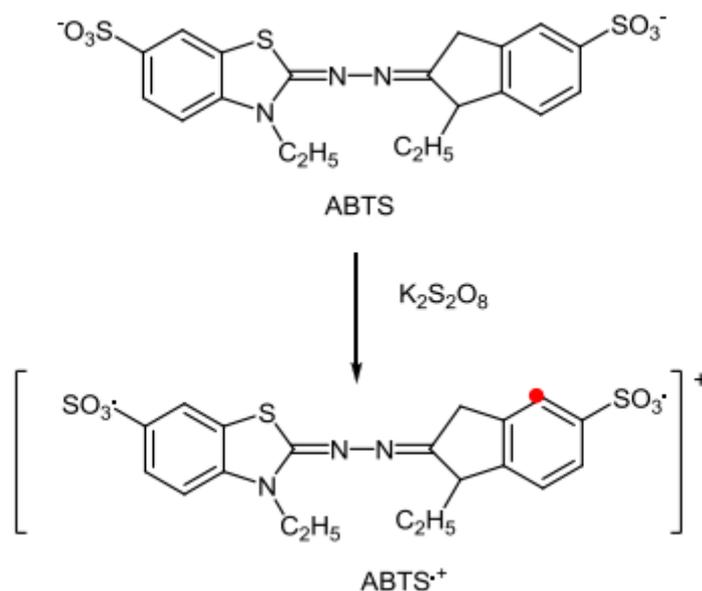


Figure 14: Oxydation de l'ABTS avec K₂S₂O₈ et sa génération

IV.3.4.3- Dosage des polyphénols

Les flavonoïdes sont présents presque partout dans les plantes et ils peuvent être reconnus comme pigments responsables de la couleur des feuilles. [16] Les phénols totaux sont des métabolites secondaires synthétisés par les plantes pendant leur développement. [17] [18] mais aussi comme réponse aux conditions de stress tels que infections, blessures, radiation UV. [19] [20] Les phénols possèdent un large spectre d'activités biochimiques comme des effets antioxydants, des effets antimutagéniques et des effets anticancérigènes. [21] [22] La détermination de la teneur en phénols totaux des extraits bruts des plante *S. guyoniana* et *M. aquatica* a été faite en utilisant la méthode colorimétrique (Folin-Ciocalteux).

IV.4- Activités Antibactériennes

Les antibiotiques sont des produits élaborés par des micro-organismes, mais on inclut généralement parmi eux les dérivés semi-synthétiques et les produits entièrement synthétiques. La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques qui inhibent sélectivement certaines voies métaboliques des bactéries, sans exercer habituellement d'effets toxiques pour les organismes supérieurs. Les polyphénols notamment les flavonoïdes et les tannins sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes. Plusieurs études in vitro et in vivo ont été focalisées sur l'évaluation des propriétés antimicrobienne des polyphénols. Les études du pouvoir inhibiteur des flavonoïdes sur la croissance bactérienne ont démontré que de nombreux composés flavoniques (apigénine, kaempferol et d'autres) sont doués d'un effet important sur différentes souches bactériennes à Gram négatif (*Escherichia coli*) et Gram positif (*Staphylococcus aureus*). [23]

IV.4.1- Technique de diffusion en milieu gélosé (antibiogramme)

L'évaluation de l'activité antibactérienne [24] [25] a été déterminée par la technique de diffusion sur gélose (Mueller-Hinton). L'activité antibactérienne est évaluée par la mesure de la zone de clarification en millimètres tout autour des disques et des puits.

IV.4.2- Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Le paramètre le plus souvent utilisé pour évaluer l'effet d'un antibiotique est la CMI. Elle correspond à la concentration minimale d'antibiotique qui inhibe la croissance visible du germe en 24 heures. Le but le plus souvent recherché est l'inhibition de la prolifération

bactérienne, dans la mesure où l'organisme est capable de se défendre contre les bactéries. La détermination des CMI des extraits de plantes, vis-à-vis des souches bactériennes, est réalisée selon la méthode standardisée de macro-dilution NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standard) en milieu solide.

Références

- 1- G.M. Cole, G.P. Lim, F. Yang, B. Teter, A. Begum, Q. Ma, M.C. Harris-White ,A. Frautschy, 2005. Prevention of Alzheimer's disease: omega-3 fatty acid and phenolic antioxidant interventions, *Neurobiol, Aging*, 26, 133 –136.
- 2- E. Riboli, T. Norat, 2003, Epidemiologic evidence of the protective effect of fruit and vegetables, on cancer risk, *Am. J. Clin. Nutr*, 78, 559 –569.
- 3- M.J.R. Howes , N.S.L. Perry, P.J. Houghton ,2003, Plants with traditional uses and activities relevant to the management of Alzheimer's disease and other cognitive disorders, *Phytother, Res*, 17, 1-18.
- 4- F. Kalyoncu, B. Cetin, H. Saglam, 2006, Antimicrobial activity of common madder (*Rubia tinctorum L.*), *Phytother, Res*, 20, 490-492.
- 5- M. Suhaj, Spice antioxidants isolation and their antiradical activity: a review. *J. Food Compos, and Analys*, (2006), 19, 531–537.
- 6- M.B. Tadhani, V.H. Patel, et R. Subhash, In vitro antioxidant activities of *Stevia rebaudiana* leaves and callus. *J. Food Compos. and Analys*, (2007), 20, 323-329.
- 7- C. Koechlin-Ramonatxo, Oxygen oxidative stress and antioxidant supplementation, or another way of nutrition in respiratory diseases. *Nutr. Clin. et Métab*, (2006), 20, 165-177.
- 8- D.I. Vârban, M. Duda, R. Vârban, et S. Muntean, Research Concerning the Organic Technology for *Satureja Hortensis L.* Culture. *Bulletin UASVM Agriculture*, (2009), 66, (2) 225- 229.
- 9- B. Halliwell, J.M.C. Gutteridge, 1989, *Free radicals in biology and medicine*, 2nd edn. Clarendon Press, Oxford.
- 10- B. Halliwell, 1995, Antioxidant characterization, methodology and mechanism. *Biochem, Pharmacol*, 49, 1341–1348.
- 11- J.F. Hudson, 1990, *Food antioxidants*, Elsevier Applied Science, London.
- 12- İ. Gülçin, 2012, Antioxydant activity of food constituents : an overview, *Arch. Toxicol*, 86, 345-391.
- 13- M.S. Blois, Antioxidant determinations by the use of stable free radical, *Nature*, (1958) , 181, 1199-1200

- 14- R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, C. Rice- Evans
Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay.
Free Radical Biology and Medicine, (1999), 26, 1231-1237.
- 15- İ. Gülçin, R. Elias, A. Gepdiremen, K. Taoubi, E. Köksal, 2009, Antioxidant
secoiridoids from fringe tree (*Chionanthus virginicus*L.), Wood Sci. Technol, 43, 195–
212.
- 16- S. Swarnlata, S.A. Mahendra, S. Shailedra, 2007, Flavanoids : A Nutrition Protection
agaist oxidative and UV induced cellular damages, Pharmacogn, Rev, 1, 30-40.
- 17- J.B. Harborne, 1982, Introduction to Ecological Biochemistry, 2nd edition, Academic
Press, New York.
- 18- J.B. Pridham, 1960, Phenolics in Plants in Health and Disease, Pergamon Press, New
York. R.L. Prior, X.L. Wu, K. Schaich, 2005. Standardized methods for
thedetermination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary
supplements .J. Agric, Food Chem, 53, 4290–4302.
- 19- C.H. Beckman, 2000, Phenolic-storing cells : keys to programmed cell death and
periderm formation in wilt disease resistance and in general defence responses in
plants, Physiol, Mol, Plant Pathol, 57, 101-110.
- 20- R.L. Nicholson, 1992, R. Hammerschmidt, Phenolic compounds and their role in
disease resistance, Annu, Rev, Phytopathol, 30, 369-389.
- 21- Y. Nakamura, S. Watanabe, N. Miyake, H. Kohno, T. Osawa, 2003,
Dihydrochalcones: evaluation as novel radical scavenging antioxidants. J. Agric. Food
Chem., 51, 3309-3312.
- 22- H. Tapiero, K. D. Tew, Ba G. Nguyen, G. Mathé, 2002, Polyphenols: Do They Play a
Role in the Prevention of Human Pathologies, Biomed, Pharmacother, 56, 200–207.
- 23- K. Ulanowska, A. Majchrzyk, M. Moskot, J. Jak bkiewicz-Banecka, G.W Âgrzyn,
2007, Assessment of antibacterial effects of flavonoids by estimation of generation
times in liquid bacterial cultures, Biologia, 62,132-135.
- 24- K.D. Bauer, H. Garbe, H. Surburg, 1997, Common fragrance and flavor materials,
Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag.
- 25- [NCCLS] National Committee for Clinical Laboratory Standards, M100-S13(M2).
Disk Diffusion Supplemental Tables, Wayne, PA: NCCLS; 2003.

CHAPITRE II

PARTIE

EXPERIMENTALE

1- Coordonnées géographiques de la zone de récolte (Amentane – Batna)

Amentane (en arabe : أمنطان) est un village algérien et une oasis de la commune de Tigherghar, dans la wilaya de Batna. La localisation Amentane est situé à douze kilomètres au sud de la commune de Menaâ, traversé par l'oued abdi dans une zone rocheuse ce qui donne chance à la présence de la plante, latitude 35.12, longitude 5.94 et d'altitude de 700 m.

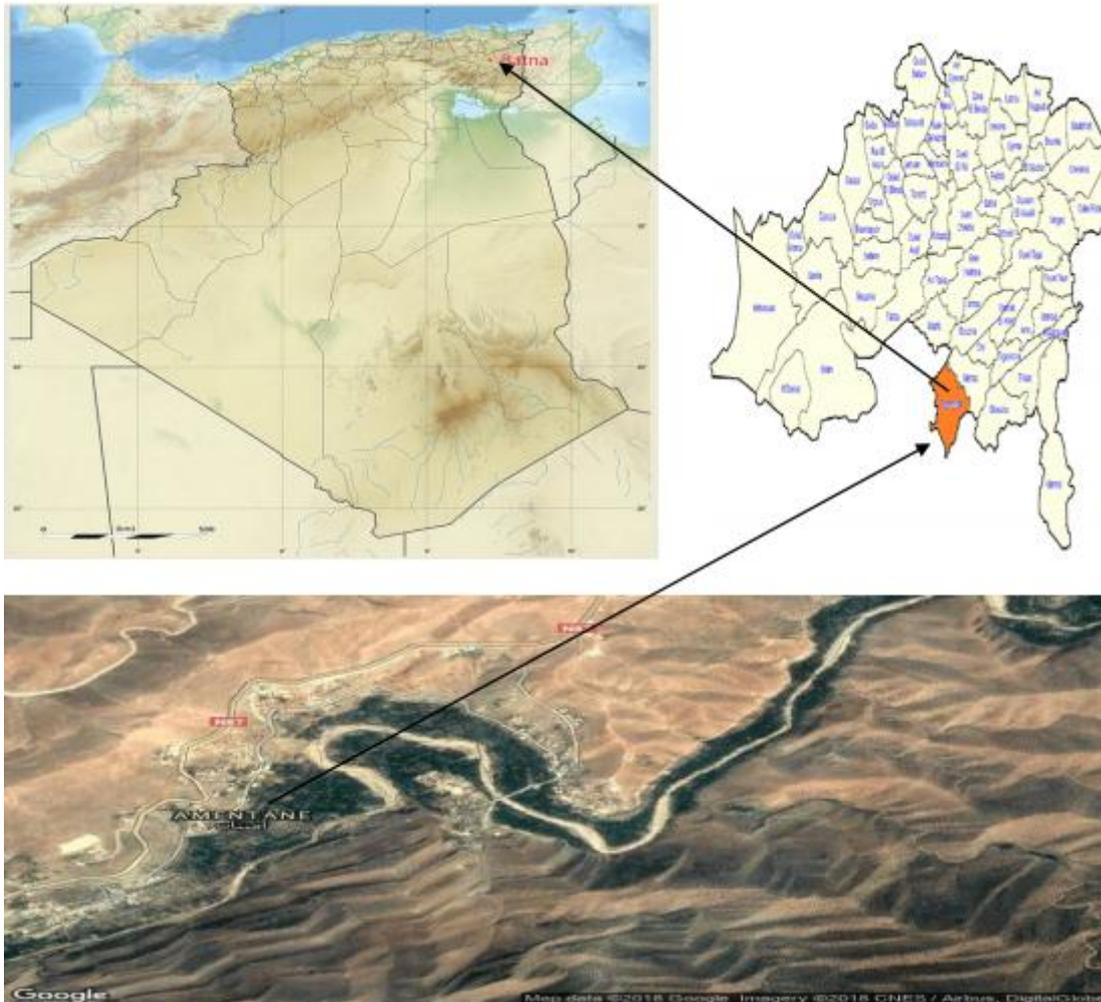


Figure15: Localisation de la zone de la cueillette

2- Taxonomie

Rhus était déjà, chez les Romains. Certain pense que le mot Sumac vient, soit de l'arabe soummaq, soit de russe sumachi (ou Schemacha)..

L'espèce *Rhus tripartitum* a plusieurs noms selon les régions. le synonyme de *Rhus* est *Oxyacantha schousb*, et le nom vernaculaire chez les arabes est Ellouk , chez les français est Ebène , et chez les anglais est sumac. Dans la région de notre cueillette, la plante est en langue tamazight *Thainekht* (celle qui tue).

D'après Quezel et Santa (1962), l'espèce *Rhus tripartitum* est classée comme suit :

Règne: Végétale

Sous règne: plantes vasculaire

Embranchement: Spermaphytes

Sous- embranchement: Angiospermes

Classe: Dicotylédones

Sous classe : Rosida

Ordre: Sapindales

Famille: Anacardiaceae

Genre: *Rhus*

Espèce: *Rhus tripartitum*



Figure16: *Rhus tripartitum*

3- Récolte

La récolte de la plante est effectuée dans la région citée ci-dessous, au mois de décembre 2018. La plante a été entreposée, séchée dans un endroit sombre et aéré pendant 15 jours. Elle soumise ensuite aux différentes opérations d'extraction.

4- Etude antérieures sur l'espèce *Rhus tripartitum*

Plusieurs études ont été effectuées sur l'espèce *Rhus tripartitum*, notamment dans la zone Magrébine. Nous citons quelques-unes

A. BOUNAB et I. BRI, Etude morphologique et anatomique de la plante (*Rhus tripartitum* L.) de la région de M'sila, Université de M'sila, 2017.

S. Ben Mahmoud, Characterization of sumac (*Rhus tripartitum*) root barks tannin for a potential use in wood adhesives formulation, Wood Science and Technology, January 2015, Volume 49, Issue 1, pp 205–221.

A. YOBI et al ..., Etude comparative de la croissance du système racinaire chez deux arbustes autochtones de la Tunisie méridionale : *Rhus tripartitum* (Ucria) Grande et *Periploca angustifolia* Labill. Implications pour l'élevage des plants en pépinière Volume 12, numéro 4, Décembre 2001.

S. AMMAR et al., Isolement pour la première fois et études structurales d'acides gras, de l'acide shikimique et d'un hétéroside flavonique à partir de la plante *Rhus tripartitum*, Journal de la Société Chimique de Tunisie, 2004, 6, 9-16

R. ZOUAOUI et al. , Morphological responses of *Rhus tripartitum* (Ucria) Grande under water stress, Journal of new science, November, 01, 2017

N. Tlili et al., Phytochemicals and antioxydant activities of *Rhus tripartitum* (Ucria) fruits depending on locality and different stages of maturity, Food Chemistry, Volume 160, oct 1, (2014)

ر. صيفي، دراسة و تقييم الخصائص العلاجية لنبته سماق اللك (*Rhus tripartitum*)، جامعة تبسة 2018

5- Criblage des métabolites secondaires

Le criblage des métabolites secondaires est un test qualificatif qui permet de mettre en évidence les principes actifs de la plante, tel que : les alcaloïdes, les saponines, les polyphénols, les flavonoïdes, les quinones...

5.1- Tests de présence des tanins

La solution à analyser est un infusé de 5 g de la matière végétale dans 50 ml d'eau distillée bouillante.

Tanins catéchiques [1]

Dans un tube à essai contenant 2 ml de l'infusé, on a ajouté quelques gouttes de FeCl₃ à 1%, l'apparition d'une couleur noire claire ou la formation d'un précipité de même couleur indique la présence des tanins catéchiques.

Tanins galliques [2]

2ml de l'infusé de départ sont prélevés et mis dans un tube à essai, saturé en acétate de sodium puis on ajoute quelques gouttes de chlorure ferrique à (1%).

La formation d'un précipité ou de solution marron indique la présence des tanins galliques.

5.2- Test de présence des quinones

1g de la plante sèche est broyée et placée dans un tube avec 20 ml d'éther de pétrole après agitation et un repos de 20 heures, les extraits sont filtrés. La présence de quinones libres est confirmée par l'ajout de quelques gouttes de NaOH (0.1M) à la phase aqueuse et son virement au noir. [3]

5.3- Test de présence des alcaloïdes

Ce test est fondé sur la capacité que les alcaloïdes à se combiner avec les métaux lourds. Plusieurs tests de présence sont pratiqués, quant à nous, nous avons examiné la présence des alcaloïdes par le test de Mayer qui consiste à rajouter quelques ml d'HCl 50% à l'extrait méthanolique. La formation d'un précipité jaune, après l'ajout de quelques gouttes du réactif de Mayer, témoigne de la présence d'alcaloïdes. [4]

5.4- Test de présence des saponines

Leur présence est déterminée quantitativement par le test de la mousse, dans des conditions déterminées, l'extrait repris dans 5 ml d'eau distillée, puis introduit dans un tube à essai est agité vigoureusement; la formation d'une mousse stable persistant pendant un bon moment, indique la présence des saponines. [5]

5.5- Test de présence des flavonoïdes

5 g de notre plante sont infusés dans 50 ml d'eau distillée pendant 15 min. Après filtration on introduit 2 ml du filtrat dans 3 tubes, on ajoute 1 ml de NaOH (0.1M) dans le premier tube, 1 ml d'eau distillé dans le deuxième tube et 1ml d'HCl concentré et quelques copeaux de magnésium dans le troisième tube, on laisse agir 5 minutes.

La couleur rouge au rouge violacé du premier tube est un témoin de la présence des flavonoïdes. [6]

5.6- Test de présence des coumarines

1 g de la poudre de notre plante est macérée pendant 24 heures dans 20 ml de l'éther diéthylique, 5 ml de cet extrait obtenu sont évaporés à l'air libre, puis repris avec 2 ml d'eau chaude. La solution est subdivisée en 2 tubes à essai. La présence des coumarines est manifestée après ajout dans l'un des tubes de l'ammoniaque à (25%), et observation de la fluorescence sous UV à 365 nm, chose qui n'est pas vérifiée dans notre cas. [7]

5.7- Test de présence des stérols et des terpènes

5 g de plante mise en poudre a été mis dans 20 ml de chloroforme, après la macération suivie par filtration, on ajoute au filtrat obtenu 1 ml d'acide sulfurique concentré (H₂SO₄) avec précaution sur les parois du tube. Le point de rencontre entre les deux phases a donné une couleur verte témoin de présence des stérols insaturés et des terpènes. [8] [9]

Le tableau ci-dessous regroupe l'ensemble des tests de présence des principes actifs vérifiés.

Tableau 2: Résultats des tests de présence des principes actifs

Test	Résultat
Tanins	+
Quinones	+
Alcaloïdes	+
Saponines	+
Flavonoïdes	+
Coumarines	-
Stérols et terpènes	+

6- Hydrodistillation

L'hydrodistillation consiste à immerger la matière première dans un bain d'eau. L'ensemble est porté à ébullition et l'opération est généralement conduite à pression atmosphérique. Les composés volatils et semi-volatils sont entraînés par la vapeur d'eau, et ensuite condensés. Le schéma suivant représente le dispositif d'hydrodistillation utilisé au niveau de notre laboratoire.

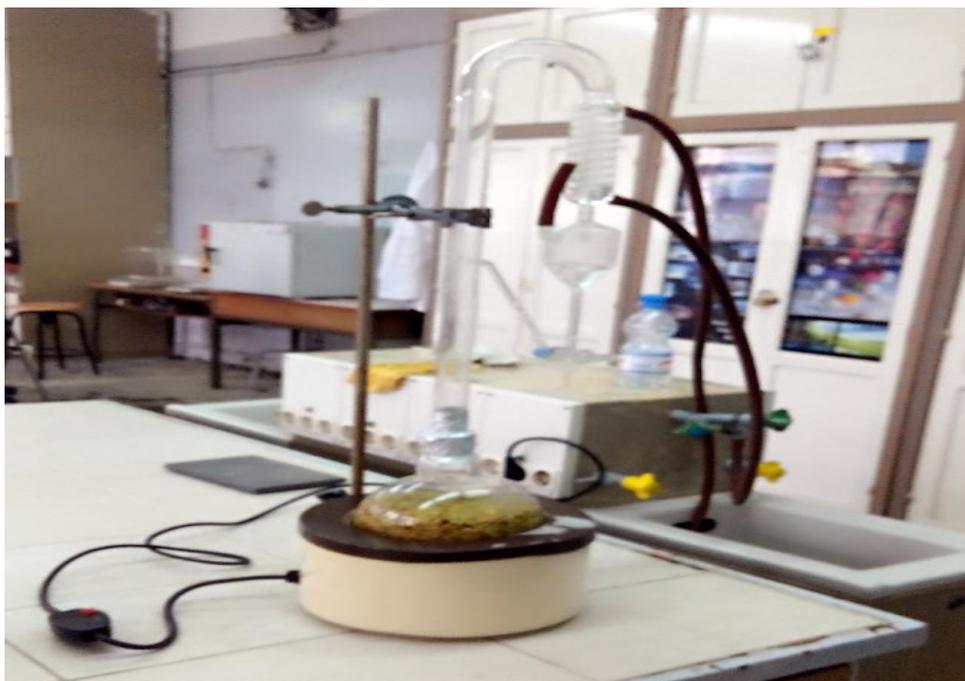


Figure17: Dispositif d'hydrodistillation utilisé

340 g de matière végétale (grain) ont été introduits dans un ballon de 2 L contenant 1150 ml d'eau distillée. L'ensemble est porté à ébullition pendant 4 heures. Au deuxième essai, nous avons émergé 183 g de plante (grain) dans 1000 ml d'eau distillée.

Le même principe a été appliqué pour les feuilles en émergeant 71 g dans 1000 ml d'eau distillée et 200 g de tiges (petits morceaux) dans 1000 ml d'eau distillée.

Après chaque 4 heures d'ébullition, nous avons rajouté 2 cuillères à soupe de sel (relargage), nous avons repris l'hydrodistillation pendant 4 heures supplémentaires.

L'hydrodistillation des trois parties par les deux méthodes n'a abouti à aucun résultat significatif et quantifiable, signe de l'absence quasi-totale des huiles essentielles dans la récolte saisonnière de cette plante.

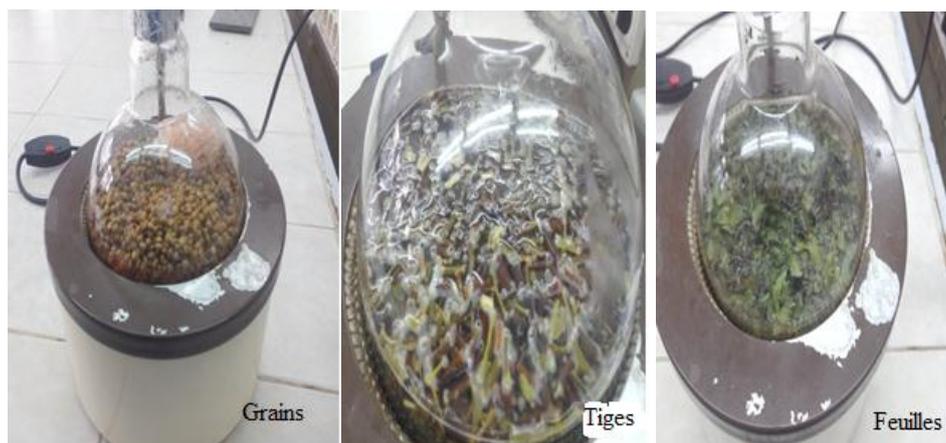


Figure 18: Grains (fruit), feuilles et tiges de la plante émergés dans l'eau

7- Macération

Notre choix pour la macération est orienté vers les tiges de la plante vu que le fruit et les feuilles ont été macérés antérieurement. Les tiges ont été coupées en petites morceaux. Une pesée de 313,316 g est macéré dans un mélange de méthanol/eau (70/30) jusqu'à la couverture totale de la plante et cela pendant 24 heures à température ambiante. Après la filtration, le solide récupéré est soumis à deux autres macérations pendant 48 heures. Par suite nous avons regroupé les trois parties obtenues.

Après l'évaporation sous vide du solvant à 67°C, nous avons rajouté 400 ml d'eau distillée chaude au résidu obtenu. Par filtration répétée, nous avons éliminé quasi-totalement la chlorophylle. Ces opérations sont illustrées dans les figures ci-dessous.



Figure19: Macération

Figure20: Filtration

Figure21: Evaporation

7.1- Extraction liquide-liquide

Le procédé suivi dans cette partie est une séparation successive (par étape) :

Nous avons ajouté 150 ml du dichlorométhane à la solution concentrée obtenue par évaporation sous vide. Le mélange est ensuite bien agité et dégazé, nous avons remarqué une migration de certains principes actifs vu la coloration faible du dichlorométhane. La séparation par décantation est faite après 24 heures (figure 22). Ainsi nous avons obtenu deux phases aqueuse et organique. Cette dernière a été concentrée à 37°C pour obtenir l'extrait du DCM (figure 23).

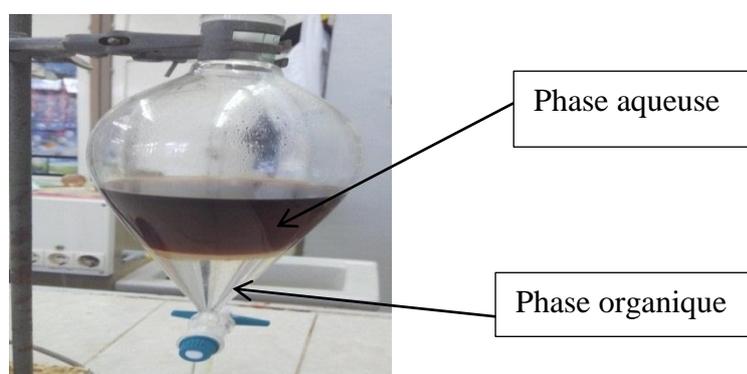


Figure 22: Séparation par DCM

Figure 23: Extrait de DCM

La phase aqueuse est soumise par suite à une séparation 150 ml d'acétate d'éthyle. L'évaporation sous vide de la phase organique est faite, cette fois-ci, à 50°C. Les deux opérations (séparation et évaporation) sont illustrées sur les deux figures (figure 24) et (figure 25).

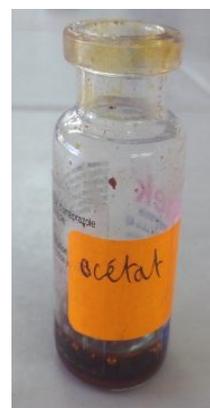
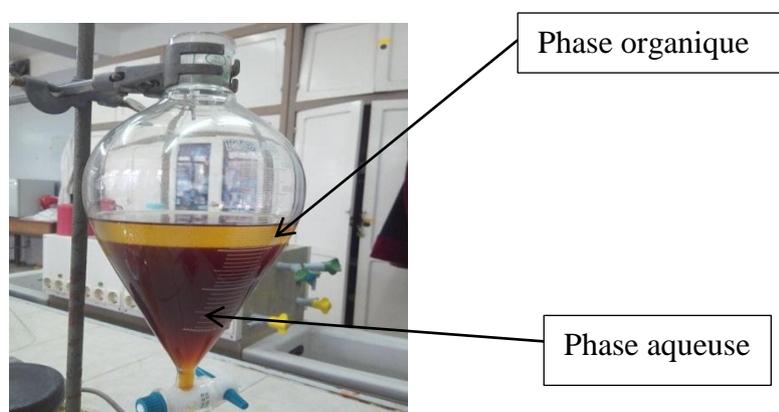


Figure 24: Séparation par l'acétate d'éthyle

Figure 25: Extrait de l'acétate d'éthyle

De la même manière, la phase aqueuse est soumise par suite à une troisième séparation par 100 ml du butanol normal. L'évaporation sous vide de la phase organique est faite, cette fois-ci, à une température légèrement supérieure au précédent. Les deux opérations (séparation et évaporation) sont illustrées sur les deux figures (figure 26) et (figure 27).

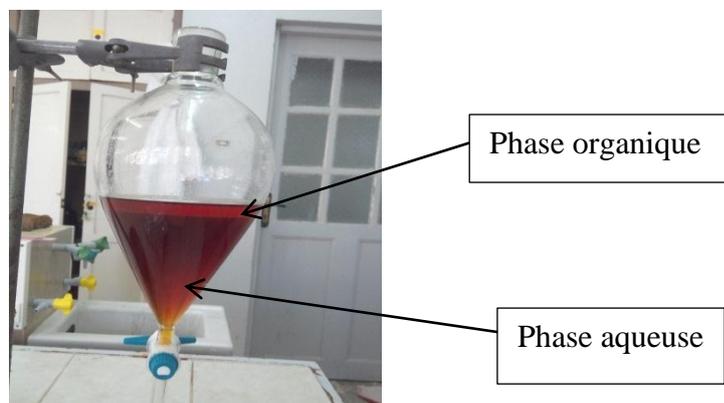


Figure 26: Séparation par n-butanol



Figure 27: Extrait de n-butanol

Finalement, la solution aqueuse a été concentrée pour obtenir l'extrait aqueux illustré sur la figure 28.



Figure 28: Extrait aqueux

La masse des quatre extraits obtenus sont les suivantes :

Extrait du dichlorométhane : $m_1 = 0.099$ g

Extrait de l'acétate d'éthyle : $m_2 = 1.207$ g

Extrait du butanol normal : $m_3 = 1.628$ g

Extrait aqueux : $m_4 = 16.493$ g

L'ensemble de ces opérations est regroupé dans l'organigramme suivant :

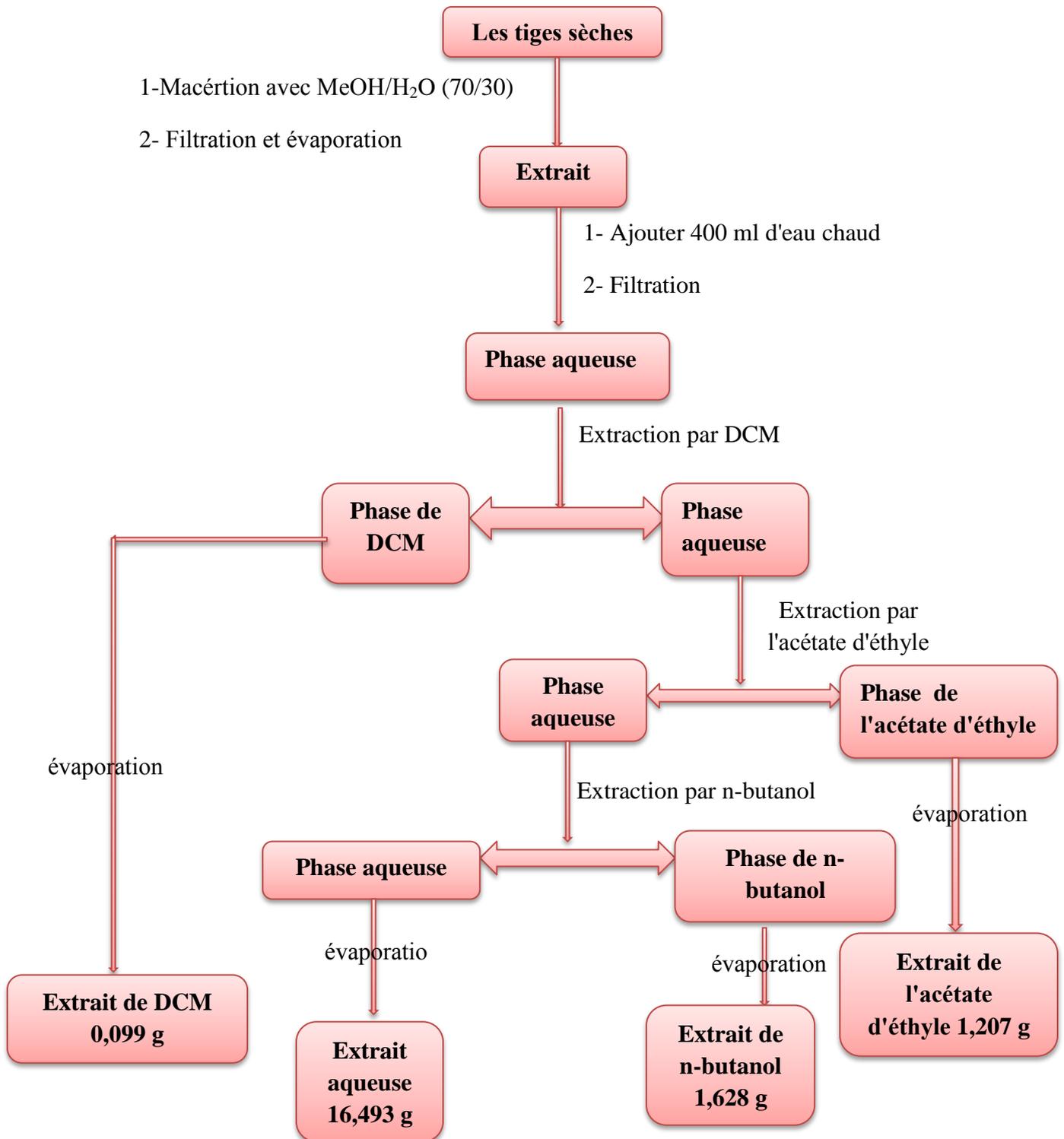


Figure 29: Organigramme des différentes opérations d'extraction

8- Estimation de l'activité anti oxydante

L'activité anti oxydante est par définition le pouvoir de l'extrait ou du composé à inhibé la racine libre ou de bloquer le phénomène d'oxydation. L'activité anti oxydante est estimée par de différentes méthodes. Parmi ces méthodes, nous avons estimé l'activité antioxydante par le test DPPH (figure 30) basé sur la coloration et la décoloration de la solution dans une longueur d'onde bien définie. Ce test antiradicalaire, défini depuis plus de soixante ans par Paulois (plus précisément en 1958) en se basant sur des calculs portés sur les phénomènes anti oxydants. [10]

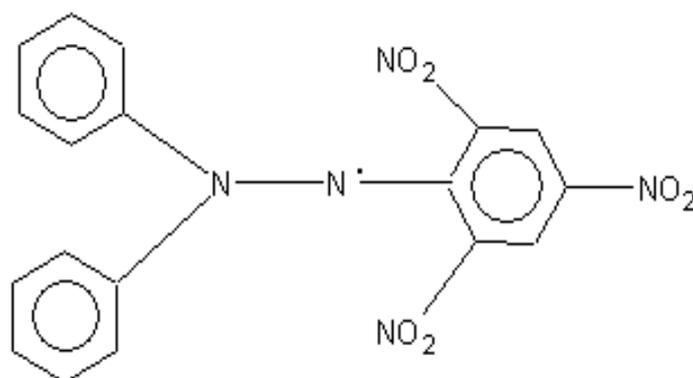


Figure 30: Molécule de diphényl picrylhydrazyl (DPPH)

Le diphényl picrylhydrazyl (DPPH) est un produit solide de couleur violette- noircie, dérivé de diphényl picrylhydrazine qui est un corps solide jaune. [11]

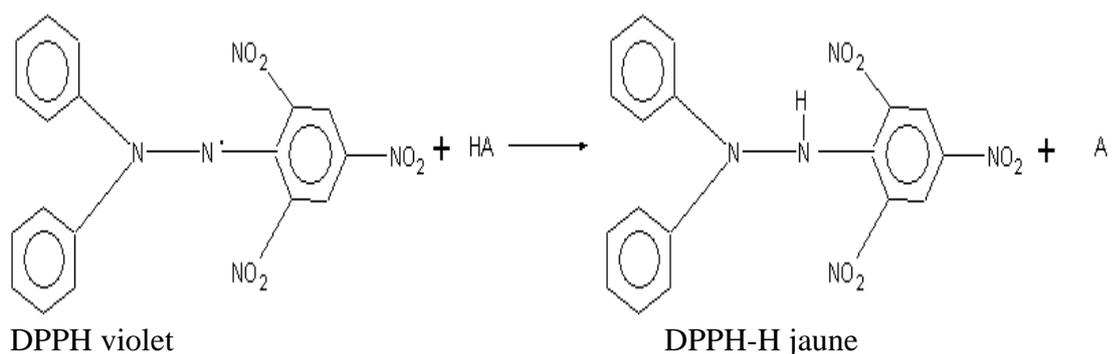


Figure 31: Equation d'inhibition de la racine DPPH en présence des anti-radicaux libres

8.1- Préparation de DPPH

On dissout 0.0040 g de DPPH dans 100 ml de méthanol absolu pour préparer une solution de 0.04 mg/ml soit 0.004%. La masse moléculaire de DPPH égale à M_{DPPH} 394 g/mole.

On prépare de différentes concentrations diluées à partir des extraits des tiges de notre plante, *Rhus tripartitum* préparé auparavant.

On ajoute à un mg de chaque extrait un ml du méthanol absolu.

Un volume de 0.5 ml de chaque solution mère est dilué à 50% par ajout de 0.5 ml du méthanol absolu. Les solutions obtenues sont diluées à 50% jusqu'à l'obtention de six solutions inclue la solution mère (1 ; 0,5 ; 0,25 ; 0,125 ; 0,06125 ; 0,3125 mg /ml).

L'absorbance de la solution du DPPH est mesurée initialement à la longueur d'onde $\lambda_{\text{max}} = 517$ nm. avant l'ajout des solution de la plante.

A 3 ml de la solution du DPPH est ajouté successivement 100 μl des six solutions de la plante. L'absorbance de ces six solutions est mesurée à la longueur d'onde $\lambda_{\text{max}} = 517$ nm pendant 30 mn par intervalle d'une minute.

Pour des raisons comparatives, on détermine par la même manière et dans les mêmes conditions l'absorption de l'acide ascorbique (Vc).

8.2- Résultats du test

Les résultats obtenus pour chaque extrait sont illustrés dans les tableaux suivants:

Tableau 3: Absorbance de l'extrait du DCM à différentes concentrations

Temps (Min)	C ₁ =1 mg/ml	C ₂ =0.5 mg/ml	C ₃ =0.25 mg/ml	C ₄ =0.125 mg/ml	C ₅ =0.06125 mg/ml	C ₆ =0.03125 mg/ml
0	0.787	0.732	0.743	0.748	0.932	0.94
1	0.645	0.692	0.71	0.72	0.916	0.91
2	0.605	0.637	0.669	0.71	0.9	0.908
3	0.568	0.581	0.656	0.666	0.9	0.906
4	0.536	0.572	0.647	0.65	0.898	0.906
5	0.515	0.561	0.641	0.645	0.896	0.906
6	0.501	0.554	0.636	0.64	0.894	0.906
7	0.488	0.547	0.632	0.635	0.894	0.904
8	0.478	0.541	0.63	0.633	0.892	0.904
9	0.47	0.536	0.627	0.63	0.892	0.904
10	0.462	0.531	0.625	0.627	0.89	0.904
11	0.455	0.527	0.623	0.625	0.89	0.904
12	0.449	0.523	0.621	0.623	0.89	0.904
13	0.444	0.52	0.619	0.62	0.89	0.904
14	0.438	0.517	0.618	0.619	0.89	0.904
15	0.434	0.515	0.617	0.617	0.89	0.904
16	0.429	0.512	0.616	0.616	0.89	0.904
17	0.426	0.51	0.614	0.614	0.89	0.904
18	0.422	0.507	0.614	0.614	0.89	0.904
19	0.419	0.505	0.613	0.613	0.89	0.904
20	0.415	0.503	0.612	0.612	0.89	0.906
21	0.412	0.502	0.612	0.612	0.89	0.906
22	0.41	0.5	0.61	0.61	0.89	0.906
23	0.407	0.499	0.609	0.609	0.89	0.906
24	0.404	0.496	0.608	0.608	0.89	0.906
25	0.402	0.494	0.61	0.608	0.89	0.908
26	0.4	0.493	0.608	0.608	0.89	0.908
27	0.398	0.492	0.607	0.607	0.89	0.908
28	0.396	0.491	0.607	0.607	0.89	0.908
29	0.394	0.49	0.606	0.607	0.89	0.908
30	0.39	0.489	0.606	0.607	0.89	0.908

Tableau 4: Absorbance de l'extrait d'acétate d'éthyle à différentes concentrations

Temps (Min)	C ₁ =1 mg/ml	C ₂ =0.5 mg/ml	C ₃ =0.25 mg/ml	C ₄ =0.125 mg/ml	C ₅ =0.06125 mg/ml	C ₆ =0.03125 mg/ml
0	0.516	0.595	0.553	0.621	0.647	0.612
1	0.182	0.368	0.38	0.437	0.591	0.568
2	0.13	0.219	0.286	0.404	0.504	0.554
3	0.114	0.149	0.243	0.387	0.492	0.548
4	0.11	0.124	0.211	0.372	0.487	0.545
5	0.109	0.114	0.186	0.36	0.484	0.541
6	0.109	0.109	0.17	0.344	0.482	0.539
7	0.109	0.108	0.155	0.338	0.481	0.539
8	0.109	0.107	0.145	0.332	0.478	0.537
9	0.109	0.107	0.137	0.328	0.477	0.536
10	0.108	0.107	0.13	0.324	0.475	0.535
11	0.108	0.106	0.125	0.321	0.474	0.535
12	0.108	0.106	0.12	0.317	0.472	0.534
13	0.108	0.106	0.117	0.315	0.47	0.534
14	0.108	0.106	0.114	0.312	0.469	0.534
15	0.108	0.106	0.111	0.309	0.468	0.533
16	0.108	0.106	0.11	0.307	0.468	0.533
17	0.108	0.106	0.108	0.306	0.466	0.532
18	0.108	0.106	0.107	0.303	0.465	0.531
19	0.108	0.106	0.106	0.301	0.464	0.531
20	0.108	0.106	0.105	0.299	0.463	0.531
21	0.108	0.106	0.105	0.298	0.462	0.53
22	0.108	0.106	0.104	0.296	0.461	0.53
23	0.108	0.106	0.104	0.294	0.461	0.53
24	0.108	0.106	0.104	0.293	0.46	0.529
25	0.108	0.106	0.104	0.292	0.459	0.529
26	0.108	0.106	0.104	0.29	0.458	0.528
27	0.108	0.106	0.104	0.289	0.458	0.528
28	0.108	0.106	0.103	0.287	0.457	0.528
29	0.108	0.106	0.103	0.286	0.457	0.528
30	0.108	0.106	0.103	0.285	0.456	0.528

Tableau 5: Absorbance de l'extrait du n-butanol à différentes concentrations

Temps (Min)	C ₁ =1 mg/ml	C ₂ =0.5 mg/ml	C ₃ =0.25 mg/ml	C ₄ =0.125 mg/ml	C ₅ =0.06125 mg/ml	C ₆ =0.03125 mg/ml
0	0.66	0.57	0.562	0.565	0.57	0.575
1	0.365	0.508	0.521	0.525	0.53	0.535
2	0.269	0.466	0.451	0.455	0.478	0.502
3	0.223	0.403	0.425	0.43	0.467	0.496
4	0.167	0.373	0.386	0.39	0.461	0.492
5	0.149	0.334	0.366	0.37	0.459	0.489
6	0.141	0.31	0.349	0.353	0.454	0.486
7	0.138	0.29	0.327	0.348	0.449	0.484
8	0.137	0.263	0.309	0.342	0.441	0.483
9	0.137	0.259	0.293	0.336	0.435	0.482
10	0.137	0.236	0.284	0.331	0.432	0.481
11	0.137	0.225	0.277	0.324	0.425	0.48
12	0.137	0.215	0.268	0.32	0.423	0.479
13	0.137	0.204	0.262	0.317	0.42	0.478
14	0.137	0.191	0.256	0.314	0.419	0.477
15	0.137	0.185	0.251	0.312	0.414	0.476
16	0.137	0.177	0.247	0.31	0.41	0.475
17	0.137	0.167	0.243	0.309	0.409	0.475
18	0.137	0.163	0.239	0.307	0.407	0.474
19	0.137	0.16	0.236	0.306	0.406	0.474
20	0.137	0.157	0.232	0.304	0.406	0.473
21	0.137	0.155	0.229	0.303	0.405	0.472
22	0.137	0.154	0.227	0.302	0.403	0.472
23	0.137	0.153	0.224	0.301	0.402	0.472
24	0.137	0.152	0.222	0.3	0.401	0.472
25	0.137	0.152	0.219	0.298	0.399	0.472
26	0.137	0.152	0.217	0.298	0.398	0.472
27	0.137	0.152	0.215	0.297	0.398	0.472
28	0.137	0.152	0.213	0.296	0.398	0.472
29	0.137	0.152	0.212	0.295	0.398	0.472
30	0.137	0.151	0.21	0.294	0.398	0.472

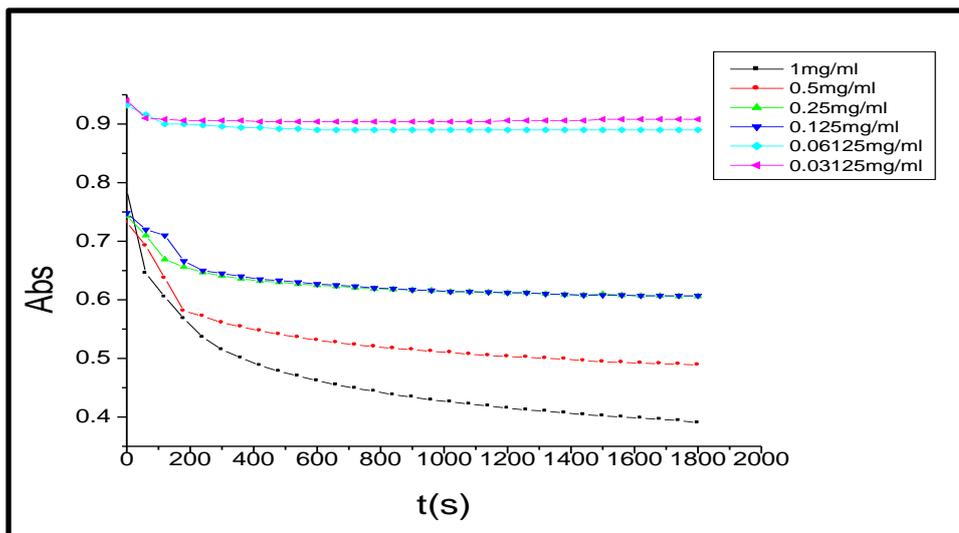
Tableau 6: Absorbance de l'extrait aqueux à différentes concentrations

Temps (Min)	C ₁ =1 mg/ml	C ₂ =0.5 mg/ml	C ₃ =0.25 mg/ml	C ₄ =0.125 mg/ml	C ₅ =0.06125 mg/ml	C ₆ =0.03125 mg/ml
0	0.457	0.503	0.684	0.702	0.764	0.811
1	0.399	0.474	0.6	0.664	0.744	0.786
2	0.368	0.471	0.584	0.653	0.739	0.781
3	0.338	0.461	0.564	0.649	0.733	0.775
4	0.305	0.454	0.551	0.646	0.732	0.768
5	0.291	0.442	0.552	0.643	0.732	0.769
6	0.272	0.436	0.545	0.64	0.731	0.769
7	0.257	0.427	0.54	0.639	0.73	0.769
8	0.245	0.42	0.534	0.637	0.73	0.768
9	0.234	0.413	0.531	0.636	0.729	0.768
10	0.224	0.406	0.527	0.635	0.729	0.768
11	0.215	0.397	0.523	0.634	0.729	0.767
12	0.209	0.389	0.523	0.633	0.728	0.766
13	0.203	0.388	0.517	0.632	0.728	0.766
14	0.198	0.382	0.515	0.631	0.728	0.766
15	0.194	0.378	0.513	0.63	0.728	0.766
16	0.19	0.373	0.51	0.63	0.728	0.766
17	0.186	0.365	0.509	0.629	0.727	0.766
18	0.182	0.362	0.507	0.629	0.727	0.766
19	0.179	0.359	0.505	0.628	0.727	0.766
20	0.176	0.354	0.504	0.628	0.727	0.766
21	0.173	0.349	0.502	0.627	0.726	0.768
22	0.172	0.345	0.5	0.627	0.726	0.768
23	0.168	0.34	0.499	0.626	0.726	0.768
24	0.166	0.334	0.497	0.626	0.726	0.768
25	0.164	0.326	0.496	0.626	0.726	0.768
26	0.162	0.324	0.495	0.625	0.726	0.768
27	0.16	0.321	0.494	0.625	0.726	0.768
28	0.158	0.318	0.492	0.625	0.726	0.768
29	0.156	0.316	0.491	0.624	0.726	0.768
30	0.155	0.314	0.49	0.624	0.726	0.768

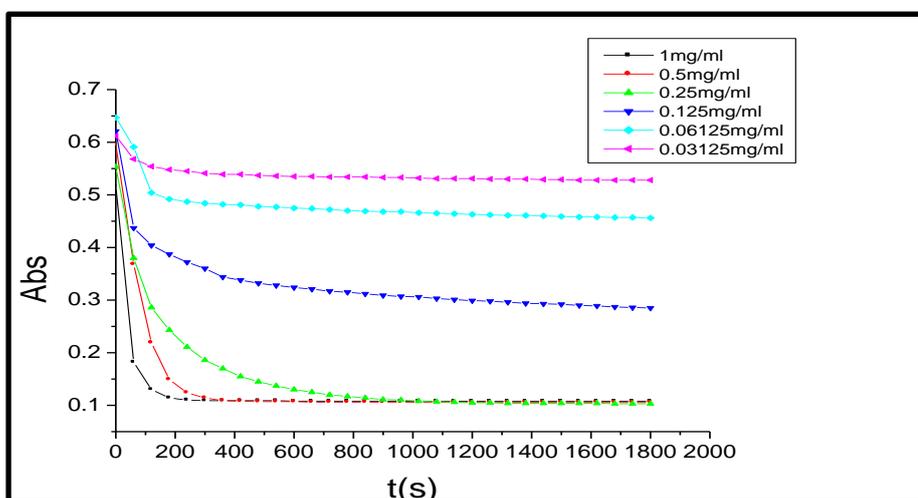
Tableau 7: Absorbance de l'acide ascorbique à différentes concentrations

Temps (Min)	C ₁ =1 mg/ml	C ₂ =0.5 mg/ml	C ₃ =0.25 mg/ml	C ₄ =0.125 mg/ml	C ₅ =0.06125 mg/ml	C ₆ =0.03125 mg/ml
0	1.3	1.335	1.07	1.424	1.426	1.429
1	0.796	0.827	0.834	1.357	1.366	1.41
2	0.634	0.723	0.797	1.298	1.311	1.395
3	0.61	0.723	0.797	1.297	1.309	1.393
4	0.571	0.722	0.797	1.297	1.307	1.393
5	0.522	0.722	0.797	1.297	1.306	1.393
6	0.487	0.722	0.795	1.297	1.304	1.391
7	0.483	0.722	0.795	1.297	1.304	1.391
8	0.476	0.722	0.794	1.297	1.304	1.391
9	0.472	0.722	0.793	1.297	1.304	1.39
10	0.469	0.722	0.792	1.297	1.304	1.39
11	0.469	0.722	0.791	1.297	1.304	1.39
12	0.466	0.722	0.791	1.297	1.304	1.39
13	0.466	0.722	0.791	1.297	1.304	1.389
14	0.466	0.721	0.791	1.297	1.304	1.389
15	0.464	0.721	0.788	1.297	1.304	1.389
16	0.464	0.721	0.788	1.297	1.304	1.389
17	0.464	0.721	0.788	1.297	1.304	1.387
18	0.463	0.721	0.788	1.297	1.304	1.387
19	0.463	0.721	0.787	1.297	1.304	1.387
20	0.462	0.721	0.786	1.297	1.304	1.387
21	0.462	0.721	0.785	1.297	1.304	1.387
22	0.461	0.721	0.785	1.297	1.304	1.387
23	0.461	0.721	0.784	1.297	1.304	1.387
24	0.461	0.721	0.784	1.297	1.304	1.387
25	0.461	0.721	0.783	1.297	1.304	1.387
26	0.461	0.721	0.783	1.297	1.304	1.387
27	0.461	0.721	0.783	1.297	1.304	1.387
28	0.461	0.721	0.783	1.297	1.304	1.387
29	0.461	0.721	0.783	1.297	1.304	1.387
30	0.461	0.721	0.782	1.297	1.304	1.387

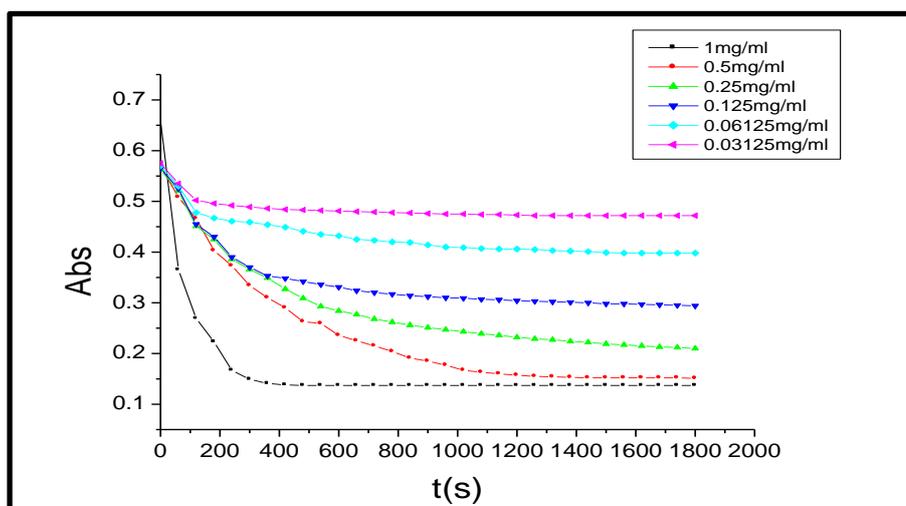
L'ensemble de ces résultats décrit dans les tableaux ci-dessus peuvent être traduire sous la forme des courbes présentées ci-dessous:



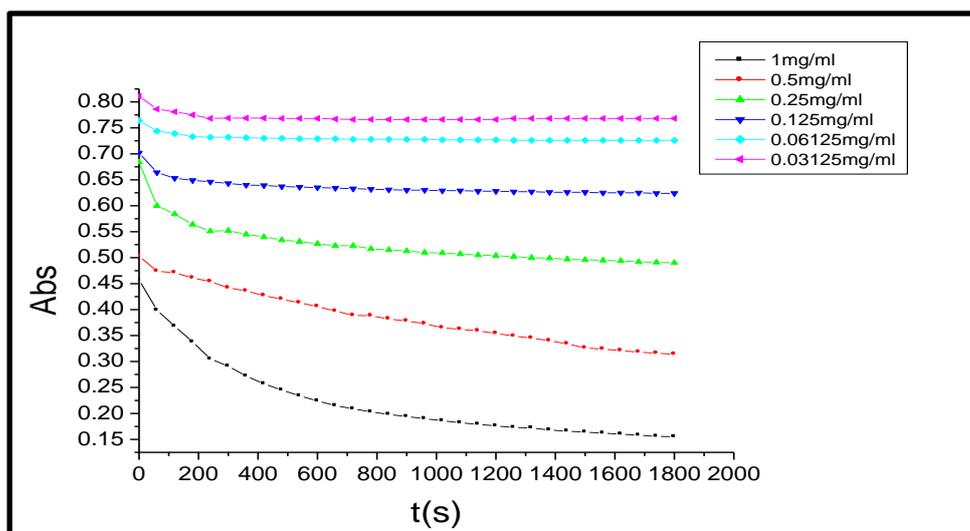
(A)



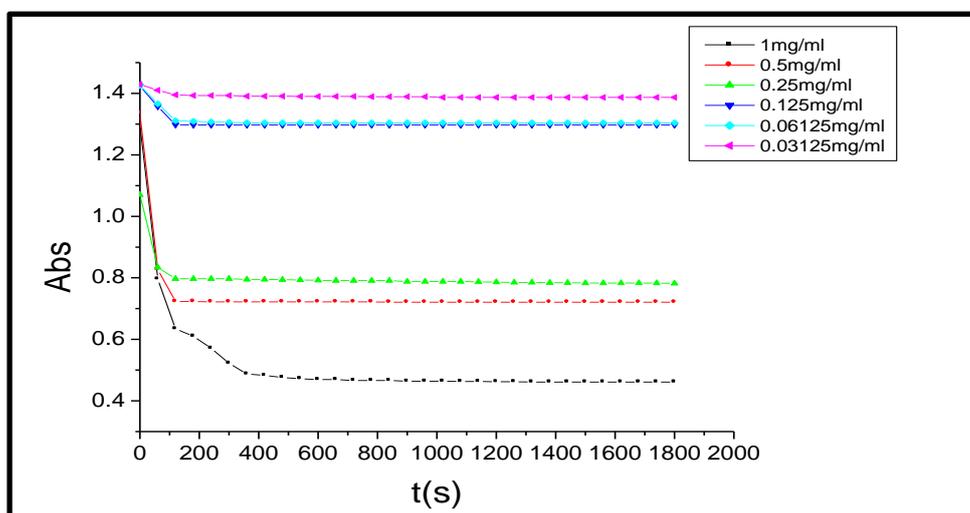
(B)



(C)

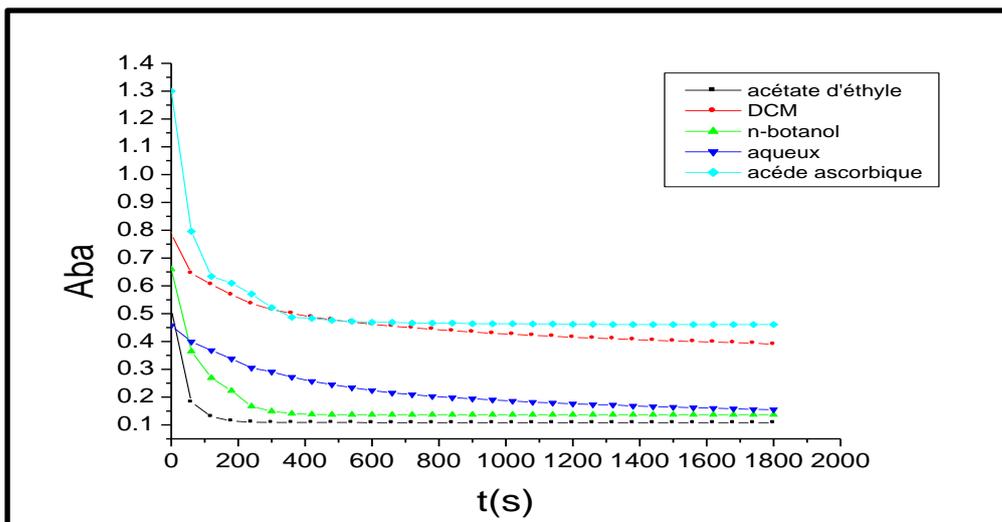


(D)

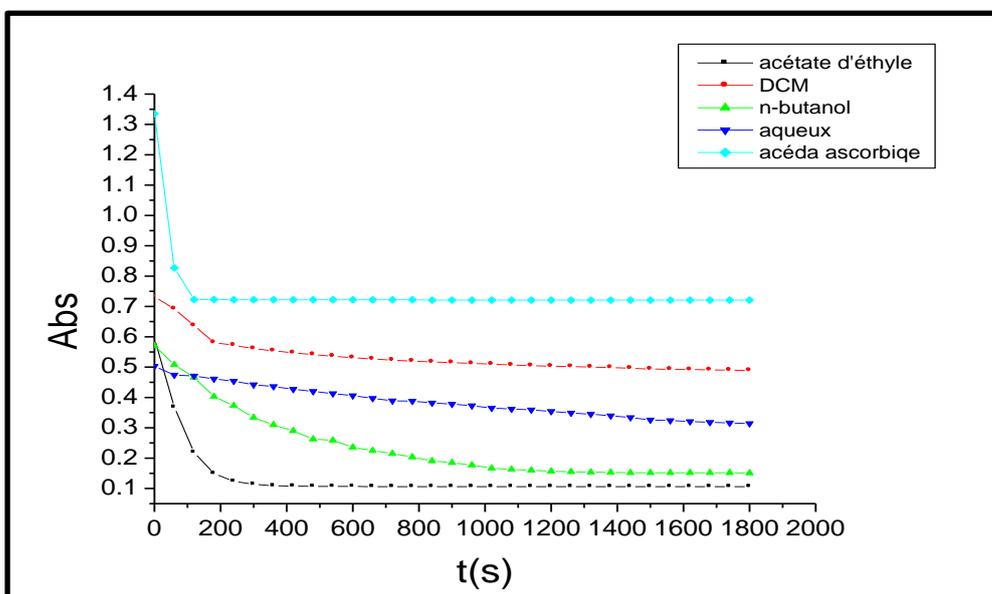


(E)

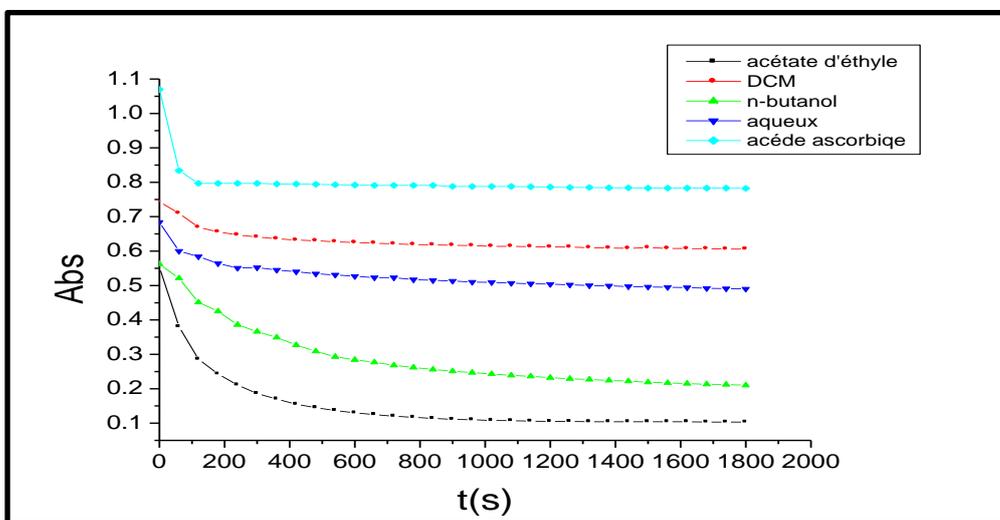
Figure 32 : Cinétique de réduction du radical DPPH. (A) Extrait du DCM (B) Acétate d'éthyle (C) Extrait du n-butanol (D) Eextrait aqueux (E) Acide ascorbique pour les différentes concentrations .



(A)



(B)



(C)

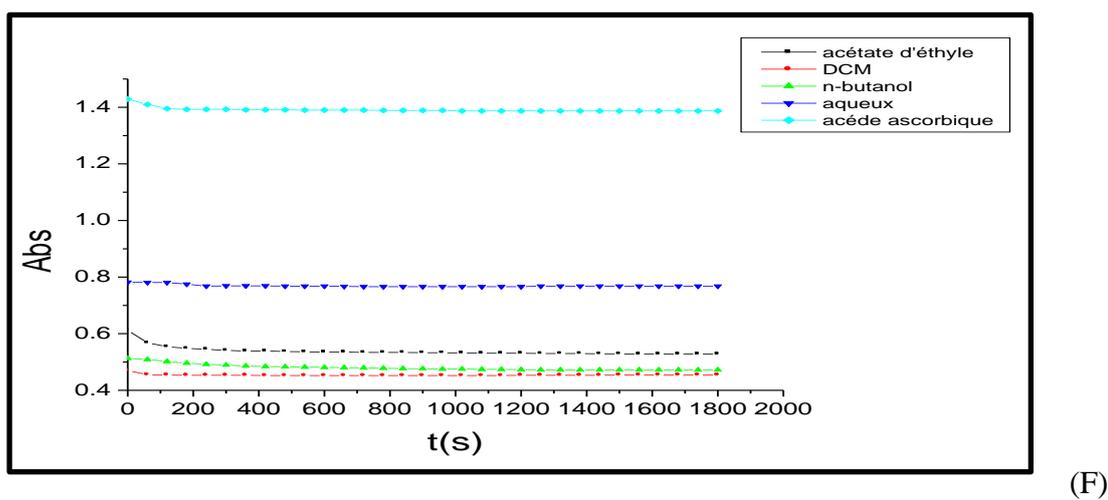
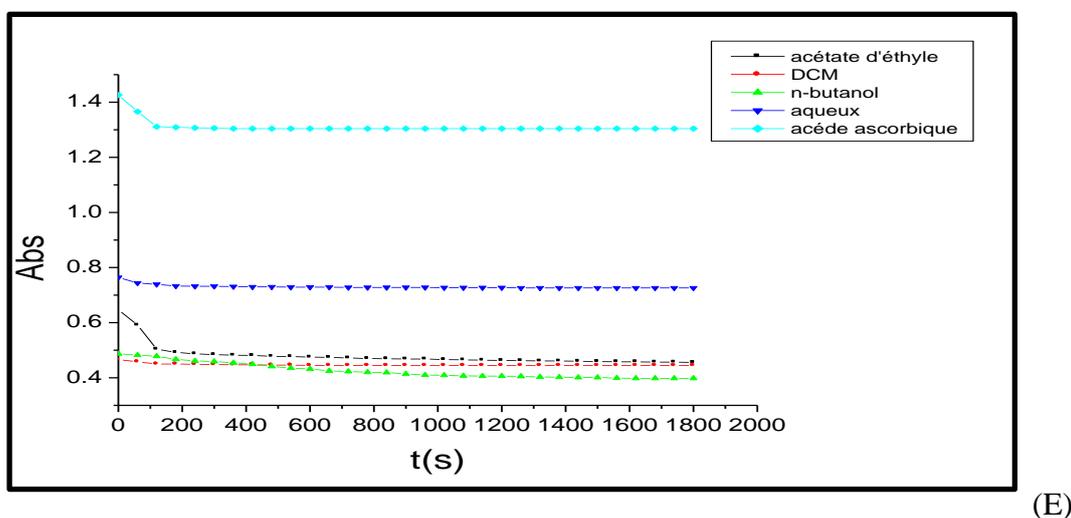
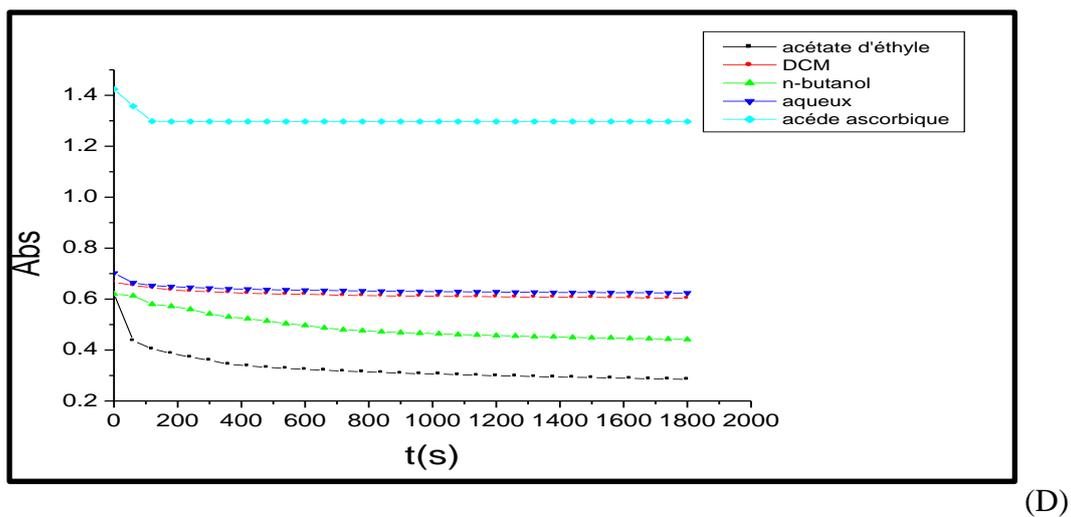


Figure 33: (A) concentration 1mg/ml; (B) concentration 0.5 mg/ml; (C) concentration 0.25 mg/ml; (D) concentration 0.125 mg/ml; (E) concentration 0.06125 mg/ml; (F) concentration 0.03125 mg/ml.

9- Résultat et discussion

L'ensemble des résultats obtenus auparavant peuvent être minimiser, dans un but comparatif, dans le tableau ci-dessous:

Tableau 8: Comparaison de l'absorbance des différents extraits pour les mêmes concentrations

extrait	Temps (Min)	C ₁ =1 mg/ml	C ₂ =0.5 mg/ml	C ₃ =0.25 mg/ml	C ₄ =0.125 mg/ml	C ₅ =0.0612 5 mg/ml	C ₆ =0.03125 mg/ml
DCM	5	0.515	0.561	0.641	0.645	0.896	0.906
Acétate	5	0.109	0.114	0.186	0.36	0.484	0.541
n-butanol	5	0.149	0.334	0.366	0.37	0.459	0.489
Aqueux	5	0.291	0.442	0.552	0.643	0.732	0.769
Ac. asc.	5	0.522	0.722	0.797	1.297	1.306	1.393

DCM	10	0.462	0.531	0.625	0.627	0.89	0.904
Acétate	10	0.108	0.107	0.13	0.324	0.475	0.535
n-butanol	10	0.137	0.236	0.284	0.331	0.432	0.481
Aqueux	10	0.224	0.406	0.527	0.635	0.729	0.768
Ac. asc.	10	0.469	0.722	0.792	1.297	1.304	1.39

DCM	15	0.434	0.515	0.617	0.617	0.89	0.904
Acétate	15	0.108	0.106	0.111	0.309	0.468	0.533
n-butanol	15	0.137	0.185	0.251	0.312	0.414	0.476
Aqueux	15	0.194	0.378	0.513	0.63	0.728	0.766
Ac. asc.	15	0.464	0.721	0.788	1.297	1.304	1.389

DCM	20	0.415	0.503	0.612	0.612	0.89	0.906
Acétate	20	0.108	0.106	0.105	0.299	0.463	0.531
n-butanol	20	0.137	0.157	0.232	0.304	0.406	0.473
Aqueux	20	0.176	0.354	0.504	0.628	0.727	0.766
Ac. asc.	20	0.462	0.721	0.786	1.297	1.304	1.387

DCM	25	0.402	0.494	0.61	0.608	0.89	0.908
Acétate	25	0.108	0.106	0.104	0.292	0.459	0.529
n-butanol	25	0.137	0.152	0.219	0.298	0.399	0.472
Aqueux	25	0.164	0.326	0.496	0.626	0.726	0.768
Ac. asc.	25	0.461	0.721	0.783	1.297	1.304	1.387

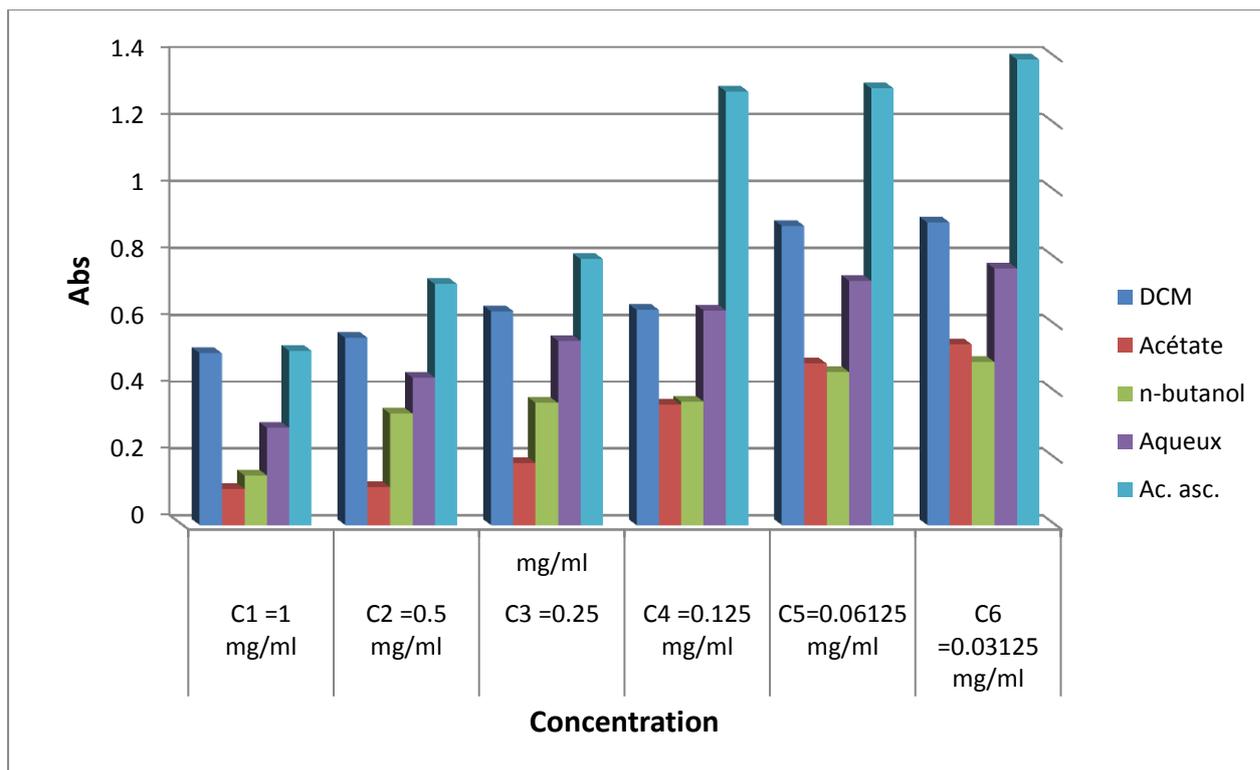


Figure 34: Histogramme représentant les valeurs d'absorbance après 5 min.

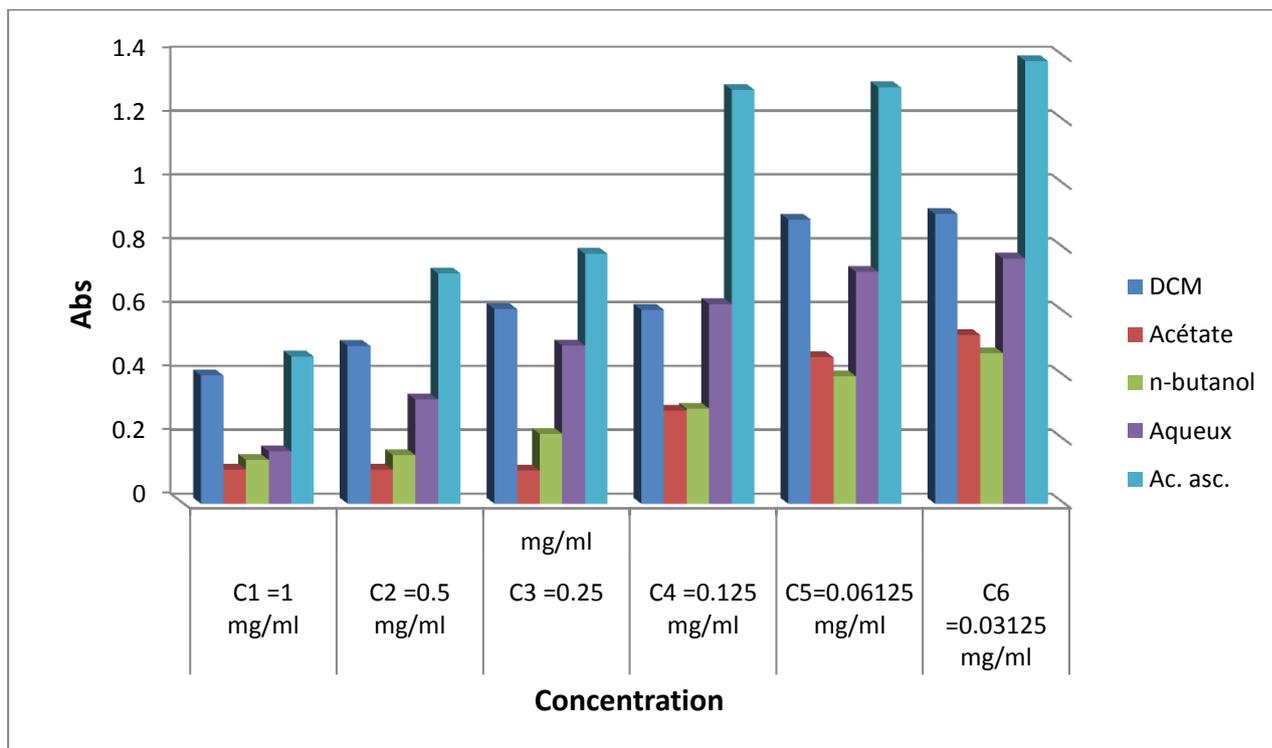


Figure 35: Histogramme représentant les valeurs d'absorbance après 25 min.

Pour les grandes concentrations on remarque que l'extrait du DCM à une absorbance remarquable et très proche de celle de l'acide ascorbique suivi, par l'extrait aqueux, n-butanol et finalement l'acétate d'éthyle. Cet ordre dévie légèrement pour les 2 petites concentrations, l'acétate d'éthyle prend la 4^{ème} position, alors que le n-butanol recule à la 5^{ème} est dernière position. Même remarque est prise pour de reste des temps.

On conclusion:

L'absorbance de l'extrait du DCM est meilleur, suivi par l'extrait aqueux.

La comparaison verticale, nous montre que l'absorbance diminue progressivement un fonction du temps. A titre d'exemple Abs_{DCM} débute par une hausse valeur (0.515 après 5 min), elle se retrouve (à 402 après 25min).

La comparaison horizontale montre que l'absorbance augmente avec la diminution de la concentration; elle débute par (0.515 à 1mg/ml pour l'extrait du DCM) et termine a 906 à 0.03125mg/ml.

On conclusion l'extrait du DCM a récolté une majorité de principes actifs aidant l'absorbance malgré la migration du reste des principes actifs de la phase aqueuse vers l'acétate d'éthyle et le n-butanol. Une partie importante reste dans l'eau. Ce que prouve la deuxième position de l'extrait aqueux.

10- Etude de l'activité biologique des extraits retenu de la plante *Rhus tripartitum*

Mode opératoire

Cette méthode explique clairement la réactivité de l'extrait végétal contre la bactérie préparée à partir d'un milligramme de chaque extrait dans 1 ml DMSO.

Nous avons collé les boites de Pétri sur la surface gélosée de la bactérie et on a procédé à mettre trois puits et trois disques dans chaque boites. Cette opération est suivie par la diffusion de 8 µl des quatre solutions issues de nos extraits en plus de la solution du DMSO.

- la diffusion de la matière extraite dans le milieu gélosé détruit, théoriquement, progressivement la croissance de la bactérie autour des disques et les puits. En cas d'un résultat positif, on observe un anneau qui entoure le disque et le puits, c'est le cas d'inhibition.

Les résultats sont lus après 24 heures d'incubation de la boîte de Pétri dans une couveuse à 37°C.

Les extraits de notre plante n'ont aucun pouvoir sensible à la bactérie car le diamètre d'inhibition n'a aucun changement, comme l'indique les figures 36-41, ce qui confirme le résultat négatif de l'effet de ces extraits sur la bactérie.



Figure 36: Boîte avant 24 heure

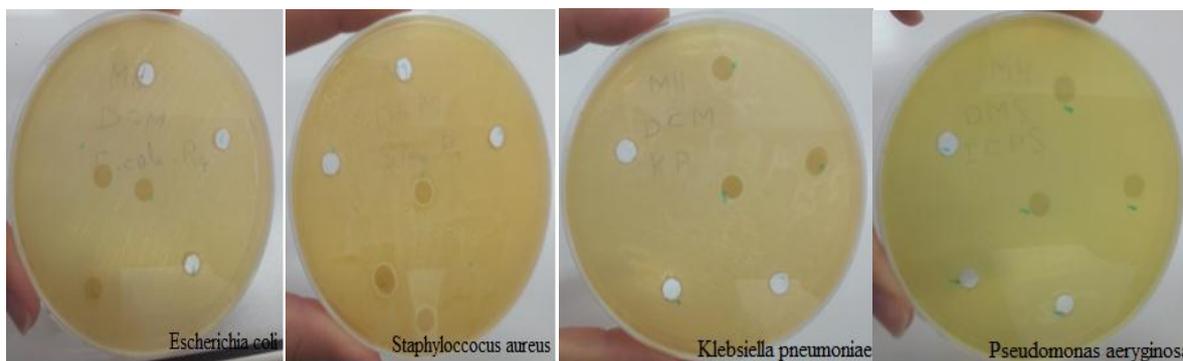


Figure 37 : Activité antibactérienne de l'extrait du DCM de la plante *Rhus tripartitum*

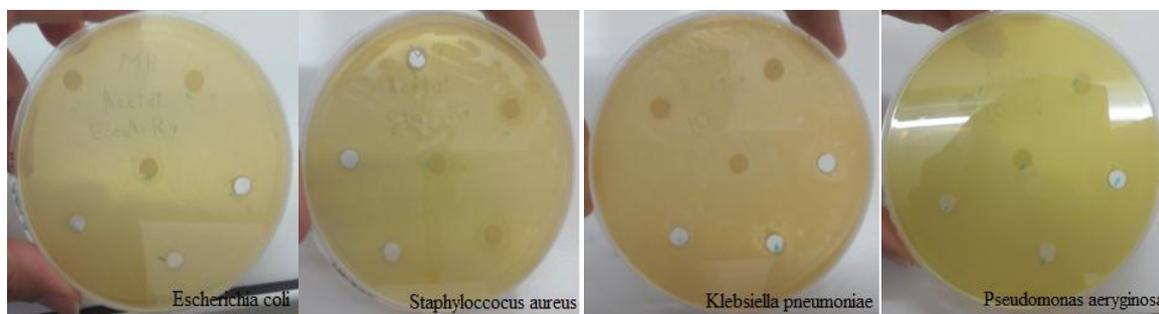


Figure 38 : Activité antibactérienne de l'extrait d'acétate d'éthyle de la plante *Rhus tripartitum*



Figure 39 : Activité antibactérienne de l'extrait du n-butanol de la plante *Rhus tripartitum*

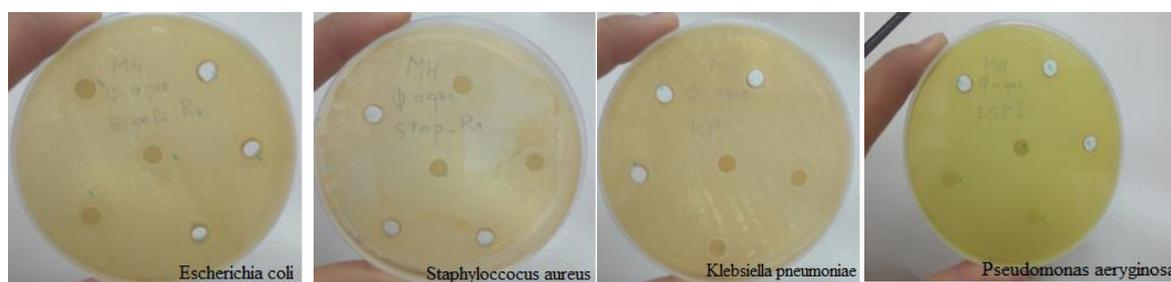


Figure 40 : Activité antibactérienne de l'extrait aqueux de la plante *Rhus tripartitum*

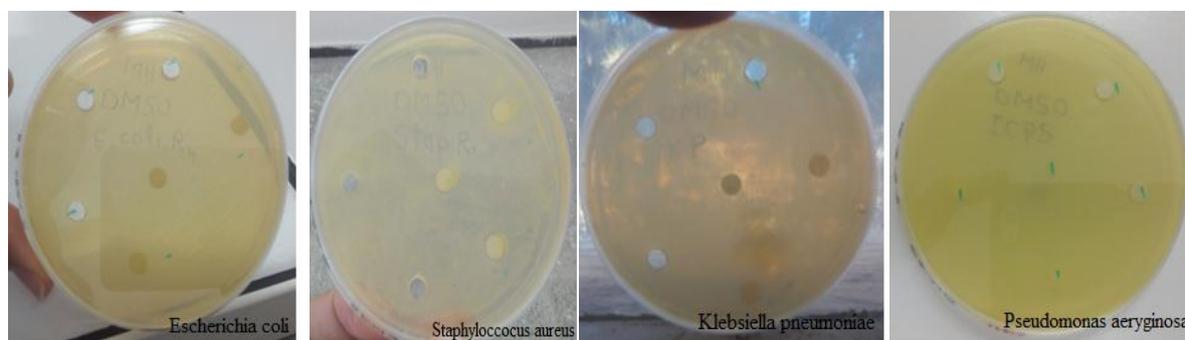


Figure 41 : Activité antibactérienne de DMSO

Références

- 1- Markham K.R., 1982, Techniques of Flavonoids Identification, Academic Press, London.
- 2- T.J. Mabry, Markham K.R., Thomas M.B., 1970, The systematic identification of flavonoids. Springer-Verlag New York, Heidelberg, p254.
- 3- G. Ribereau (1968). Les composés phénoliques des végétaux. Dunod Paris.p : 254.
- 4- N. Dohou, K. Yamni, N. Gmira, L.M. Idrissi Hassani, (2003), Screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine Thymelaealythroïdes, Bull. Soc Bordeaux. p142, 61-78.
- 5- B. Yves-Alain, A. Janat, B. Mamyrbekova, B. Boua, H. Fézan, Trabi., E. Ehouan (2007). Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthiana* (Baill.) Herend. and Zarucchi (Caesalpiniaaceae), Sciences & Nature Vol. 4 N°2 : 217 – 225.
- 6- J.H.Simpson, 2008, Organic Structure Determination Using 2-D NMR Spectroscopy, p13- 83.
- 7- Stage Mafpen., 1998, Des cours en chromatographie. Lycée Louis Vincent Metz.
- 8- K. Benzahi, Contribution à l'étude des flavonoïdes dans la Plante cynodn *Dactylon* - L <<chindent>>, mémoires de Magister. Université de Ouargla ,P,15-17 2001.
- 9- N. Chaouch, Etude des alcaloïdes dans le coloquinte *Colocynthis vulgaris* (L) Schrad (cucurbitacées) Région de Oued N'sa (Wilaya de ourgla). Mémoire de magister. Université de Ouargla, 44 (2001).
- 10- Kalla Ali, Etude et valorisation des principes actifs de quelques plantes du sud algérien : *Pituranthos scoparius*, *Rantherium adpressum* et *Traganum nudatum*, thèse de doctorat, université de Constantine (2012), pp 112-113.
- 11- J. De Graeve, F. Berthou, M. Prost; (1985), Méthodes Chromatographiques Couplées à la spectrométrie de masse, Ed. Masso Paris

Conclusion générale

L'objectif principal de ce modeste travail est résumé dans une étude phytochimique et biologique de la plante "*Rhus tripartitum*" populairement connue sous le nom d'ellok.

Après une recherche bibliographique rapide sur les plantes médicinales, métabolites secondaires, méthodes d'extraction et de séparation et les activités appliquées sur les extraits retenus, nous avons procédé à définir le lieu géographique de la cueillette et la classification de la plante.

Une première étude est portée sur les tests préliminaires de présence des principes actifs a montré la présence des principes testés à l'exception des coumarines.

Le second travail est une hydrodistillation dont le but de retenir une fraction considérable des huiles essentielles et qui n'a aboutie à aucune récupération quantitative alors que cette partie a confirmé la présence des terpènes.

Nous avons tenté, dans la troisième partie, de macérer les tiges de la plante dans une solution du méthanol à 70 % et de répartir la matière retenue en trois extraits organiques et un quatrième aqueux.

Les extraits retenus ont été soumis à une étude biologique, particulièrement l'effet antibactérien de ces extraits sur des souches de différentes bactéries préparées auparavant (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*).

L'étude a montré que ces différentes souches ont une résistance forte à ces extraits.

Nous avons également procédé à un test de DPPH sur ces quatre extraits dans de différentes concentrations: (1; 0.5 ; 0.25 ; 0.125 ; 0.0615 et 0.03125 mg/ml). Les résultats obtenus ont abouti à une classification de ces extraits. Cette étude a confirmé la forte migration de la matière antioxydante active vers l'extrait du dichlorométhane.

En perspective, une étude comparative apparait importante tant que sur la partie prise pour l'étude ou même sur le choix de la période de la cueillette.