

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Badji Mokthar-Annaba University



جامعة باجي مختار- عنابة

Université Badji Mokthar-Annaba

Faculté des Sciences

Département de Biologie

Laboratoire de Biologie Végétale et Environnement

Mémoire de Magistère

Filière : Biologie Végétale

Option : Physiologie des Plantes Médicinales

**Analyse des substances actives "les flavonoïdes" et action antibactérienne d'une fabacée à intérêt médicinal "*Medicago sativa.L.*" cultivée sur des sols du Nord-Est algérien**

Présenté par:

M<sup>elle</sup> MESSIOUGHI AMEL

Membres de jury :

**Président :** Mr Tahar A.

Pr. Université d'Annaba

**Directeur de recherche :** Mr Djamai R.

MC. Université d'Annaba

**Examinatrice:** Mme Bordjiba O.

Pr. Université d'Annaba

**Examinatrice :** Mme Serradj M.

MC. Université d'Annaba

**Année universitaire: 2009 - 2010**

## *Dédicaces*

*Je dédie ce travail :*

*A mes très chers parents à qui revient tout le mérite  
Pour leur dévouement, leur sacrifice, leurs encouragements et leur  
amour. Que ce travail soit, pour eux, un faible témoignage de ma  
profonde affection et tendresse.*

*A ma sœur Saliha*

*Pour ses encouragements, son soutien moral et matériel.*

*A tous les membres de ma famille*

*A tous mes amis : Karima, Fadila, Chahira, Adala, Lamia, Souad,  
Farida, Imen, Sameh*

*Et*

*(Surtout) Hoda*

*Pour leur bienveillante attention, leur aide et leur amour.*

*A toutes les techniciennes de tous les laboratoires du département de  
biologie.*

*A tous mes camarades travaillant dans les mêmes laboratoires.*

*Et*

*A tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin.*

## ***Remerciements***

Je remercie tout d'abord Dieu qui m'a donné la volonté et le courage pour élaborer ce travail.

Mes sincères sentiments de respect et de reconnaissance s'adressent au Professeur **Tahar A**, pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de présider le jury.

Je dois remercier particulièrement :

Madame **Bouzeraa M**, Chargée de Cours à l'université de Badji Mokhtar d'Annaba, pour tous les conseils valeureux qu'elle m'a prodigués tout au long de ce travail.

Monsieur **Djamai R**, Maître de Conférences à l'université de Badji Mokhtar d'Annaba, à qui je lui adresse ma profonde gratitude pour les conseils éclairés qu'il n'a cessé de me prodiguer tout au long de ce travail.

Monsieur **Djahoudi A**, Maître de Conférences à la faculté de médecine d'Annaba qui a apporté sa contribution scientifique qui m'a été d'une grande utilité.

Madame **Séridi R**, Professeur à l'université de Badji Mokhtar d'Annaba et chef de la poste graduation, Physiologie des plantes médicinales pour sa disponibilité et ses conseils tout au long de ma formation.

Que madame **Bordjiba O**, Professeur à l'université d'Annaba, veuille bien agréer le témoignage de ma profonde gratitude pour l'honneur qu'elle me fait en acceptant de bien vouloir participer au jury de ma soutenance.

Je tiens absolument à remercier madame **Serradj M**, Maître de Conférences à l'université d'Annaba pour avoir accepté de faire partie du jury.

Je ne saurais trop exprimer mes profonds sentiments de respect envers Monsieur **Mokrane**, Directeur de la station d'élevage de Fetzara (Annaba), pour sa disponibilité et également pour son aide précieuse.

Enfin je remercie tous ceux qui de près ou de loin ont participé à l'élaboration de ce travail.

## *Abréviation*

<b>CCM</b> :	Chromatographie sur Couche Mince
<b>DMSO</b> :	Diméthylsulfoxyde
<b>Décoc</b> :	Décoction
<b>Flavo</b> :	Flavonoïdes
<b>HCl</b> :	Acide chlorhydrique
<b>NAD</b> :	Nicotinamide adénine dinucléotide
<b>NaOH</b> :	Hydroxyde de sodium
<b>NH<sub>4</sub>OH</b> :	Hydroxyde d'ammonium
<b>R<sub>f</sub></b> :	Rapport Frontal
<b>UV</b> :	Ultraviolet

## *Table des matières*

<b>Introduction</b>	1
<b>Partie 1 : Etude bibliographique</b>	2
<b>Chapitre I : Le développement de la phytothérapie</b>	2
1. Définition de la phytothérapie	2
2. Les plantes médicinales depuis l'Antiquité	2
3. Place des plantes médicinales dans les thérapeutiques	4
4. Les substances naturelles actives	5
4.1. Les polyphénols	5
4.1.1. Classification des composés phénoliques	6
4.1.2. Activités biologiques des composés phénoliques	6
4.1.3. Les saponines	6
4.1.3.1 Propriétés physicochimiques des saponines	8
4.1.3.2. Propriétés pharmacologiques des saponines	10
4.2. Les sels minéraux	12
4.3. Les vitamines	13
4.3.1. Définitions	14
4.3.2. Les vitamines hydrosolubles	14
4.3.3. Les vitamines liposolubles	14

4.3.3.1. Importance biomédicale	14
4.3.3.2. Structures et fonctions des vitamines liposolubles	16
4.4. Les huiles essentielles	20
4.5. Les protéines	20
4.6. Les tanins	20
4.7. Les anthocyanes	20
4.8. Les coumarines	20
4.9. Les alcaloïdes	21
4.10. Les substances amères	21
<b>Chapitre II : Les flavonoïdes</b>	22
1. Définition	22
2. Structure chimique des flavonoïdes	23
3. Classification	24
3.1. Les flavonols	24
3.2. Les flavanones	25
3.3. Les anthocyanes	25
4. Biosynthèse des flavonoïdes	26
5. Les principales plantes riches en flavonoïdes	26
6. Propriétés pharmacologiques des flavonoïdes	29
6.1. Propriétés anti-inflammatoires des flavonoïdes et effets sur le système immunitaire.	29

6.2. Propriétés antivirales	29
6. 3. Propriétés anti-carcinogènes	30
<b>Chapitre III : Généralités sur la luzerne</b>	31
1. Origine et distribution géographique de la luzerne	31
2. Position systématique et présentation de la famille	31
2.1. Position systématique	31
2.2. Présentation de la famille	32
3. Superficies consacrés à la culture de la luzerne	33
3.1. Dans le monde	33
3.2. En Algérie	33
4. Exigences environnementales de <i>Medicago sativa</i>	35
4.1. Le sol	35
4.2. La température	35
4.3. L'hydratation	35
4.4. La luminosité	35
5. Composition chimique de <i>Medicago sativa</i>	35
5.1. Composition nutritionnel	35
5.1.1. Composition en protéines et acides aminés	37
5.1.2. Les lipides	37
5.1.3. Les hydrates de carbone	37

5.1.4. Les fibres	38
5.1.5. Les vitamines	38
5.1.6. Les éléments minéraux	38
5.2. Les substances du métabolisme secondaire	41
5.2.1. Les flavonoïdes	41
5.2.2. Les phytoestrogènes	41
5.2.3. Les saponosides	42
6. Intérêt de <i>Medicago sativa</i>	43
6.1. Utilisations traditionnels	43
6.1.1. Intérêt écologique	43
6.1.2. Intérêt fourrager	44
6.2. Utilisation moderne	44
6.2.1. Intérêt alimentaire	44
6.2.2. Intérêt thérapeutique	44
6.2.2.1. Le rôle des phyto-estrogènes	44
6.2.2.1.1. Les phyto-estrogènes et le cancer	45
6.2.2.1.2. Les phyto-estrogènes et la ménopause	45
6.2.2.2. Le rôle des saponosides	45
6.2.2.3. Action sur la glycémie	45
6.2.2.4. Autres propriétés	45

6.2.2.5. Effets secondaires	46
6.2.2.6. Interactions médicamenteuses	46
7. Toxicité	46
<b>Partie II: Partie pratique</b>	47
<b>Chapitre I : Matériels et méthodes</b>	47
Introduction	47
1. Matériels	48
1.1. Matériel végétal	48
1.1.1. Caractères botaniques de « Medicago sativa	48
1.1.2. Stations de récolte	49
1.1.3. Séchage et pulvérisation	51
1.2. Matériel microbiologique	52
2. Méthodes d'étude	53
2.1. Effets de la nature du sol sur les caractères physicochimiques des flavonoïdes	53
2.1.1. Caractères physico-chimiques des sols	53
2.1.1.1. Texture	53

2.1.1.2. Matière organique	54
2.1.1.3. pH eau	56
2.1.1.4. pH KCl	56
2.1.1.5. Conductivité électrique	57
2.1.1.6. Dosage du calcaire total	58
2.1.2. Mise en évidence de quelques métabolites secondaires	59
2.1.2.1. Recherche des anthocyanes	59
2.1.2.2. Recherche des leuco-anthocyanes	59
2.1.2.3. Recherche des flavonoïdes	59
2.1.3. Procédé d'extraction des flavonoïdes	59
2.1.3.1. Principe du système d'extraction au Soxhlet	59
2.1.3.2. Méthode d'extraction	60
2.1.4. Détermination du rendement	61
2.1.5. Analyse de la composition chimique des flavonoïdes par chromatographie sur couche mince (CMM)	63
2.1.5.1. Principe de la CCM	63
2.1.5.2. Méthode d'analyse	64
2.1.5.3. Détermination des rapports frontaux	65
2.2. Etude de l'activité antibactérienne	66
2.2.1. Antibio gramme	66

2.2.1.1. Solutions à tester	66
2.2.1.2. Milieu de culture utilisé	66
2.2.1.3. Préparation des inoculums	67
2.2.2. Test d'activité antibactérienne	67
<b>Chapitre II : Résultats et discussion</b>	69
1. Caractères physico-chimiques des sols du prélèvement	69
2.1. Recherche des anthocyanes	70
2.2. Recherche des leuco-anthocyanes	70
2.3. Recherche des flavonoïdes	71
3. Détermination du rendement	72
4. L'analyse de la composition chimique des flavonoïdes par CCM	74
5. Etude de l'activité antibactérienne	79
<b>Conclusion et perspectives</b>	
<b>Résumés</b>	
<b>Références bibliographiques</b>	

# *Introduction*

## *Introduction*

## *Introduction*

Depuis la nuit des temps, les humains apprécient les vertus apaisantes et analgésiques des plantes (*Anonyme 5, 2008*). Aujourd'hui, les traitements à base de plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments décroît, les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leurs résistent de plus en plus. C'est pourquoi on utilise la phytothérapie qui, sur la base des molécules naturelles souvent associées aux traitements classiques propose des remèdes bien acceptés par l'organisme.

Notre travail constitue dans ce cadre une modeste contribution à la valorisation des plantes médicinales. Nous nous sommes intéressés à l'étude de « *Medicago sativa* » dont la richesse en composés chimiques lui donne des propriétés exceptionnelles qui lui permettent d'être classée parmi les plantes à effets thérapeutiques.

La luzerne cultivée ou *Medicago sativa* a fait l'objet de plusieurs travaux publiés sur particulièrement leur utilisation fourragère et leur capacité à fixer l'azote atmosphérique. Pour cette raison, elle est cultivée pour les besoins agricoles, son application en thérapeutique demeure rare ou même inconnue.

Notre étude réalisée sur cette espèce portera aussi bien sur l'aspect quantitatif et qualitatif d'un groupe de substances actives « les flavonoïdes » extraites des feuilles de « *Medicago sativa* » cultivée sur quatre sols de nature différente, que sur leur activité biologique.

Dans un premier temps, après l'étude physico-chimique des sols, nous essayerons de déterminer l'impact de la nature de ce facteur édaphique sur le rendement en flavonoïdes. Puis après séparation des molécules par chromatographie sur couche (C.C.M.), nous analyserons les effets sur le nombre et la qualité de leurs composants chimiques.

Dans un deuxième temps, des tests microbiologiques réalisés sous forme d'antibiogramme, nous permettront d'évaluer et de comparer sur une douzaine de souches bactériennes de type Gram<sup>+</sup> et Gram<sup>-</sup> responsables de l'infection chez l'homme, l'activité antibactérienne de deux solutions obtenues à partir des feuilles de « *Medicago sativa* ».

Partie I  
**Partie I**  
Etude bibliographique  
**Etude bibliographique**

# Chapitre I

## Chapitre I

### Le développement de la phytothérapie

## **1. Définition de la phytothérapie**

La phytothérapie (phyto : plante, thérapie : traitement) : C'est un traitement de diverses maladies par l'action des principes actifs de certaines plantes (*Boullard, 2002*). On doit la considérer comme la thérapeutique utilisant les plantes ou les formes immédiatement dérivées des plantes excluant les principes d'extraction purs. La phytothérapie est une médecine naturelle au service de l'homme entité naturelle, respectueuse de sa biologie et de son écologie interne (*Duraffourd et Lapraz, 1998*).

## **2. Les plantes médicinales depuis l'Antiquité**

A mesure que le commerce prospère et que l'intérêt pour les plantes médicinales et les épices croît, plusieurs auteurs classent les plantes de manière systématique en fonction de leurs vertus thérapeutiques :

Des travaux **d'Hippocrate (460-377 av.J-C) et Galien (v 131-200)** ont été élaborés pour donner une théorie dite « des quatre humeurs ».

**En Chine au 1<sup>er</sup> siècle ap.J-C**, le Shen' nong Bencaojing, proposait 364 références et 252 de remèdes à base de plantes.

**Un médecin grec du nom de Dioscoride** est l'auteur du premier herbier rédigé en Europe : de materia medica, cet ouvrage qui recense environ 600 plantes a eu une influence considérable sur la médecine occidentale. Il reste la référence principale en Europe jusqu'au 17<sup>ème</sup> siècle et a été traduit dans plusieurs langues européennes, en Hébreu et en Perse.

**En Inde, le 7<sup>ème</sup> siècle** constitue un véritable âge d'or pour la médecine. Des milliers d'élèves étudient l'Ayurveda (la médecine Ayurveda).

L'épanouissement de **la culture arabe entre le 7<sup>ème</sup> et 15<sup>ème</sup> siècle** a favorisé la préservation et le développement des acquis de la culture grecque puis romaine. Les arabes mélangeaient les plantes pour en accroître les effets et en améliorer le goût. Grâce à leur contact avec les traditions chinoises et hindoues, ils ont largement développé leur connaissance médicale.

**Avicenne (980-1073)** auteur d'un canon de médecine, fut le plus célèbre médecin de l'époque.

**Paracelse (1493-1541)** a rejeté les théories de Galien et contrôlé les dosages, prétendant que la toxicité des plantes ne dépend que de leur dosage.

**A partir du 15<sup>ème</sup> siècle**, la croissance des échanges a multiplié le nombre de plantes nouvelles disponibles en Europe. Ces plantes aux effets thérapeutiques et nourrissants sont vendues par les apothicaires.

Toutefois, le fait le plus marquant demeure, semble-t-il l'introduction en **Espagne un siècle** plutôt d'une racine de gensing (*Panax gensing*) originaire de Chine, qu'un intrépide navigateur arabe du nom **Ibn Cordoba** rapporta d'Extrême-Orient. Cette précieuse plante tonifiante est régulièrement importée en Europe depuis 16<sup>ème</sup> siècle.

**Le docteur Withering W. (1741-1799)**, publia en 1785 un rapport sur la digitale pourprée, dans lequel il démontre comment les puissants principes actifs de cette plante connus de nos jours sous le terme d'Hétérosides cardiotoniques, sont efficaces contre la rétention d'eau. **A la fin du 18<sup>ème</sup> siècle**, le commerce de l'herboristerie commence à être réglementé. **Dans la seconde moitié du 19<sup>ème</sup>**, la médecine moderne tente d'établir son monopole. En France le diplôme d'herboristerie a été supprimé en 1941. Il subsiste une liste restreinte de 34 plantes pouvant être vendues librement dont 7 pouvant être mélangées.

**A partir de 1945**, dans de nombreux pays, des organismes officiels détiennent le monopole de l'exercice de la médecine. En dépit des résultats spectaculaires obtenus, la médecine conventionnelle connaît aussi des échecs (l'affaire de la thalidomide en 1962). Les effets secondaires catastrophiques provoqués par les médicaments sophistiqués changent radicalement l'opinion au sujet de la phytothérapie.

Les recherches confirment la connaissance traditionnelle. Les phytothérapeutes actuels ont toutefois un avantage sur leurs aînés, ils comprennent mieux comment la plante agit sur l'organisme et peuvent établir des dosages très précis qui prennent en compte les éventuels effets secondaires et savent sous quelle forme administrer les plantes.

### 3. Place des plantes médicinales dans les thérapeutiques

La préparation des médicaments à base des plantes est l'une des conditions indispensables du succès des soins primaires de santé. Les plantes sont depuis toujours une source habituelle de remèdes sous forme de préparations traditionnelles ou de principes actifs purs. Donc il est possible d'ajouter les plantes ou les extraits végétaux à la liste des médicaments ou même de remplacer certaines préparations pharmaceutiques.

Selon l'OMS (1986) 25% des médicaments prescrits achetés dans les pharmacies comportaient des extraits des plantes ou des principes actifs préparés à partir des végétaux supérieurs (Tableau1).

**Tableau 1 :** Les différents médicaments d'origine végétale (*Scimeca et Tétou ,2005*)

Médicaments	Plantes originaires
La morphine (antalgique majeur)	L'opium, sucre du bavant blanc
L'aspirine	Le saule blanc
La quinine (anti-malarique universel)	Le quinquina
Le taxotère et la vincristine (anticancéreux)	L'if et de la pervenche de Madagascar
La digitaline (cardiotonique indispensable)	La digital
Les antibiotiques	Des micro-champignons (Penicillium)

#### **4. Les substances naturelles actives**

Les substances extraites à partir des végétaux ont des intérêts multiples : en alimentation, en cosmétologie et en dermopharmacie. « Les métabolites secondaires » sont les composés les plus utilisés en phytothérapie.

On peut synthétiser plusieurs composés avec la plante entière ou seulement une partie de la plante qui se différencient par :

- Leurs caractéristiques physiques
- Leurs aspects
- Leur concentration en principes actifs
- Leurs propriétés organoleptiques
- Leurs méthodes de préparation
- Parfois par leurs propriétés pharmacologiques
- Leur utilisation.

##### **4.1. Les polyphénols**

Les polyphénols jouent le rôle d'une arme de défense dans le règne végétale. Selon Bahorun (1997), il existe trois catégories des polyphénols :

- Les flavonols ou flavonoïdes qui sont des colorants jaunes
- Les anthocyanes qui sont des colorants rouges
- Les catéchines qui sont incolores.

Ces substances actives sont largement utilisées en thérapeutiques comme : Vasculoprotecteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, anti-oxydants et anti-radicaux, dont les plus efficaces sont les flavonoïdes et les pranthocyanidines. On trouve les polyphénols en quantités différentes selon les espèces :

- Quantité importante dans les légumes à feuilles (choux, épinard, laitues...).
- Moindre quantité dans les oignons, les fruits (cassis, cerises, prunes, pommes,...) et dans certaines boissons (jus de fruits, thé, cidre,...).

Les polyphénols sont probablement les composés naturels les plus répandus dans la nature. Ils jouent un grand rôle dans la qualité nutritive et hygiénique des aliments. Certains d'entre eux ont des propriétés vitaminiques utilisées par l'industrie pharmaceutique. Ils interviennent également dans la digestibilité des aliments et dans l'utilisation physiologique des protéines avec lesquelles les tanins se combinent (*Bahorun, 1997*).

#### **4.1.1. Classification des composés phénoliques**

Les composés phénoliques regroupent un vaste ensemble de substances chimiques comprenant au moins un noyau aromatique, et un ou plusieurs groupes hydroxyles, en plus d'autres constituants. Les polyphénols naturels sont des molécules simples, comme les acides phénoliques, à des composés hautement polymérisés comme les tanins. Il existe différentes classes de polyphénols, notamment les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les stilbènes, les lignanes, les saponines, les phytostérols ou bien phytostanols (Figure 1). Les plus importants sont les acides phénols, les flavonoïdes et les tanins.

#### **4.1.2. Activités biologiques des composés phénoliques**

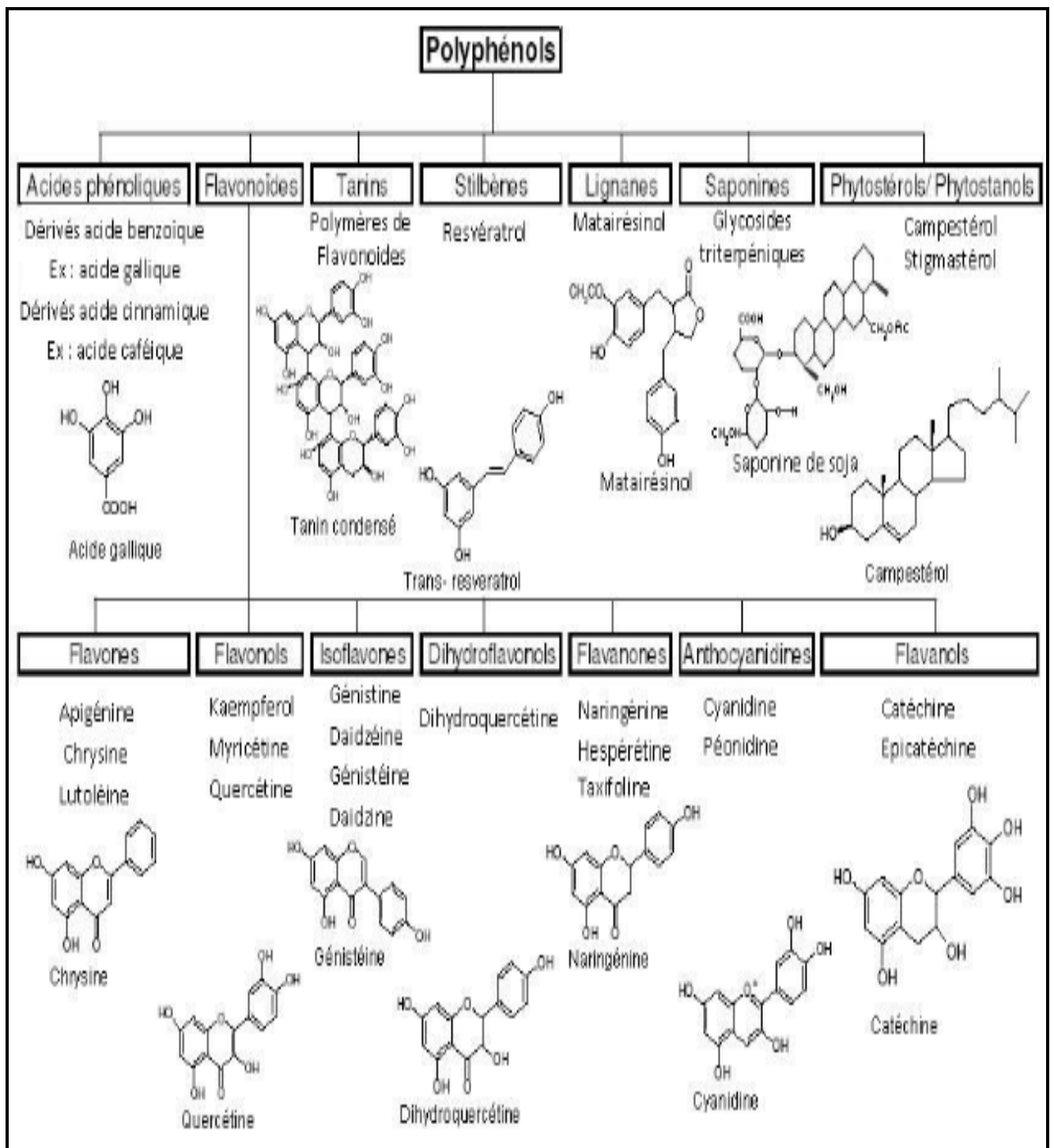
La relation entre le métabolisme phénolique et le programme général de développement de l'organisme végétal pose en elle-même la question d'un rôle éventuel de ces substances. Des travaux plus anciens ont montré que les phénols seraient associés à des nombreux processus physiologiques: croissance cellulaire, différenciation organogène, dormance des bourgeons, floraison et tubérisation.

Les composés phénoliques des végétaux constituent un groupe d'une extrême diversité et c'est pour cela ils ont plusieurs activités selon leur voie métabolique (Tableau 2).

#### **4.1.3. Les saponines**

Ce sont des composés naturels dont la structure est d'hétérosides (glucides), de stérols ou de triterpènes, très abondants dans les végétaux.

Les saponines sont des substances tensio-actifs, qui forment des solutions colloïdales et font apparaître de la mousse comme le savon (en latin: *sapo* signifie savon).



**Figure 1** : Les différentes classes des composés phénoliques

**Tableau 2 :** Les différentes activités des polyphénols ( *Bahorun, 1997*)

<b>Polyphénols</b>	<b>Activités</b>
Acide phénols (cinnamique et benzoïque)	Anti-bactériennes, anti-fongiques et anti-oxydantes
Coumarines	Protectrices vasculaires et anti-oedemateuses
Flavonoïdes	Anti-tumorale, anti-carcinogènes, anti-inflammatoires, hypotenseurs, diurétiques et anti-oxydantes
Anthocyanes	Protectrices capillaro-veineuses
Pranthocyanidines	Effets stabilisants sur le collagène, anti-oxydantes, anti-tumorales, anti-fongiques et anti-inflammatoires.
Tannins galliques et catéchiques	Anti-oxydantes

#### **4.1.3.1. Propriétés physicochimiques des saponines**

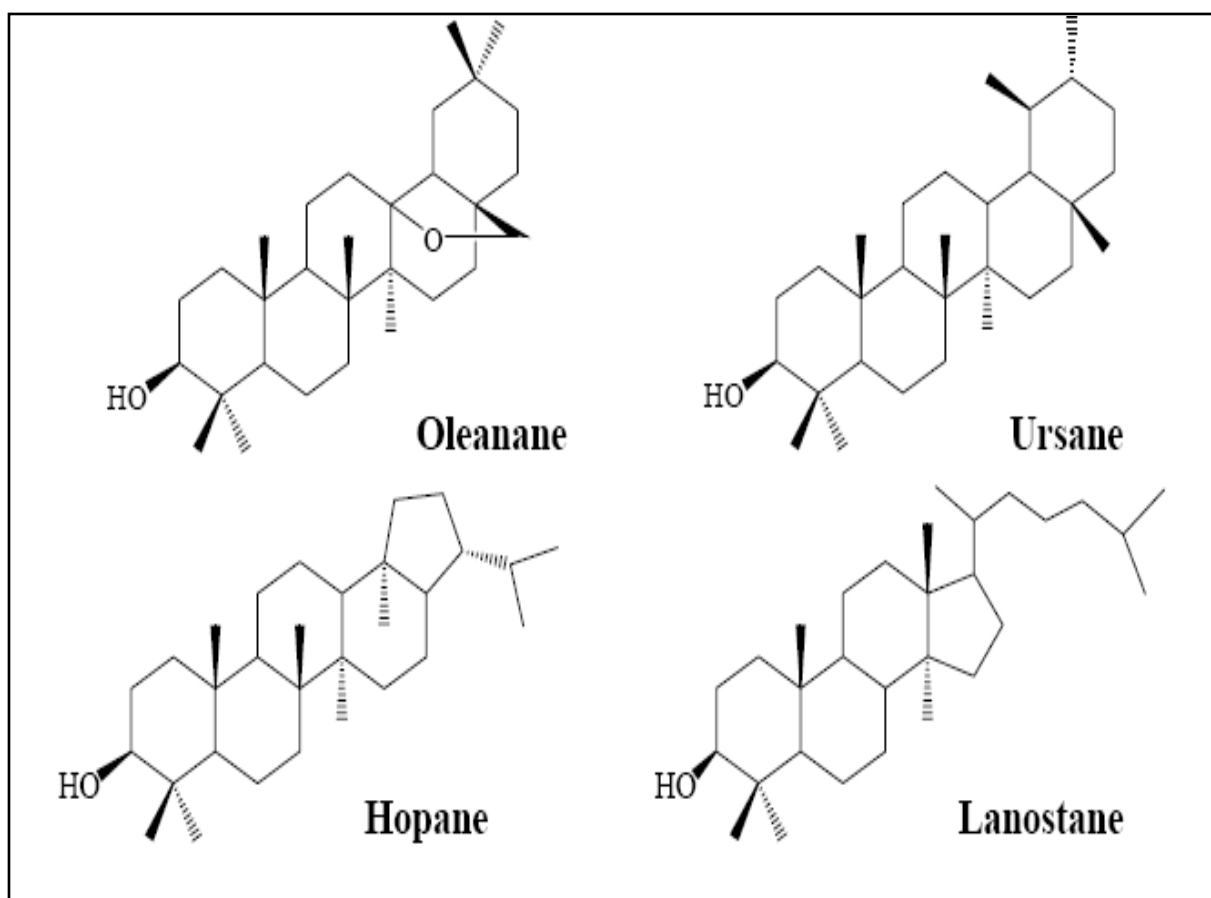
Les saponines sont formées par deux parties:

- Une partie osidique comprenant une, deux à trois chaînes de sucres ; parmi les sucres les plus connus et qui sont attachés aux génines des saponines on cite, le D-glucose, D-galactose, D-xylose, D-ribose, D-rhannose et l'acide uronique, l'acide D-glucuronique.
- Une partie aglycone dont on distingue deux classes, les saponines triterpéniques et les saponines stéroïdiques.

- **Les saponines triterpéniques**

La plupart des saponines végétales appartiennent à cette classe. Elles sont très abondantes chez les dicotylédones.

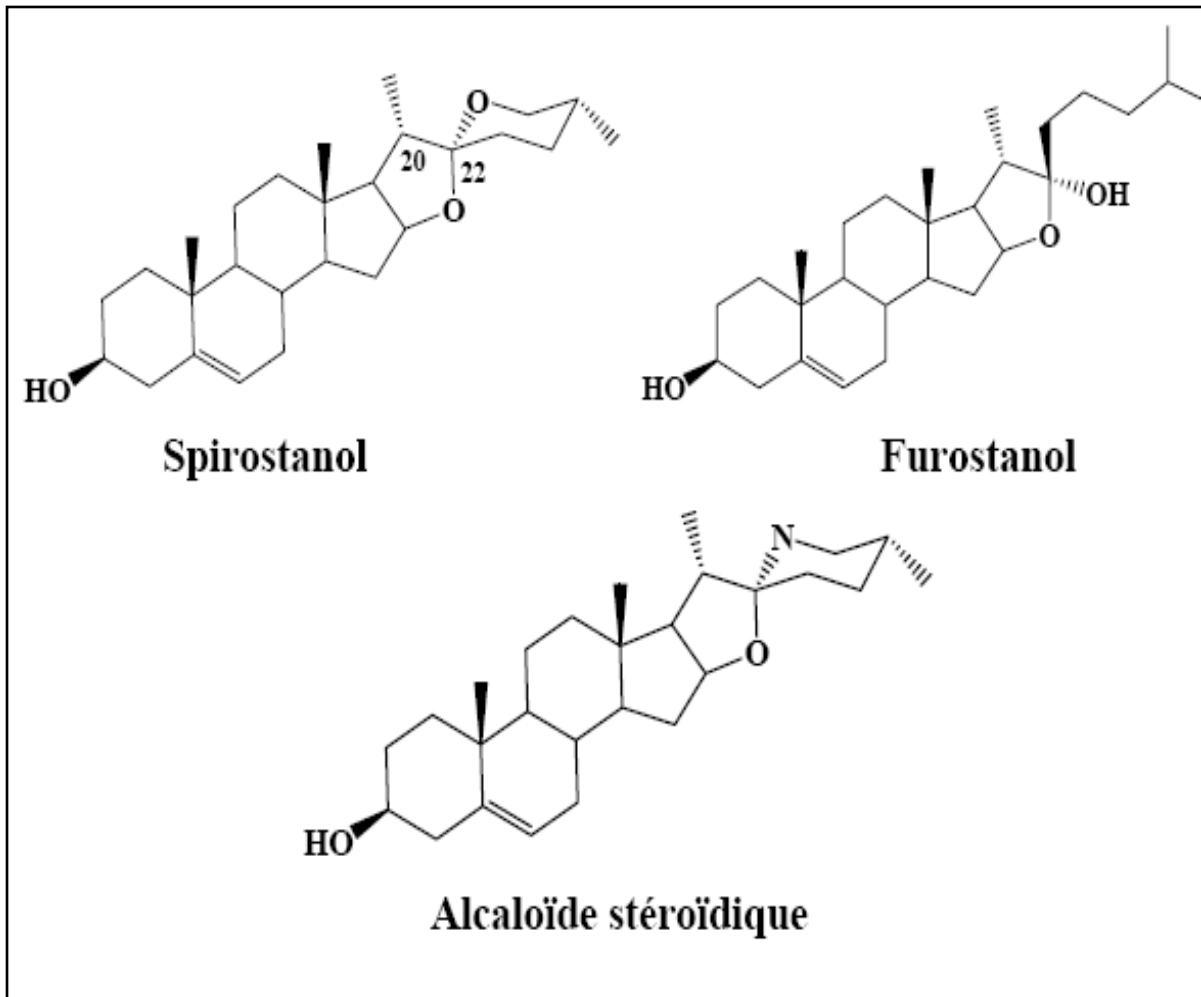
La majorité des génines triterpéniques sont des molécules pentacycliques : oleanane, ursane, hopane et plus rarement tétracyclique : lanostane (Figure 2).



**Figure 2** : Structures chimiques des saponines triterpéniques

- **Les saponines stéroïdiques**

Les composés de cette classe sont principalement présents chez les monocotylédones. Ils sont classés en hétérosides de spirostanales, hétérosides de furostanols et hétérosides d'amines stéroïdiques (pseudo-alcaloïdes) (Figure 3).



**Figure 3 :** Structures chimiques des saponines stéroïdiques

#### 4.1.3.2. Propriétés pharmacologiques des saponines

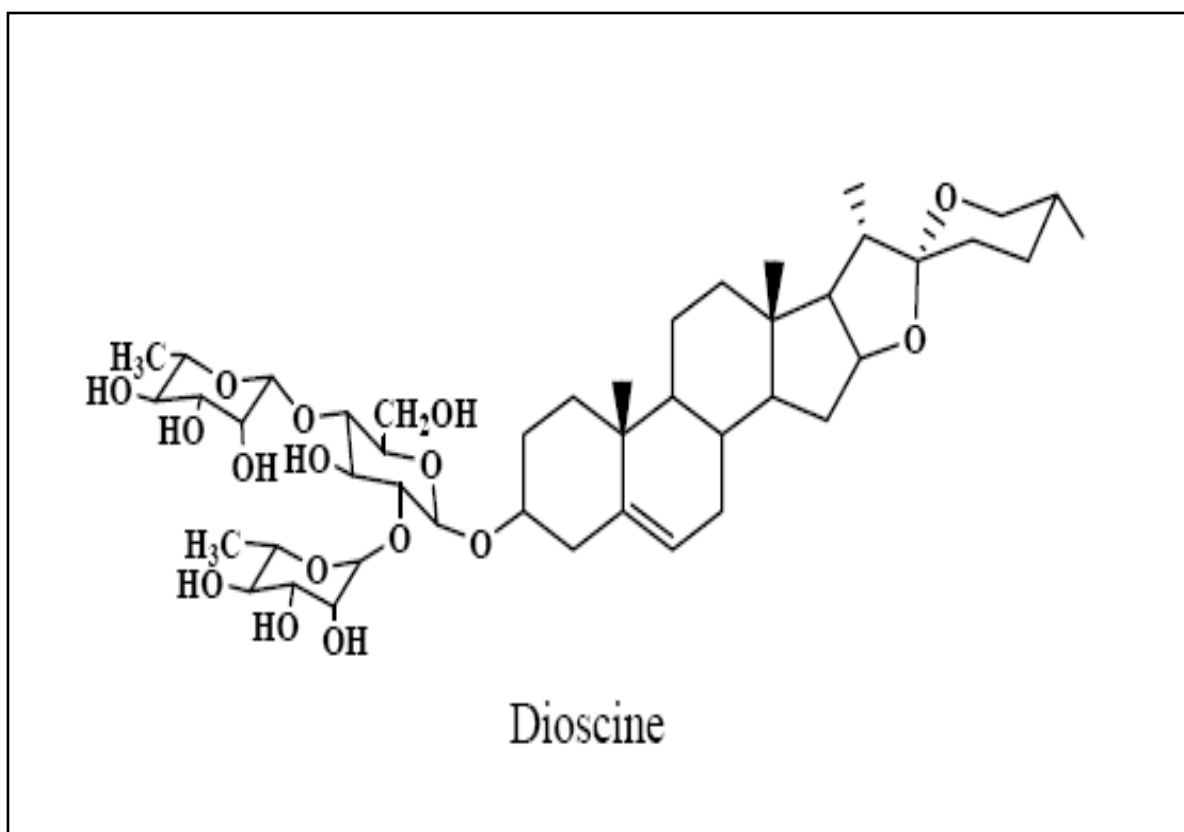
Les saponines jouent un rôle pharmacologique très important. Elles sont caractérisées par leur fort pouvoir hémolytique lié à la nature de la génine et du nombre des unités osidiques.

Elles sont connues par leur action anti-fongique qui est plus efficace chez les saponines à génine stéroïdiques que les saponines à génine triterpéniques.

La majorité des saponines possèdent des propriétés cytotoxiques et anti-tumorales. Elles sont toxiques à l'égard des animaux à sang froid, surtout les poissons.

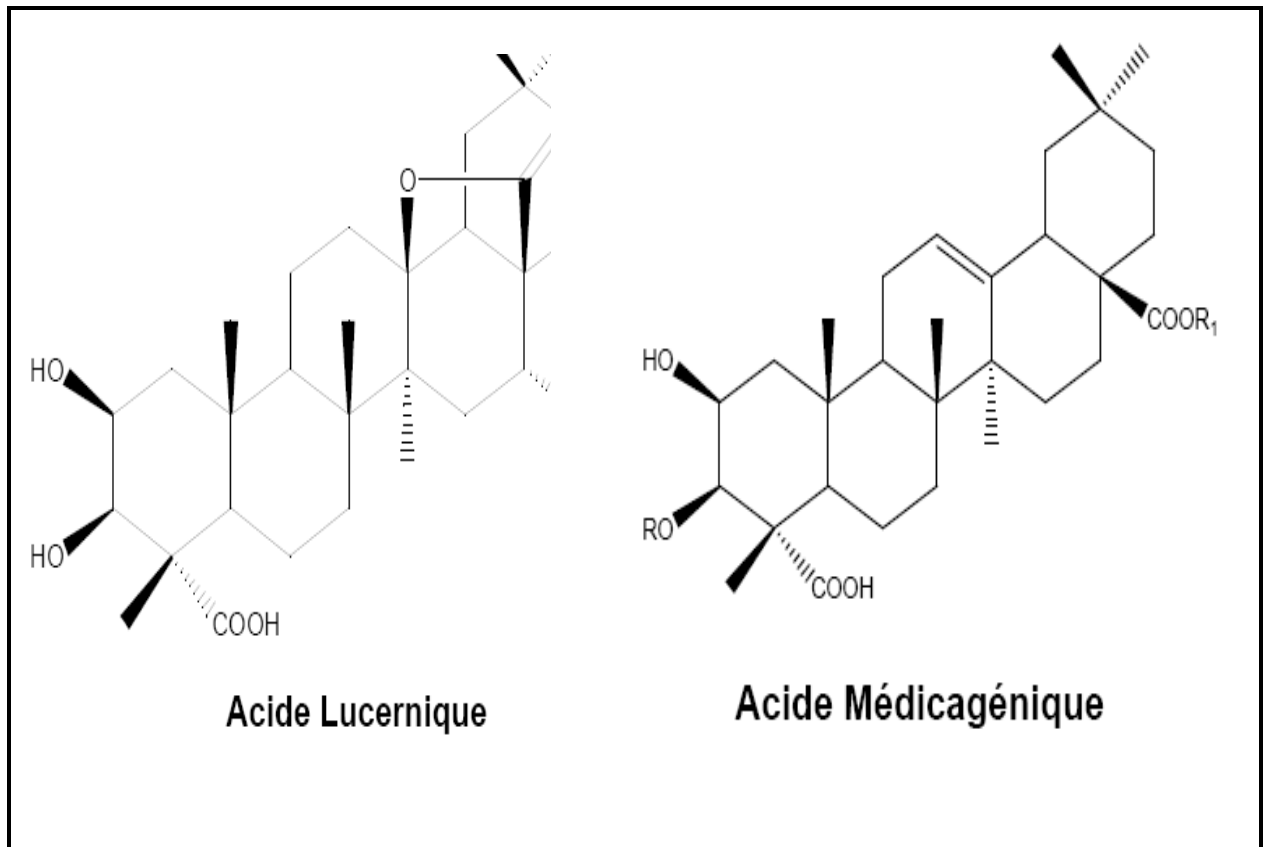
Parmi les saponines connues pour leurs propriétés médicinales importantes on peut citer:

- La Dioscine (saponine à génine stéroïdiques); trouvée dans certains légumes. Elle est connue pour son activité anti-fongique et anti-tumorale (Figure 4).



**Figure 4 :** Structure chimique de la Dioscine

- L'acide medicagéniques et l'acide luzernique , trouvés dans certaines variétés de la luzerne (Figure 5).



**Figure 5 :** Les saponines de certaines variétés de la luzerne

#### 4.2. Les sels minéraux

Les sels minéraux sont les principaux constituants de l'organisme. Parmi les minéraux indispensables, on cite :

##### 4.2.1. Le Sodium

C'est le principal cation du secteur extracellulaire, en cas de carence sévère, le rein est capable de le réabsorber.

##### 4.2.2. Le Potassium

C'est le principal cation intracellulaire. L'excrétion est surtout rénale. Les apports doivent être augmentés en cas de pertes digestives, de fuites rénales, lors d'un régime hyposodé sévère, et en période de croissance.

#### **4.2.3. Le Calcium**

C'est le minéral le plus abondant dans l'organisme, il est essentiellement dans l'os.

#### **4.2.4. Le Phosphore**

Comme le calcium le Phosphore est également abondant dans l'organisme, il est essentiellement dans l'os.

#### **4.2.5. Le Sélénium**

C'est un agent anti-oxydant.

#### **4.3.6. Le Manganèse**

C'est un cofacteur de certaines enzymes (aminopeptidase, arginase).

#### **4.3.7. Le Chrome**

Semble jouer un rôle dans le métabolisme glucidique.

#### **4.2.8. Le Molybdène**

C'est un constituant de la xanthine oxydase.

#### **4.2.9. Le Soufre**

Il est très répandu dans l'organisme, le soufre est présent dans certains acides aminés (cystéine, cystine, méthionine) et de nombreuses protéines. Il a un rôle de détoxification grâce à des sulfoconjugaion.

#### **4.2.10. Le Fer**

C'est le principal constituant de l'hémoglobine, il est indispensable à notre système immunitaire. Le Fer est très important pour la croissance, la grossesse et l'allaitement.

### **4.3. Les vitamines**

#### **4.3.1. Définition**

Les vitamines sont des composés chimiques jouant un rôle essentiel dans le métabolisme naturel et la santé (*Waugh et Grant , 2007*).

Elles sont nécessaires à l'état de traces pour assurer les fonctions cellulaires. On distingue :

- Les vitamines hydrosolubles (vitamine : B, PP et C)
- Les vitamines liposolubles (Vitamines A, D, E et K)

#### **4.3.2. Les vitamines hydrosolubles**

Les sources végétales des vitamines hydrosolubles sont très diversifiées, on les trouve à des taux variables dans les légumes, les céréales et les fruits. Leur carence ou absence dans l'alimentation est la principale cause de plusieurs maladies (Tableau 3).

#### **4.3.3. Les vitamines liposolubles**

##### **4.3.3.1. Importance biomédicale**

Les affections qui perturbent la digestion et l'absorption des vitamines liposolubles comme la stéatorrhée et les maladies du système biliaire, permettent tous d'entraîner des carences. Une ration alimentaire inadaptée ou bien des carences secondaires à une malabsorption provoquent des syndromes dus au fait que ces vitamines ne peuvent plus remplir leurs fonctions physiologiques, à savoir :

- Une cécité nocturne et une xérophtalmie en cas de carence en vitamine A.
- Le rachitisme chez le jeune enfant et l'oostéomalacie chez l'adulte en cas de déficit en vitamine D.
- Des troubles neurologiques et une anémie chez les nouveau-nés peuvent apparaître en cas de carence en vitamine E.

La vitamine A et le  $\beta$  carotène, appelé aussi provitamine A, ainsi que la vitamine E sont des anti-oxydants, leur rôle dans la prévention de l'athérosclérose et du cancer a été attribuée à ces propriétés anti-oxydantes (*Granner et Rdwell , 2004*).

**Tableau 3 : Fonctions et effets des vitamines hydrosolubles**

Vitamines	Noms chimiques	Sources végétales	Fonctions	Effets du déficit
B <sub>1</sub>	Thiamine	Germes des céréales, noix, légumineuses, polissures du riz, légumes	Métabolisme d'hydrate de carbone et nutrition de cellules nerveuses	Fatigue générale et perte du tonus musculaire, bérébéri finalement, arrêt de la croissance
B <sub>2</sub>	Riboflavine	Légumes verts	Métabolisme des hydrates de carbone et des protéines et maintien en bonne santé de la peau.	Stomatite angulaire, dermatite.
B <sub>6</sub>	Pyridoxine	Légumes, céréales, fèves.	Métabolismes protéiques	Très rare
B <sub>9</sub>	Acide folique	Légumes verts foncés.	Synthèse de l'ADN, développement normal de la moelle spinale au début de la grossesse.	Anémie, incidence accrue des spina bifida.
PP	Niacine (acide nicotinique)	Légumineuses, céréales du pain complet.	Nécessaire à la respiration cellulaire, inhibe la production de cholestérol	Le déficit prolongé entraîne la pellagre c'est-à-dire : dermatite, diarrhée démence.
B <sub>5</sub>	Acide pantothénique	Légumes frais.	Intervient dans le métabolisme des acides aminés.	inconnus
B <sub>8</sub>	Biotine	Légumineuses, noix.	Métabolismes des hydrates de carbone et des lipides.	Dermatite, hypercholestérolémie.
C	Acide ascorbique	Citron, groseille, baies, légumes verts, pommes de terre.	Formation du collagène, maturation des globules rouges, anti-oxydant.	Hémorragies multiples, cicatrisation lente des plaies, anémie, scorbut en cas de déficit important.

#### 4.3.3.2. Structures et fonctions des vitamines liposolubles

Les vitamines liposolubles (solubles dans les lipides), sont des dérivés isoprènes apolaires, hydrophobes très abondantes dans les légumes verts. Leur absorption n'est efficace que si les lipides sont normalement absorbés. Une fois absorbées, elles doivent être transportées dans le sang comme tout autre lipide apolaire, dans les lipoprotéines ou bien attachées à des protéines de transports spécifiques (*Granner et Rodwell , 2004*).

##### ➤ La vitamine A (le rétinol)

La vitamine A ou rétinol est un composé polyisoprénique qui contient un noyau cyclohexényle (figure 6). Elle est stockée principalement sous forme d'ester de rétinol dans le foie, dans l'organisme les principales fonctions de la vitamine A sont effectuées par le rétinol et ses deux dérivées, le rétinol et l'acide rétinoïque.

##### ➤ La vitamine D

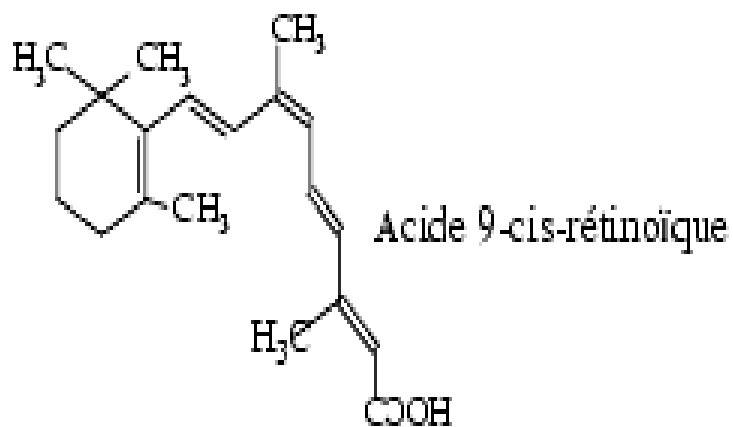
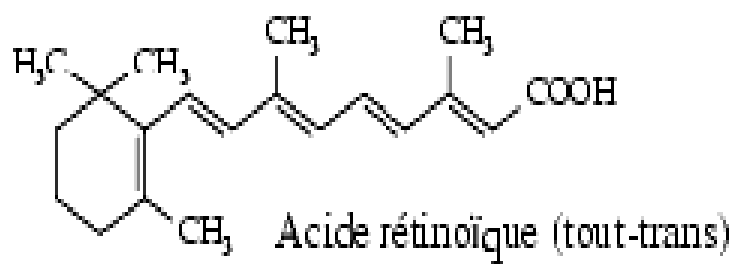
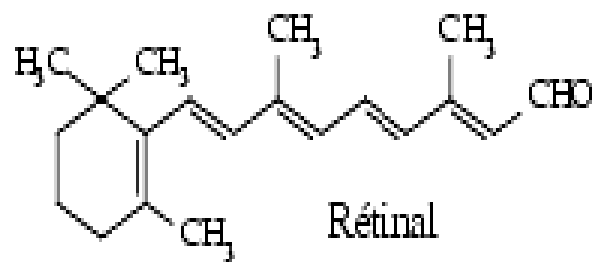
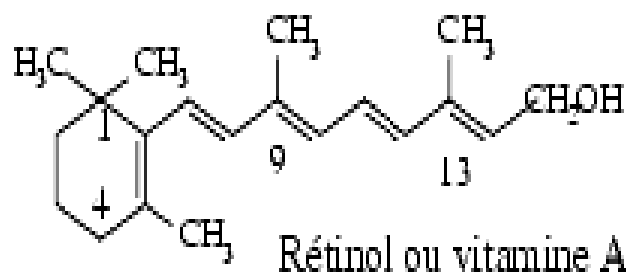
La vitamine D est une prohormone stéroïde. Elle est représentée par des stéroïdes qu'on trouve chez les animaux, les plantes et les levures. Par différentes transformations métaboliques dans l'organisme (figure7). Ils donnent naissance à une hormone appelée « calcitriol » qui joue un rôle central dans le métabolisme phospho-calcique.

##### ➤ La vitamine E (tocophérol)

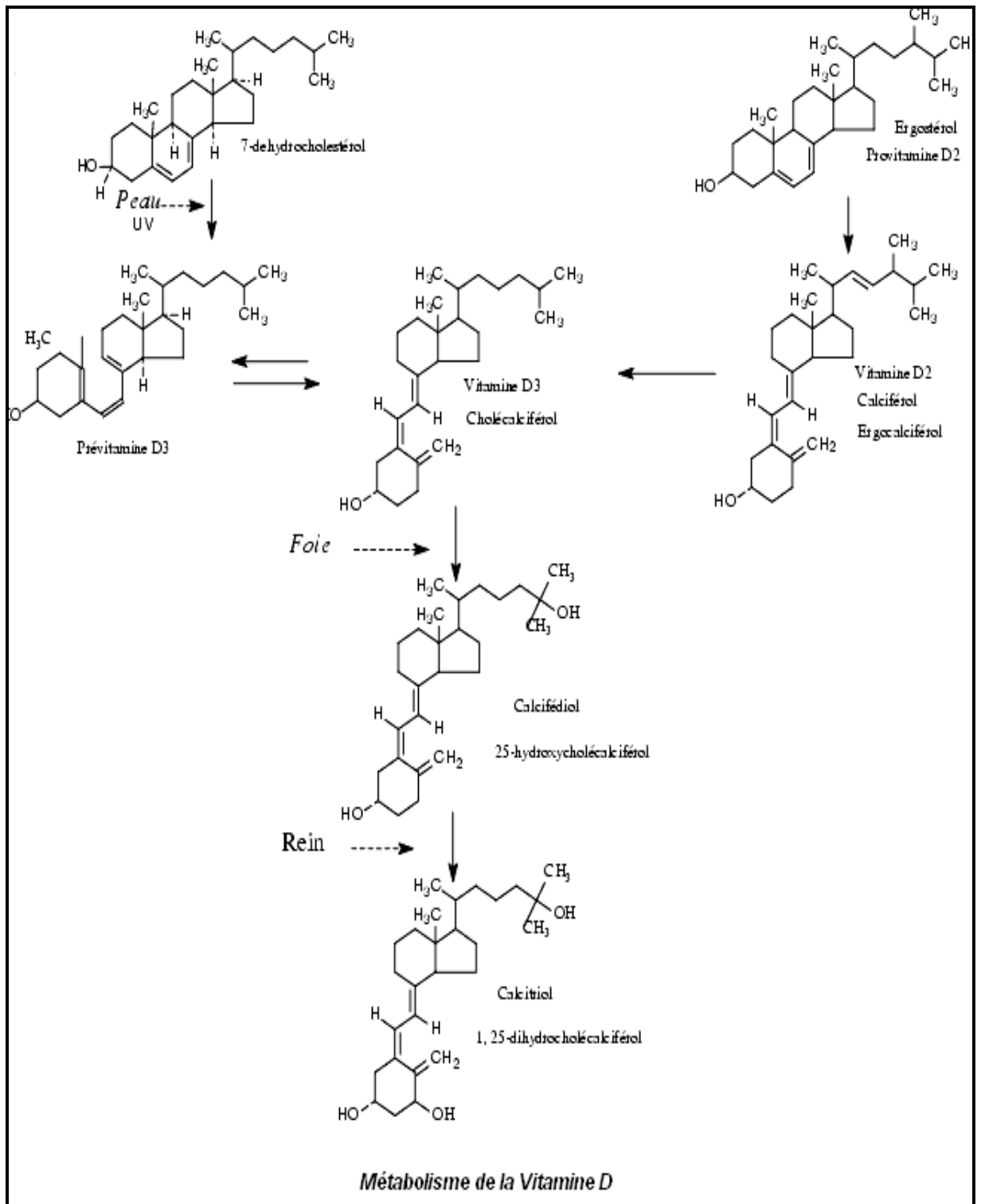
Le terme de vitamine E désigne une famille de substances dont la plus active biologiquement est l' $\alpha$ - tocophérol. Les vitamines E sont constituées d'un noyau 6-chromanol et d'une chaîne latérale isoprenoides de 16 atomes de carbone, dont trois assymétriques ce qui entraîne la possibilité d'existence de nombreux isomères (figure 8). Les aliments les plus riches en vitamine E sont les huiles d'origine végétale.

##### ➤ La vitamine K

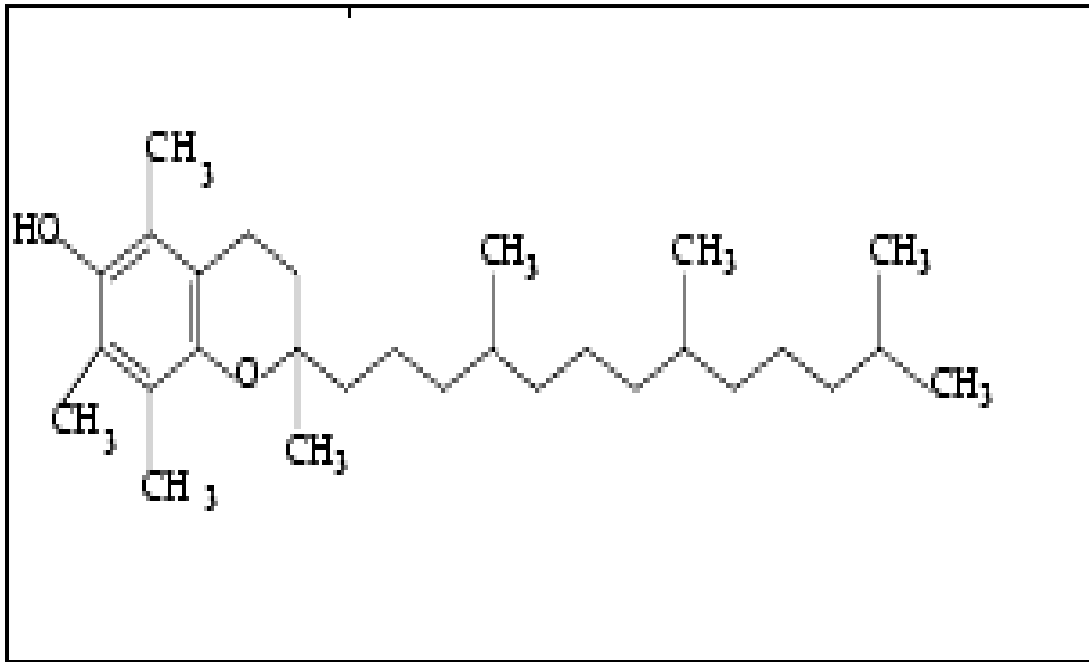
Les vitamines qui appartiennent au groupe K sont des naphthoquinones substituées par des polyisoprénoides (figure 9). La vitamine K intervient dans le maintien de concentrations normales en facteurs II (prothrombine), VII, IX, et X de la coagulation sanguine, qui sont tous synthétisés dans le foie, sous forme de protéines précurseurs inactives (*Granner et Rodwell , 2003*).



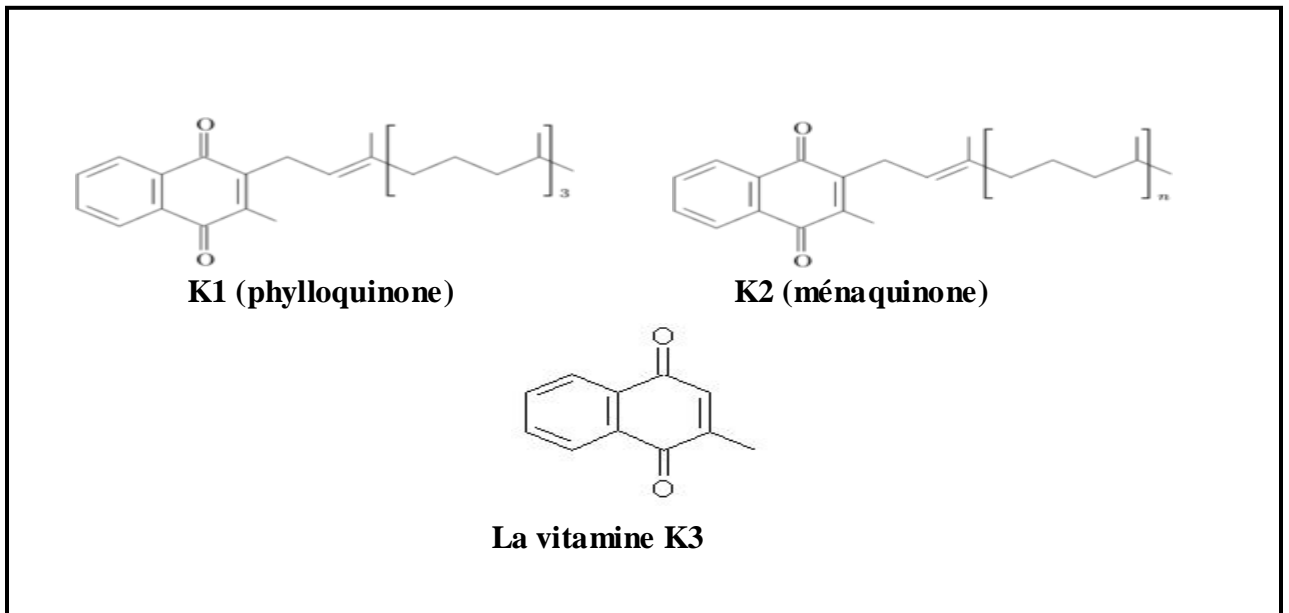
**Figure 6 :** Structure chimique de la rétinol



**Figure 7 :** voie métabolique de la vitamine D



**Figure 8** : Structure chimique de la vitamine E



**Figure 9** : Structures chimiques de la vitamine K

#### **4.4. Les huiles essentielles**

Les huiles essentielles extraites des plantes comptent parmi les plus importants principes actifs des plantes. Elles sont largement employées dans plusieurs domaines. Les huiles essentielles contenues telle quelles dans les plantes sont des composés oxygénés, parfois d'origine terpénoïde et possédant un noyau aromatique. Elles ont de multiples propriétés.

Les huiles essentielles sont à différencier des huiles fixes ou des huiles obtenues par l'hydrolyse des glucosides, comme la chamazulène de la camomille allemande (*Chamomilla recutita*), formées lors de la distillation mais absente de la plante à l'origine. Les résines, substances huileuses collantes qui suintent des plantes, notamment de l'écorce du pin sylvestre (*Pinus sylvestris*), sont souvent liées aux huiles essentielles (oléorésines) et aux gommes comme les polysaccharides.

#### **4.5. Les protéines**

Les protéines apportées par les végétaux sont indispensables pour assurer le renouvellement des acides aminés nécessaires à la synthèse des protéines structurales (constituants des cellules) et fonctionnelles des cellules de l'organisme (enzymes, hormones, hémoglobine,...).

#### **4.6. Les tanins**

Toutes les plantes contiennent des tanins à un degré plus ou moins élevé. Ceux-ci donnent un goût amer à l'écorce ou aux feuilles et les rendent impropres à la consommation pour les insectes ou le bétail. Les tanins sont des composants polyphénoliques qui contractent les tissus en liant les protéines et en les précipitant, d'où leur emploi pour «tanner» les peaux.

Ils permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections. Les plantes riches en tanins sont utilisées pour rendre les tissus souples, comme dans le cas des veines variqueuses, pour drainer les sécrétions excessives, comme dans la diarrhée, et pour réparer les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure.

#### **4.7. Les anthocyanes**

Les anthocyanes sont issus de l'hydrolyse des anthocyanidines (flavonoïdes proches des flavones), qui donnent aux fleurs et aux fruits leur teinte bleue, rouge ou pourpre.

Ces puissants antioxydants nettoient l'organisme des radicaux libres. Ils maintiennent une bonne circulation, notamment dans les régions du cœur, des mains, des pieds et des yeux.

#### **4.8. Les coumarines**

Les coumarines se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses. Les coumarines du mélilot (*Melilotus officinalis*) et du marronnier d'Inde (*Aesculus hippocastanum*) contribuent à fluidifier le sang alors que les furanocoumarines comme le bergaptène, contenu dans le céleri (*Apium graveolens*), soignent les affections cutanées et que la khelline de la khella (*Ammi visnaga*) est un puissant vasodilatateur coronarien.

#### **4.9. Les alcaloïdes**

Formant un groupe très large, les alcaloïdes possèdent presque tous une molécule d'azote qui les rend pharmaceutiquement très actifs. Certains sont des médicaments connus qui ont des vertus thérapeutiques avérées. C'est le cas d'un dérivé de la pervenche de Madagascar (*Vinca rosea* syn. *Catharanthus roseus*) employé pour traiter certains types de cancer.

D'autres alcaloïdes comme l'atropine, présentent dans la belladone (*Atropa belladonna*), ont une action directe sur le corps, activité sédatrice, effets sur les troubles nerveux (maladie de Parkinson).

#### **4.10. Les substances amères**

Les substances amères forment un groupe très diversifié de composants dont le point commun est l'amertume de leur goût. Cette amertume stimule les sécrétions des glandes salivaires et des organes digestifs. Ces sécrétions augmentent l'appétit et améliorent la digestion.

Avec une meilleure digestion et l'absorption des éléments nutritifs adaptés, le corps est mieux nourri et entretenu.

# Chapitre II

## Chapitre II.

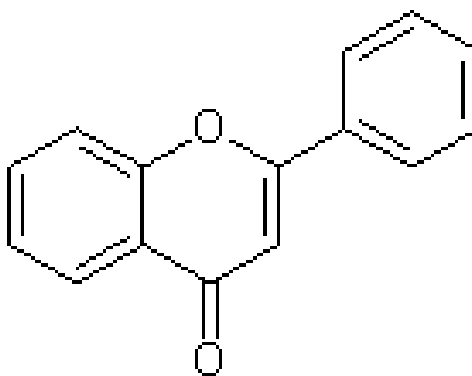
### Les flavonoïdes

## 1. Définitions

Les flavonoïdes (du latin *flavus*, jaune) sont des substances naturelles généralement colorées répandues chez les végétaux. On les trouve dissoutes dans la vacuole à l'état d'hétérosides ou comme constituants des chromoplastes.

Le terme flavonoïdes rassemble une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois). Leur fonction principale semble être la coloration des plantes (au-delà de la chlorophylle, des caroténoïdes et des bétalaines). Ils sont universellement présents dans la cuticule foliaire et dans les cellules épidermiques des feuilles. Ils sont susceptibles d'assurer la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement UV.

Les flavonoïdes sont des dérivés du noyau flavone ou 2-Phenyl Chromone portant des fonctions phénols libres, éthers ou glycosides (figure 10).



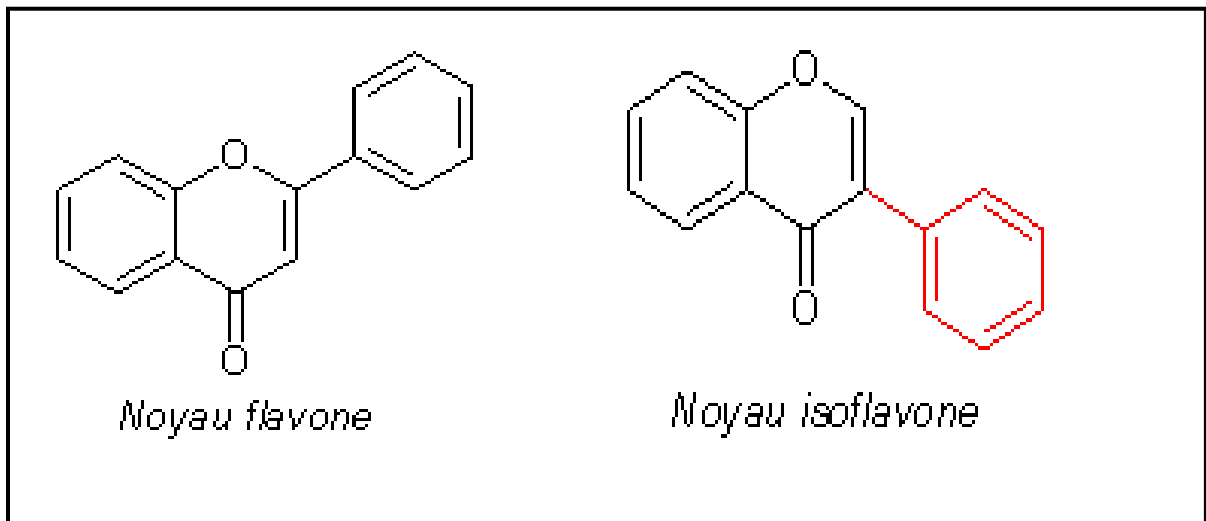
Noyau flavone

**Figure 10** : Noyau flavone

## 2. Structure chimique des flavonoïdes

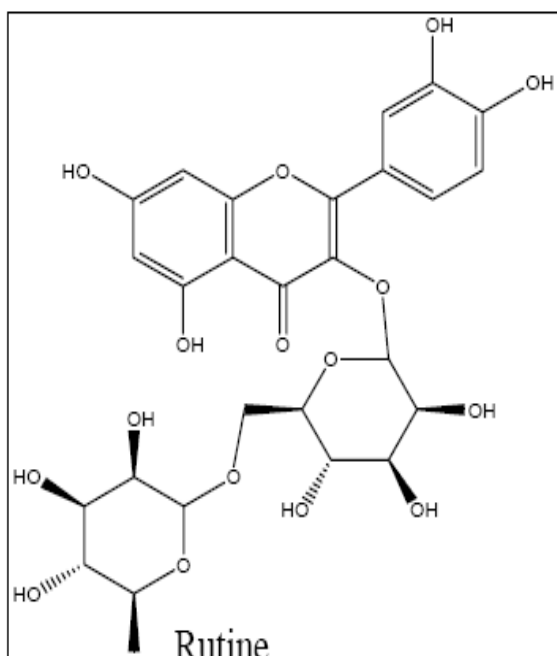
Les flavonoïdes sont des dérivés de génines (figure 11), sur lesquelles sont greffés un ou plusieurs oses : D-glucose, L-rahmnose, glucorhamnose, galactose, arabinose, etc....La liaison génine-ose existe grâce à la réunion, soit d'un hydroxyle phénolique, soit d'un hydroxyle de l'hétérocycle oxygéné, soit d'un -CH avec l'hydroxyle hémiacétalique du génine ou des ose(s). Les positions des substituants hydroxylés et méthoxylés des génines peuvent être très diverses. On obtient ainsi des O-hétérosides et des C-hétérosides ayant chacun des structures qui leur sont propres (figure 12).

Les C-hétérosides semblent intéressants en thérapeutique. La rupture de la liaison Génine-Ose est plus difficile dans le cas des C-hétérosides que dans celui des O-hétérosides.



**Figure 11** : les différentes génines des flavonoïdes

### O-hétéroside



### C-hétéroside

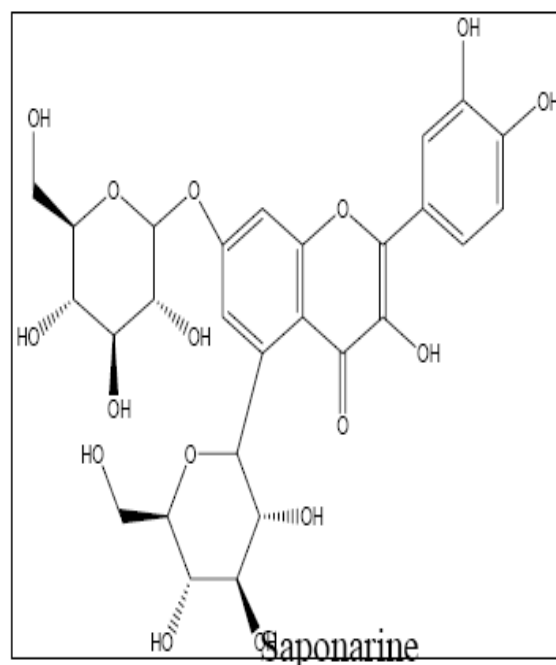


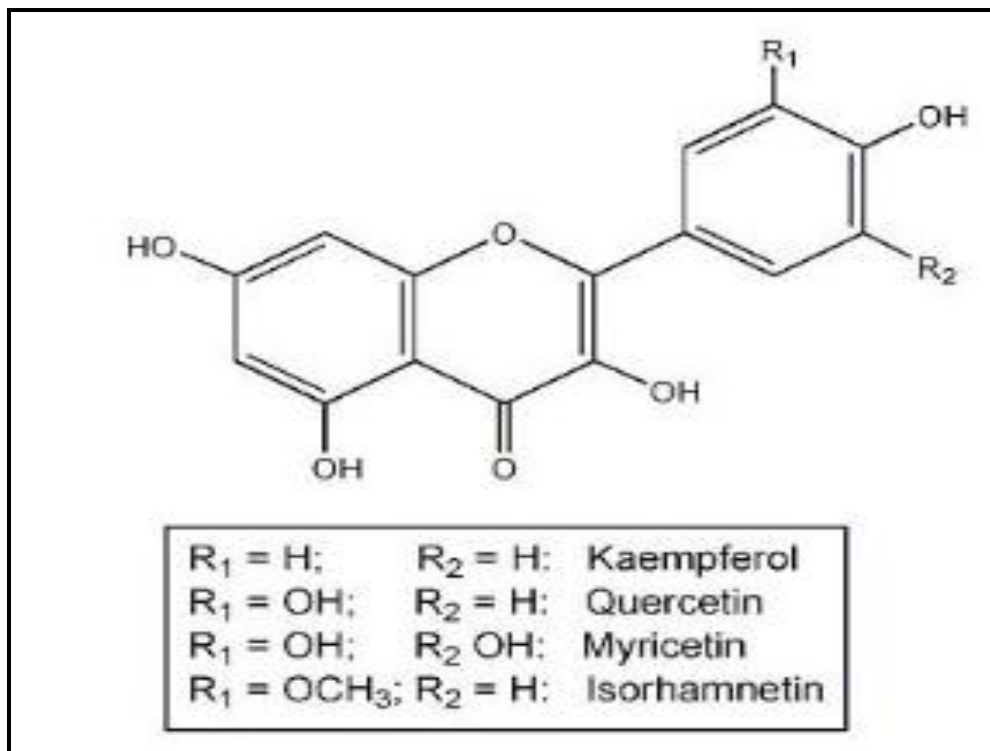
Figure 12 : Les différents hétérosides des flavonoïdes

### 3. Classification

Les flavonoïdes sont classés en trois classes différentes :

#### 3.1. Les flavonols

Les flavonols (hydroxy-3 flavone) sont largement répandus et incolores. Les flavonols qui possèdent en plus des hydroxydes en 6 ou 8 colorent certaines fleurs en jaune. Parmi les flavonols les plus répandus, on trouve le kaempférol (OH en 4', 5, 7), le quercétol (OH en 3', 4', 5, 7) ces deux flavonols sont incolores; le myricétol et l'isorhamétol (figure13).



**Figure. 13:** Structures chimiques de quelques flavonols

### 3.2. Les flavanones

Ces composés ne comportent pas de groupements OH en position 3 et présentent de fortes similitudes de structures avec les flavonols. Dans cette catégorie, il faut ranger les flavonoïdes responsables de la saveur amère de certaines pamplemousses, citrons, oranges et qui sont la naringine (naringéol lié à du glucose et du rhamnose) et l'hespéridine.

### 3.3. Les anthocyanes

Les anthocyanes (du grec *anthos*, fleur et *Kuanos*, bleu violet) terme général qui regroupe les anthocyanidols et leurs dérivés glycosylés (tableau 4). Ces molécules faisant partie de la famille des flavonoïdes et capables d'absorber la lumière visible, sont des pigments qui colorent les plantes en bleu, rouge, mauve, rose ou orange.

**Tableau 4:** Structure de quelques anthocyanidine

Anthocyanidines	R1	R2
R=H		
Malvidine	OCH3	OCH3
Péonidine	OCH3	H
Delphinidine	OH	OH
Pétunidine	OCH3	OH
Cyanidine	OH	H

#### 4. Biosynthèse des flavonoïdes

Elle se fait à partir d'un précurseur commun, la 4, 2', 4', 6'-tétrahydroxychalcone (figure 14). Cette chalcone métabolisée sous l'action d'enzyme, la chalcone isomérase, en naringénine. Sur cette dernière agit la flavone synthase pour donner l'apigénine ou le dihydroflavonol. Le dihydroflavonol, en présence de la flavonol synthase se métabolise en flavonol ou en anthocyanes, en présence de dihydroflavonol réductase se métabolise en tanins condensés.

#### 5. Les principales plantes riches en flavonoïdes

Les flavonoïdes sont rares chez les végétaux inférieurs. Ils sont cependant largement rencontrés dans le règne végétal. On les trouve en abondance dans les familles suivantes : les polygonacées, les apiacées, les rutacées, les astéracées et les fabacées. Leur localisation au sein de la plante est caractéristique, ils se répartissent volontiers dans les organes aériens jeunes (jeunes feuilles, boutons floraux) où ils sont localisés dans les tissus superficiels (assise palissadique). Ils se répartissent aussi volontiers dans les racines. Au niveau cellulaire, on a observé que les flavonoïdes sous forme d'hétérosides sont dissous dans le suc vacuolaire ou localisés dans les chloroplastes et les membranes des végétaux. Dans le monde végétal ils possèdent une large répartition (tableau 5).

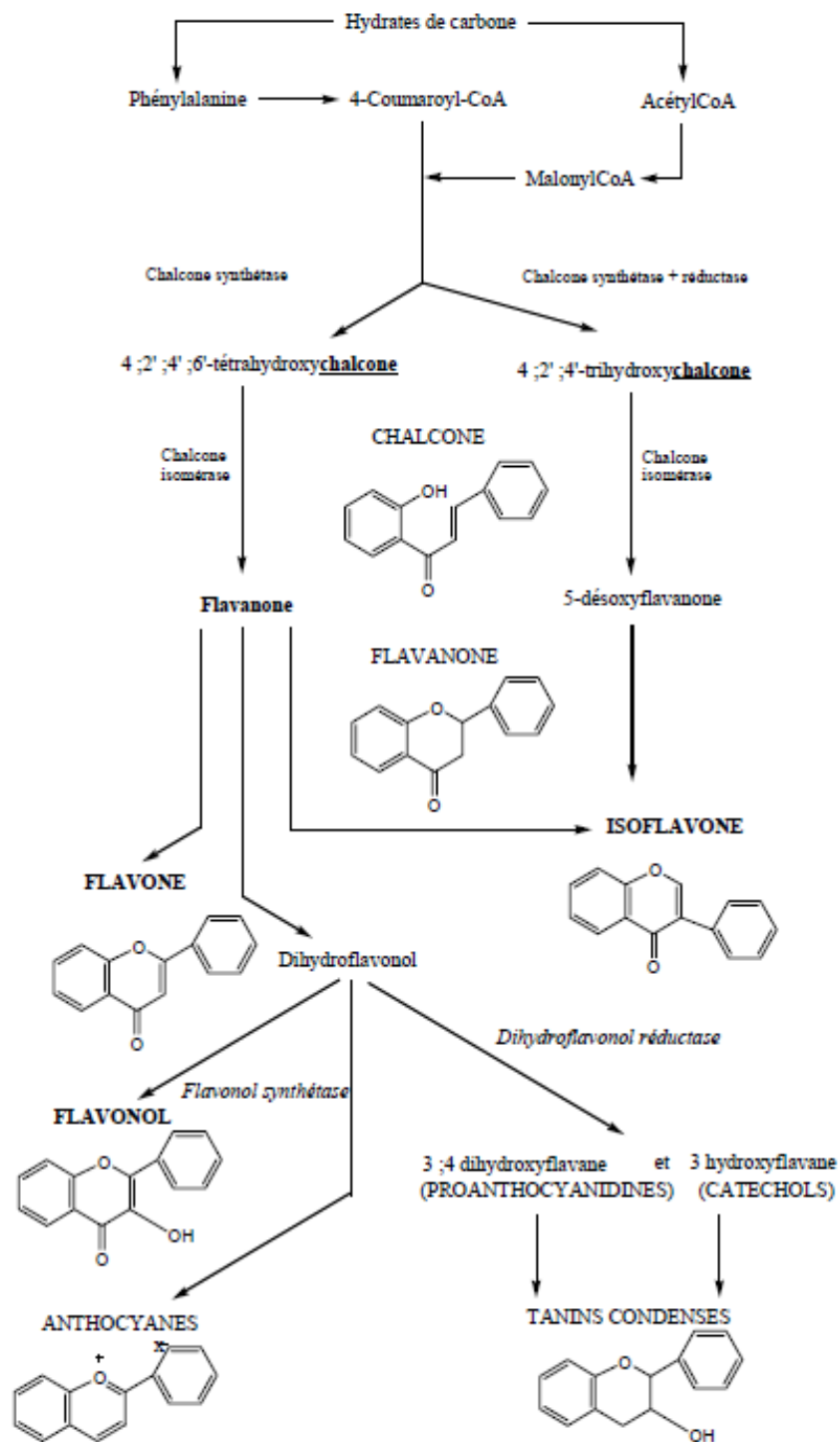


Figure 14 : Biosynthèse des flavonoïdes

**Tableau 5:** Teneur en 4-oxo-flavonoïdes de quelques fruits et légumes en mg/kg

Fruits ou légumes	Quantité mg/Kg	Flavonoïdes présents
Persil	500	Apigénine
Ciboulette	110	Quercétine + Kaempférol
Chou frisé	150	Quercétine + Kaempférol
Chou frisé (serré)	105	Quercétine + Kaempférol
Laitue	320	Quercétine
Oignon	300	Quercétine + Kaempférol
Endives	290	Kaempférol
Poireau	100	Quercétine + Kaempférol
Céleri	100	Apigénine + Lutéoline
Haricots verts	70	Quercétine + Kaempférol
Choux de Bruxelles	65	Quercétine + Kaempférol
Brocolis	35	Quercétine + Kaempférol
Tomate	10	Quercétine + Kaempférol
Chou-fleur	3	Quercétine + Kaempférol
Pomme de terre	3	Quercétine + Kaempférol
Orange	1700/2800	Hespérétine
Pamplemousse	2700/6000	Naringénine
Myrtilles cultivées	165	Quercétine
Cerises aigres	100	Quercétine + Kaempférol
Cerises douces	2	Kaempférol+Quercétine
Raisins	50/100	Quercétine + Myricétine
Cassis	80	Quercétine + Kaempférol
Abricots	55	Quercétine
Mûres	50	Quercétine + Kaempférol
Pommes	30	Quercétine
Groseilles	30	Quercétine + Kaempférol
Framboises	30	Quercétine + Kaempférol
Prunes	30	Querc

## **6. Propriétés pharmacologiques des flavonoïdes**

### **6.1. Propriétés anti-inflammatoires et effets sur le système immunitaire**

De nombreux travaux semblent indiquer que les flavonoïdes possèdent des propriétés anti-inflammatoires. Ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire. Les flavonoïdes sont de puissants inhibiteurs de la prolifération des lymphocytes "B" et "T". Cet effet des flavonoïdes sur les lymphocytes "B" ou "T" peut être variable: En effet, les flavones (apigénine, lutéoline et 7,3',4' hydroxyflavone) et les flavonols (kaempférol, quercétine et myricétine) inhibent la prolifération des lymphocytes "T" alors que seule la myricétine est active sur les lymphocytes "B". L'explication est encore inconnue. L'effet antiprolifératif des flavonoïdes pourrait s'expliquer par leur capacité à inhiber l'activité de certaines protéines kinases (protéine Kinase "C" ou protéine tyrosine kinase). Par ailleurs, les flavonoïdes sont susceptibles de diminuer la libération d'histamine, des basophiles et des mastocytes.

### **6.2. Propriétés antivirales**

La stratégie de recherche d'un composé antiviral consiste à mesurer la réduction de l'infection virale des cellules en culture. Une substance peut agir à différents niveaux du cycle viral :

- Au niveau de l'adsorption du virus sur la cellule hôte,
- Au niveau de la pénétration du virus dans la cellule hôte,
- Au niveau de la réplication du virus et la synthèse des protéines virales,
- Au niveau de l'assemblage et de la sortie du virus hors de la cellule hôte.

Les flavonoïdes sont capables d'agir au niveau de la synthèse des protéines virales. Ce mécanisme semble être impliqué dans la protection des souris vis-à-vis d'une infection virale à la suite d'une administration journalière de 3-O-méthylquercétine à raison de 20 mg/kg pendant 9 jours.

### **6.3. Propriétés anti-carcinogènes**

La quercétine, par exemple, est capable de diminuer chez le rat l'incidence des tumeurs mammaires induites par le DMBA (7,12 diméthylbenz(a)anthracène) ou la NMU (N-nitrosométhylurée). Les études réalisées chez la souris abondent dans le même sens et mettent en évidence les effets protecteurs des flavonoïdes vis-à-vis des promoteurs des tumeurs. L'action antitumorale de la quercétine pourrait aussi s'expliquer par une interaction de celle-ci avec le complexe calcium-calmoduline qui jouerait aussi un rôle dans le mécanisme d'action de nombreux promoteurs de tumeur. C'est ainsi qu'un antagoniste de la calmoduline inhiberait l'induction de l'ODC (Ornitine Décarboxylase) par le TPA (12-0-tétradécanoylphorbol-13-acétate). Les flavonoïdes peuvent également interférer avec le métabolisme des xénobiotiques, notamment en stimulant les systèmes de détoxification.

Chapitre III  
**Chapitre III**  
Généralités sur la luzerne

## 1. Origine et distribution géographique de la luzerne

La luzerne fut introduite en Europe vers 470 av.J.C avant les guères médiques. Elle portait alors le nom de *Medica herbà* « l'herbe de Médie », devenu plus tard le nom de genre : *Medicago*. Toutefois, les tablettes Hittites mentionnent déjà son utilisation, comme nourriture hivernale pour les animaux, 1400 à 1200 ans av.J.C. La luzerne proviendrait des hauts plateaux du Caucase de l'Iran et de Turquie où elle était appelée alfalfa « le meilleur des fourrages ».

A l'heure actuelle, la luzerne est la plante fourragère la plus cultivée dans le monde en raison de ses propriétés nutritives et médicinales (*Anonyme 4, 2007*). Elle est notamment très répandue dans les zones tempérées chaudes subtropicales et en altitude (*Mauries, 2003*).

## 2. Position systématique et présentation de la famille

### 2.1. Position systématique

Règne :	Plantae
Classe :	Magnoliopsida
Sous-classe :	Rosidae
Ordre :	Fabales
Famille :	Fabaceae
Sous-famille :	Faboideae
Genre:	<i>Medicago</i>
Espèce:	<i>sativa</i>



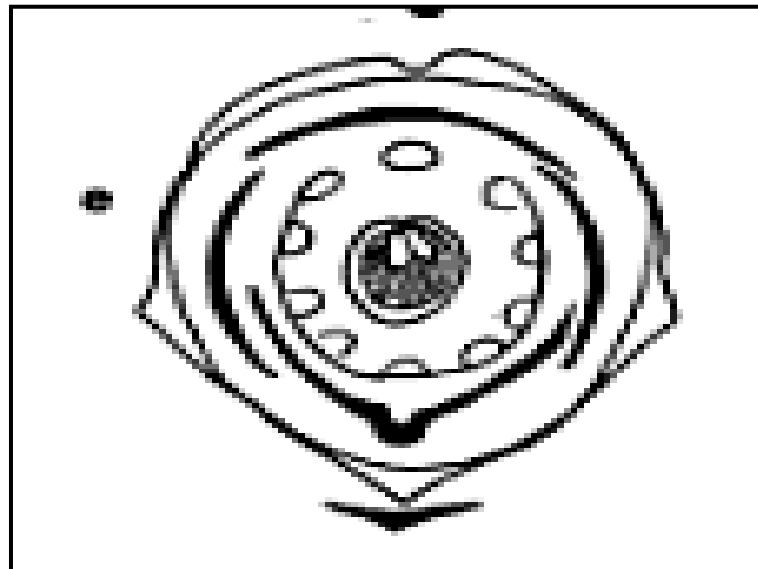
**Photo 1:** La luzerne cultivée « *Medicago sativa* »

## 2.2. Présentation de la famille

La luzerne cultivée ou « *Medicago sativa* » appartient à la famille des Fabacées qui constituent la 3<sup>ème</sup> famille la plus importante du monde végétal (environ 16000 espèces) après les Astéracées et les Orchidacées.

Les Fabacées, au sens large, sont des plantes herbacées, des arbustes, des arbres ou des lianes. C'est une famille cosmopolite des zones froides à tropicales.

Leurs feuilles sont alternes, composées, pennées ou palmées et en général pourvues de stipules formées d'un calice gamosépale souvent bilabié et d'une corolle dite papilionacée parce que sa forme rappelle celle d'un papillon, leurs fleurs hermaphrodites, sont surtout zygomorphes et en général pentamères. La corolle qui du reste ne présente pas ce type de structure dans l'ensemble de la famille est formée d'un grand pétale supérieur, l'étendard de deux pétales latéraux parallèles, les ailes et de deux pétales inférieurs recourbés vers le bas libres ou réunis par le bord inférieur de manière à former la carène qui renferme les étamines et le pistil. Les étamines sont au nombre de 10 (figure 15). Le fruit issu d'un seul carpelle, est un fruit sec typique.



**Figure 15** : Le diagramme floral de la famille des fabacées

Les trois sous-familles des Fabacées sont :

- Sous-famille Caesalpinioideae avec une fleur pseudo-papillonacée ;
- Sous-famille Mimosoideae avec une fleur régulière ;
- Sous-famille Faboideae ou Papilionoideae avec une fleur typique en papillon.

On observe normalement la présence de nodules fixateurs de l'azote atmosphérique sur les racines chez les Papilionoideae et les Mimosoideae alors qu'ils sont absents chez la plupart des Caesalpinioideae. Ces nodosités sont le résultat d'une symbiose entre des bactéries fixatrices d'azote, les Rhizobiums et ces différentes espèces de légumineuses. C'est pourquoi elles peuvent se développer sur des sols pauvres en azote et l'enrichir en engrais vert.

Une particularité métabolique des Fabacées est la présence d'une hémoprotéine fixatrice de dioxygène, la leghémoglobine (ou LegHb), très proche de l'hémoglobine. Cette protéine se trouve dans les nodules des racines et permet de fixer l'oxygène pour former un milieu anaérobie favorable au développement de Rhizobium.

Dans les applications pharmaceutiques, de très nombreuses préparations (baumes, gommes, sirops, insecticides) sont faits à partir de Fabacées papilionacées.

### **3. Superficies consacrées à la culture de la luzerne**

#### **3.1. Dans le monde**

Grâce à sa capacité d'assurer sa nutrition azotée par la fonction symbiotique et également par la voie de l'absorption racinaire de l'azote minéral du sol, au cours des années 80, la luzerne était cultivée sur 32 millions d'hectares à travers le monde (tableau 6).

#### **3.2. En Algérie**

En Algérie, pour la période 1995 à 1997, la superficie consacrée à la luzerne pérenne « *Medicago sativa L.* » se situe entre 0.37 et 0.71% de la superficie réservée aux cultures fourragères. Par rapport aux cultures herbacées sa superficie représente entre 1.86 et 3.03% pour la même période (*Chaabena, 2001*).

**Tableau 6:** Superficies occupées par la luzerne « *Medicago sativa* » à travers le monde

(Maurie, 2003)

Continents et pays	Années	Hectares
<b>Total Afrique</b>		<b>434 970</b>
Algérie	1981	10 000
Egypte	1983	81 000
Afrique du Sud	1985	300 000
<b>Total Europe</b>		<b>7 494 310</b>
France	1983	566 000
Italie	2000	800 000
Suisse	1983	25 000
<b>Total Amérique du Sud</b>		<b>6 264 500</b>
Brésil	1983	26 000
Equateur	1969	30 000
<b>Total Amérique du Nord</b>		<b>14 462 042</b>
Etat Unis	2000	9 713 000
Mexique	1982	245 000

## **4. Exigences environnementales de « *Medicago sativa* »**

### **4.1. Le sol**

La luzerne c'est une plante exigeant beaucoup de calcium. Pour un développement optimum, elle doit donc être implantée dans un sol sain de calcaire, argileux à pH variant de 6 à 7. Dans un sol normalement équilibré, seuls les apports de potassium sont nécessaires, l'apport en azote est inutile du fait de la capacité de la luzerne à utiliser l'azote atmosphérique et l'azote minéral contenu dans le sol. Son système racinaire est suffisamment important pour puiser et valoriser les éléments nutritifs présents dans le sol.

### **4.2. La température**

La croissance optimale des plantes se situe à des températures comprises entre 15 et 30° C

### **4.3. L'hydratation**

La luzerne pousse dans des zones à pluviométrie équilibrée, le manque d'eau freine fortement le développement des plantes ; un excès d'eau favorise le développement des maladies fongiques et prive les racines d'oxygène.

### **4.4. La luminosité**

En conditions non limitantes (bonne température et hygrométrie) la croissance dépend aussi directement du rayonnement visible intercepté au cours de la pousse.

## **5. Composition chimique de « *Medicago sativa* »**

### **5.1. Composition nutritionnelle**

Le concentré de feuilles de la luzerne est un aliment intéressant du point de vue nutritionnel par sa forte teneur en protéines et la diversité des éléments nutritionnels (tableau 7).

**Tableau 7 :** Valeurs quantitatives des éléments nutritionnels de 10g de concentré de luzerne*(Zanin, 1998).*

<b>Composants (pour 10 g)</b>	<b>Éléments nutritionnels dosés</b>	<b>Valeur en mg*</b>
Protéines (4,9 - 5,3 g)	Lysine	321
	Tryptophane	100
	Thréonine	239
	Cystéine	59
	Méthionine	112
	Valine	308
	Leucine	443
	Isoleucine	242
	Tyrosine	242
	Phénylalanine	250
Lipides (1 g). Parmi ceux qui ont été dosés :	Acide linoléique	332
	Acide linoléique	133
Matières minérales (0,9 - 1,3 g)	P (assimilable)	70
	Ca	320
	K	70
	Fe	7
	Na	0,5
	Mg	13
	Mn	0,6
	Zn	0,2
	Cu	0,078
Vitamines	Beta-carotène	920 µg ER
	Vitamine E	3
	Vitamine B9	0,03
	Vitamine K	0,3
	Choline chlorhydrate	6,4

### **5.1.1. Composition en protéines et acides aminés**

Les extraits foliaires de luzerne contiennent entre 50 et 60% de la matière azotée totale. La protéine la plus abondante est une protéine chloroplastique soluble de 500 K Da : la rubisco (rubilose-1,5 biphosphate carboxylase-oxygénase). De nombreuses autres protéines solubles à fonction enzymatique sont également présentes mais en moindre proportion. Enfin l'extrait contient aussi des protéines membranaires et des polypeptides issus de l'hydrolyse des protéines lourdes.

### **5.1.2. Les lipides**

L'extrait de la luzerne contient en moyenne 8 à 12% de lipides sous forme d'acides gras, de glycérides, de pigments de stérols et de quinones liposolubles essentiellement des lamelles chloroplastiques. Les lipides sont très importants pour l'organisme puisqu'ils participent à l'élaboration d'hormones de prostaglandines et sont aussi indispensables à l'absorption de certaines vitamines liposolubles (*Zanin, 1998*).

### **5.1.3. Les hydrates de carbone**

Les sucres constituent la principale et la plus économique source d'énergie pour l'organisme. Cette consommation d'énergie sous forme de glucose est quasi constante et nécessite un apport régulier de glucides par l'alimentation. Dans l'extrait foliaire, les glucides existent sous ces deux formes :

- Sucres simples : glucose (0.8%).
- Sucres complexes : saccharose (0.3%) et stachyose (0.1%), glucosanes (3.2%), pentosanes (2%), galactanes (2.7%) et mananes (0.1%).

#### **5.1.4. Les fibres**

L'extrait de luzerne contient moins de 2% de fibres sous forme de cellulose, d'hémicelluloses, d'oses polymérisés et de lignine (*Zanin , 1998*). Ce faible taux de fibres permet la concentration des composants utiles (vitamines et minéraux) et améliore leur assimilation dans le tube digestif.

#### **5.1.5. Les vitamines**

La luzerne constitue une source importante de  $\beta$  carotène (précurseur de la vitamine A) mais aussi d'autres vitamines telles que les vitamines E, K, et B9, chacun de ces éléments assurent des fonctions spécifiques très importantes au sein de l'organisme (tableau 8). On trouve également dans l'extrait de luzerne de la choline chlorhydrate à un taux de 6.4 mg pour 10g de concentré.

#### **5.1.6. Les éléments minéraux**

Les matières minérales contenues dans l'extrait foliaire de luzerne représentent en moyenne 13 à 14% de la matière sèche (tableau 9). Elles sont en grande partie solubles dans l'eau et peuvent être partiellement éliminées par lavage acide (pH 3-4). Elles participent activement à de nombreux métabolismes et à la formation des tissus. Les uns sont uniquement catalytiques, d'autres ont un rôle mixte, plastique (structure des tissus) et catalytique. Tous ces éléments présentent des propriétés fonctionnelles importantes (tableau 9).

**Tableau 8 :** Teneurs et caractéristiques des principaux composés vitaminiques

contenus dans le concentré de luzerne (*Zanin, 1998*).

Composés	Fonction*	Besoins journaliers*	Teneur de 10 g d'EF de luzerne**
béta - carotène ou Provitamine A	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Synthèse du pigment rétinien</li> <li>- Activité cellulaire (division, perméabilité, tonicité)</li> <li>- Activité antioxydante</li> <li>- Anti-infectieuse</li> <li>- Anti-athéromateuse</li> <li>- Aide à la fonction de détoxification du foie</li> </ul>	Enf 1-3 ans : 400 µg ER Enf 4- 9 ans : 600 µg ER Adolescents : 800 µg ER Adultes : 800 à 1300 µg ER  ER (Equivalent Rétinol)	920 µg ER
Vitamine E	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Anti-oxydante</li> <li>- Fécondité</li> <li>- Réduit les besoins en oxygène</li> <li>- Nutrition des tissus conjonctifs, musculaires et cutanés</li> <li>- S'oppose à la destruction des globules rouges</li> </ul>	Enf de 1 à 3 ans : 5 mg Enf de 4 à 9 ans : 7 mg Adolescents : 10 mg Adultes : 12 mg	3 mg
Vitamine K	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Anti-hémorragique (active la synthèse par le foie des facteurs de coagulation)</li> </ul>	Enf de 1 à 3 ans : 15 µg Enf de 4 à 9 ans : 25 µg Adolescents : 35 µg Adultes : de 35 à 55 µg	300 µg
Vitamine B9 ou acide folique	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Complémentaire de la vitamine B12</li> <li>- Synthèse de l'hémoglobine</li> </ul>	Enf de 1 à 3 ans : 100 µg Enf de 4-12 ans : 200 µg Adolescents : 300 µg Adultes : de 300 à 500 µg	30 µg

**Tableau 9 :** Fonctions et teneurs des matières minérales contenues dans les extraits foliaires de luzerne (*Zanin , 1998*).

<b>Élément minéral</b>	<b>Fonction</b>	<b>Besoins journaliers*</b>	<b>10 g d'EF apportent**</b>
Calcium (Ca)	-Rôle plastique (os et dent) et catalyseur (coagulation du sang)	Enf 1-9 ans : 600 à 700 mg Adultes : 900 mg Adols, personnes âgées, mères allaitantes : 1200 mg	320 mg
Phosphore (P) non phytique	- Rôle plastique (os et dents, membrane cellulaire et métabolisme des graisses) et catalyseur (phosphorylation)	Enf 1-9 ans : 500 à 600 mg Adultes : 800 mg Adols, personnes âgées, mères allaitantes : 1000 mg	70 mg
Potassium (K)	- Principal cation intracellulaire - Intervient dans l'équilibre acido-basique - Rôle dans la conduction nerveuse	1000 à 2000 mg	70 mg
Sodium (Na)	- Principal cation extracellulaire - Rôle antagoniste et complémentaire du K	3000 à 5000 mg	0,5 mg
Magnésium (Mg)	- Rôle plastique (os, muscles) - Rôle énergétique (active l'ATP) - Active de nombreuses enzymes	Enf 1-9 ans : 120 à 180 mg Adultes : 330 à 420 mg Adols, personnes âgées, mères allaitantes : 330 à 480 mg	13 mg
Fer (Fe)	- Rôle plastique pour l'hémoglobine - Ion essentiel à la respiration - Anti-infectieux	Enf 1-9 ans : 10 mg Adultes : 10 à 18 mg Adols, personnes âgées, mères allaitantes : 10 à 18 mg	7 mg
Zinc (Zn)	- Rôle plastique (phanères, peau, os) - Catalyseur polyvalent	Enf 1-9 ans : 10 mg Adols, Adultes : 12 à 19 mg	200 µg
Manganèse (Mn)	- Oxydoréducteur énergétique - Antioxydant, anti-allergique, anti-infectieux - Minéralisation osseuse	Enf 1-9 ans : 1 à 2 mg Adultes, adols, personnes âgées, mères allaitantes : 4 mg	600 µg
Cuivre (Cu)	- Respiration cellulaire - Synthèse de l'hémoglobine et de la vit C - Anti-infectieux, anti-inflammatoire	Enf 1-9 ans : 1 à 1,5 mg Adultes, adols, pers. âgées, mères allaitantes : 2 à 3 mg	78 µg
Cobalt (Co)	-Contrôle la synthèse de la vitamine B12 - Antispasmodique et sédatif neurovégétatif	2 µg	10 µg
Iode (I)	- Hormones thyroïdiennes (activation de tous les métabolismes)	Enf 1-9 ans : 70 à 120 µg Adultes, adols, pers. âgées, fem. allaitantes : 150 à 200 µg	3 µg
Sélénium (Se)	- Antioxydant - Anti-inflammatoire - Stimule l'immunité	Enf 1-9 ans : 20 à 30 µg Adultes, adols, pers; âgées, fem. allaitantes : 55 à 75 µg	0,5 à 1 µg

## **5.2. Les substances du métabolisme secondaire**

### **5.2.1. Les flavonoïdes**

Flavones (apigénine, lutéoline, tricine), flavonols (quercétine, kaempférol) et anthocyanes

### **5.2.2. Les phyto-estrogènes**

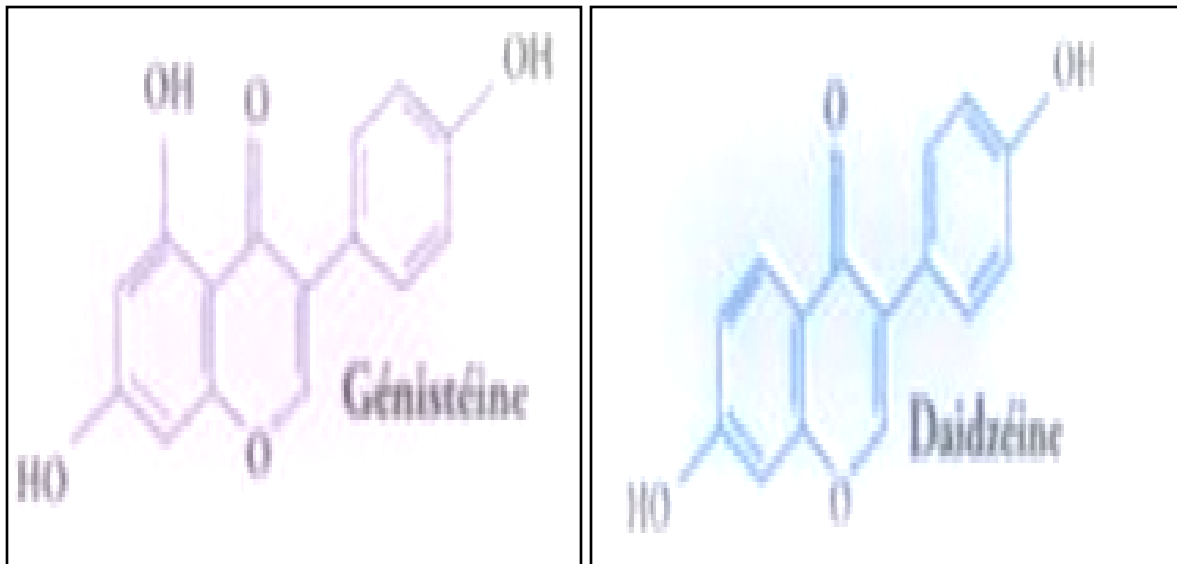
Ce sont des composés naturels et actifs qui jouent le même rôle des hormones dans l'organisme humain, car elles possèdent des structures chimiques très proches de celles des oestrogènes. On les retrouve dans plusieurs espèces de végétaux, principalement dans le soja et la luzerne. Les phyto-estrogènes sont classés en cinq catégories différentes :

#### **➤ Les isoflavonoïdes**

Ce sont les phyto-estrogènes les plus importants présents dans les légumineuses, les produits actifs sont la gènesène et la daidzéine (figure 16).

Les isoflavones font partie de la famille des flavonoïdes (génistéine-5-7-4-trihydroxyisoflavone, biochanine A, daidzéine-7-4-dihydro-isoflavone, formononétine), ils sont formés par l'oxydation et l'élimination d'une molécule d'eau d'une flavone. Selon leur formule chimique, il existe une douzaine de types structuraux, mais le squelette principal reste la même (les 3 phenylchromane). Ils se présentent presque exclusivement dans la famille des fabacées. Les isoflavones qui existent à l'état libre sont les plus fréquents. Les isoflavones sont connus depuis cinquante ans mais leur intérêt scientifique considérable est illustré depuis peu. Les métabolites des isoflavones sont absorbés à la sortie de l'intestin, transformés dans le foie et à la fin sont apparus dans le sang, les urines et dans d'autres liquides du corps humain, généralement sous formes de glucuroconjugués, mais aussi de sulfates.

Le métabolisme des hormones endogènes telle que l'oestradiol se fait de la même manière.



**Figure 16 :** Les produits actifs des isoflavonoïdes

➤ **Les coumestants**

Coumestrol, 4-méthoxycoumestrol, 3-méthoxycoumestrol, 11-12-diméthoxy-7-hydroxycoumestane.

➤ **Les lignanes**

➤ **Les flavonoïdes**

➤ **Les lactones en acide resocyclique**

**5.2.3. Les saponosides**

Les saponosides de la luzerne présentent une variété de génines et sont réparties régulièrement à travers les différentes parties de la plante (tableau 10).

**Tableau 10:** les différentes génines des saponines de luzerne (*Boudesque et al ,2001*)

Génines	Racine	Feuilles	Graines
Soyasapogénol C	X		X
Soyasapogénol E	X		
Soyasapogénol B		X	X
Soyasapogénol A	X	X	
Hédérangine	X	X	
Bayogénine	X	X	
Acide Médicagénique	X	X	
Acide Lucernique		X	
Acide Zanhique		X	

## 6. Intérêt de « *Medicago sativa* »

### 6.1. Utilisations traditionnelles

#### 6.1.1. Intérêt écologique

La luzerne est l'une des plantes produisant le plus de protéines à l'hectare. Elle mobilise donc une grande quantité d'azote :

- Teneur en azote des racines : 1.8% de la matière sèche
- Teneur en azote des parties aériennes : 3.5% de la matière sèche.

La luzerne fixe l'azote atmosphérique mais elle utilise préférentiellement l'azote nitrique présent dans le sol, la concentration en azote nitrique du sol diminue d'année en année lors d'une culture de luzerne. La luzerne permet donc de récupérer et de soustraire au lessivage les surplus de nitrates présents dans le sol, protégeant ainsi les nappes phréatiques.

### **6.1.2. Inté rêt fourrager**

Parmi les nombreuses utilités de la luzerne, la plus importante est celle liée à l'alimentation du bétail . La luzerne est une plante fourragère par excellence car elle est une véritable source de protéines et de carotène.

## **6.2. Utilisations modernes**

### **6.2.1. Inté rêt alimentaire**

La luzerne est caractérisée par une teneur en Matière Azotée Totale (MAT) importante qui peut varier de 14 à 29 % de la Matière Sèche (MS) selon le stade, les époques et les modes de récolte. Elle a une remarquable composition en acides aminés qui la rend supérieure, sur ce critère, au tourteau de soja, en plus, la Rubisco est une protéine blanche extraite des feuilles de la luzerne utilisée comme diététique en pharmacie.

La luzerne comporte une combinaison particulièrement intéressante de minéraux et d'oligo-éléments. Elle est riche en vitamines du groupe B, C, D, E et A (*Schoutteten , 2004*).

### **6.2.2. Inté rêt thérapeutique**

#### **6.2.2.1. Le rôle des phyto-estrogènes**

Le noyau phénolique des phyto-estrogènes présente des groupements OH (hydroxyyles), il est en fait très semblable à celui de l'œstradiol. De plus la distance entre les groupements hydroxyyles des deux extrémités de la molécule est identique, cette propriété est très importante car elle permet de rendre plus assimilatrice aux récepteurs que les œstrogènes stéroïdiens.

#### **➤ Les phyto-estrogènes et le cancer**

Dans ces dernières années les recherches sur le cancer ont été basées sur les facteurs de protection au lieu de chercher un médicament efficace. Parmi les facteurs de protection de grande catégorie du cancer (les cancers hormonodépendants), c'est la consommation des phyto-estrogènes qui sont très abondants dans la luzerne « *Medicago sativa* »

### ➤ **Les phyto-estrogènes et la ménopause**

Le traitement le plus utilisé pour lutter contre les troubles de la ménopause c'est le traitement hormonal de substitution (THS), qui consiste en un rapport régulier de dérivés de l'œstrogène, ce traitement est capable de provoquer un risque accru de cancer du sein et d'autres problèmes. Donc il est évident de remplacer ce traitement par les phyto-estrogènes ou tout simplement par la consommation de la luzerne cultivée qui est très riche en phyto-estrogènes.

#### **6.2.2.2. Le rôle des saponosides**

Une étude a été réalisée montre que les saponosides de la luzerne ont comme effets :

- La diminution significative de l'absorption intestinale du cholestérol et le radio-cholestérol létale plasmique.
- L'augmentation de l'extraction fécale des stéroïdes et des acides biliaires.
- La diminution de la progression de cellules cancéreuses.
- L'effet anti-oxydant.

#### **6.2.2.3. Action sur la glycémie**

La luzerne est utilisée traditionnellement dans le traitement du diabète. Cette action a été mise en évidence in vivo sur des modèles de souris diabétiques.

La luzerne stimulerait notamment l'incorporation du glucose sous forme de glycogène dans le muscle abdominal et posséderait des propriétés similaires à celles de l'insuline.

#### **6. 2.2.4. Autres propriétés**

- Régulateur métabolique
- Hémostatique
- Anti-hémorragique et anti-fongique

#### **6.2.2.5. Effets secondaires**

Rare cas de troubles gastro-intestinaux (diarrhées...), dermatites et arthralgies.

#### **6.2.2.6. Interactions médicamenteuses**

« *Medicago sativa* » pourrait contrer l'action anticoagulante des médicaments à action similaire. Ses effets sur la régulation du métabolisme du cholestérol pourrait s'ajouter à ceux des médicaments hypolipémiants.

### **7. Toxicité**

La luzerne ne présente pas de danger aux doses recommandées à l'exception de quelques cas d'allergie (*IESV, 2006*).

# Partie II

## Partie Pratique

Chapitre I  
**Chapitre I**  
Matériels et méthodes  
**Matériels et méthodes**

## **Introduction**

La partie expérimentale consiste d'une part, à identifier l'effet de la nature du sol sur les caractères physico-chimiques des flavonoïdes, isolés d'une légumineuse cultivée "*Medicago sativa*", connue comme plante fourragère, prélevée dans des sols du Nord-Est algérien, d'autre part, à étudier l'activité antibactérienne des flavonoïdes et de la décoction de la même plante. Le choix de notre plante est basé sur des recherches bibliographiques avancées.

Il faut rappeler que notre étude a été réalisée grâce à la contribution des laboratoires suivants:

Laboratoire de Biologie Végétale et Environnement, laboratoire d'écologie du département de biologie, université de Badji Moukthar Annaba.

Laboratoire de biochimie, hôpital d'El Tarf.

Laboratoire de biochimie, faculté de médecine.



La floraison se déroule entre juin et octobre. Les parties aériennes sont les parties de la plante utilisées en médecine.

La luzerne est une plante pérenne qui dure 2 à 10 ans selon son mode d'exploitation. C'est une plante qui résiste très bien au gel. Durant la période de froid, elle entre en dormance.

Au printemps, elle crée de nouvelles tiges à partir de son pivot central. Elle repousse après l'hiver ou après chaque coupe grâce aux réserves constituées dans ses racines durant les périodes de végétation. Ces réserves durent jusqu'à 10 mois. Elle pousse de Mars à Octobre avec en moyenne de quatre coupes par an espacées de 35 à 45 jours selon la température.

### **1.1.2. Stations de récolte**

La récolte des parties aériennes de « *Medicago sativa* » a été réalisée au mois de Mai 2009 dans des sols du Nord-Est algérien (photo 2).



**Photo 2:** Champ de la luzerne cultivée

Les quatre sites de prélèvements sont mentionnés sur la carte suivante :



○ : Stations de prélèvements dans la région d'Annaba

○ : Stations de prélèvements dans la région d'El Tarf

**Figure 18 :** Localisation géographique des sites de prélèvements

Les caractéristiques géographiques et bioclimatiques des sites de prélèvements sont résumées dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 11** : Coordonnées géographiques des stations de prélèvement

<b>Sites</b>	<b>Latitudes</b>	<b>Longitudes</b>	<b>Altitudes</b>	<b>Etages bioclimatiques</b>
<b>El Hadjar (Annaba)</b>	36° 48 N	7° 45 E	0 à 50 m	Climat subhumide
<b>Aéroport (Annaba)</b>	36° 50 N	7° 48 E	0 à 50 m	Climat subhumide
<b>Besbes (El Tarf)</b>	36° 46 N	7° 54 E	0 à 50 m	Climat subhumide
<b>Ben Mehidi (El Tarf)</b>	36° 41 N	7° 51 E	50 à 200 m	Climat subhumide

### **1.1.3. Séchage et pulvérisation**

Les plantes fraîchement récoltées ont été séchées à température ambiante et à l'obscurité pendant dix jours. Le matériel végétal est constitué de feuilles de la luzerne cultivée « *Medicago sativa* » qui sont ensuite pulvérisés et soumis à une extraction.

## 1.2. Matériel microbiologique

Dans notre étude, plusieurs souches bactériennes ont été étudiées, des souches de références ATCC (American Type Culture Collection) et des souches obtenues à partir de produits pathologiques divers et rendus responsables d'infection chez l'homme (tableau 12).

**Tableau 12:** les différentes souches testées et leurs principaux caractéristiques

Souches	Pathologie	Groupes
<i>Escherichia coli</i>	Infection urinaire, infection des parties molles.	Bacilles groupe des Entérobactéries (BGNE) <b>(Gram-)</b>
<i>E. coli BLSE</i>		
<i>E. coli ATCC</i>		
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Infections nosocomiales.	
<i>K. pneumoniae</i>	Infections nosocomiales, infections des voies respiratoires.	
<i>Serratia</i>	Infections nosocomiales.	
<i>Pseudomonas ATCC</i>	Infections des voies respiratoires, infection des parties molles, infections nosocomiales.	Bacilles groupe des non Entérobactéries (BGNNE) <b>(Gram-)</b>
<i>Pseudomonas sp.</i>		
<i>Acinetobacter</i>		
<i>Staphylococcus aureus</i>	Infections des voies respiratoires, infection urinaire, infection cutanée, infection des parties molles, infections nosocomiales.	Coccis <b>(Gram<sup>+</sup>)</b>
<i>S. aureus ATCC</i>		
<i>S. epidermidis</i>		

## **2. Méthodes d'étude**

### **2.1. Effets de la nature du sol sur les caractères physico-chimiques des flavonoïdes**

Le métabolisme phénolique est très sensible aux facteurs de l'environnement, qu'ils soient de nature physique, chimique ou biologique. De plus, ces composés participent activement aux interactions de la plante avec son environnement, soit en jouant le rôle de signaux de reconnaissance vis-à-vis de certains micro-organismes, soit en lui permettant de résister à diverses agressions, d'origine biologique ou non (*Macheix et al , 2005*).

Pour déterminer l'influence de la nature du sol sur la structure physico-chimique des flavonoïdes nous avons réalisés plusieurs techniques sur la plante elle-même et sur les sols de prélèvements.

#### **2.1.1. Caractéristiques physico-chimiques des sols des sites de prélèvements**

##### **2.1.1.1. Texture**

Pour déterminer la texture du sol, nous avons utilisé la méthode de saturation à l'eau qui consiste à mesurer le pourcentage d'humidité du sol (Y) et à le comparer à une échelle qui détermine la texture correspondante à la teneur d'eau (tableau 13).

La technique est la suivante :

Nous avons pris 50g de sol et nous les avons imbibé d'eau, goutte à goutte tout en mélangeant jusqu'au point où la pâte devienne luisante et glisse doucement lorsqu'on incline le mortier.

Ensuite, nous avons suivi les étapes suivantes :

- Peser une capsule vide (P1)
- Prendre une petite quantité de pâte (sol humide) et la mettre dans la capsule puis repeser (P2)
- Mettre à l'étuve à 105°C pendant 24h
- Peser une troisième fois la capsule à la sortie de l'étuve (P3), le poids correspond donc au poids de la capsule vide+ le poids du sol sec.

➤ Pour calculer :

$X1 = P2 - P3$  (poids de l'humidité).

$X2 = P3 - P1$  (poids du sol).

Ensuite appliquer la règle de trois pour calculer le pourcentage d'humidité :

$X1 \rightarrow X2$  g de sol sec

$Y \rightarrow 100$  g de sol sec

Enfin comparer Y au tableau suivant pour déterminer la texture :

**Tableau 13 :** Echelle de la texture (*Soltner, 1981*)

Pourcentage d'humidité (%)	Textures
< 12	sableuse
12-24	Sablo-limoneuse
24-37.5	Limono-sableuse
37.5-45	Limono-argileuse
45-75	Argilo-limoneuse
>75	Argileuse

#### 2.1.1.2. Matière organique

Déterminée à partir du carbone selon la méthode de Anne

On met 1 g de sol dans un erlen Mayer, on ajoute 10ml de bichromate de potassium (8%) avec 15ml d'acide sulfurique concentré. On laisse bouillir pendant 5mn sur une plaque chauffante, puis refroidir, transvaser le contenu dans une fiole de 100ml et ajouter de l'eau jusqu'au trait de jauge.

On prend 20ml de la solution, on ajoute 200ml d'eau distillée puis on ajoute 2 à 3 gouttes de diphénylamine et une pincée de NaF, on titre la solution avec le sel de Mohr (0.2N) jusqu'à virage de la solution qui passe de la couleur violette à la couleur verte.

La quantité du sel de Mohr utilisée est X.

Faire un témoin dans les mêmes conditions que l'échantillon, mais sans sol, soit Y la quantité de sel de Mohr utilisée pour le titrage du témoin.

On applique la relation suivante :

$$\%C = (Y - X) \times 0.615 \text{ mg} \times (100/20) \times (100/P) \times (1/1000)$$

**Y :** la quantité de sel de Mohr utilisée pour titrer le témoin.

**X :** la quantité de sel de Mohr utilisée pour l'échantillon à doser

**0.615 :** facteur d'équivalence entre le sel de Mohr et le carbone (en mg)

**100/20 :** on a utilisé 20 ml à partir de 100 ml.

**P :** poids du sol (1 g)

**1/1000 :** facteur de conversion du mg en g

On calcule le pourcentage de la matière organique par la formule suivante :

$$\% \text{matière organique} = \% C \times 1.72$$

Enfin on compare les résultats au tableau 14

**Tableau14** : Classification des sols d'après leur teneur en matière organique (*Soltner, 1981*)

<b>% de la MO</b>	<b>Appréciation</b>
<1	Extrêmement faible
1 - 1.5	Très faible
1.5 – 2.5	Faible
2.5 – 3.5	Moyenne
3.5 – 4.5	Moyennement élevée
4.5 - 5	Elevée
>5	Très élevée

### **2.1.1.3. pH eau**

Pour déterminer le pH eau :

- Tamiser le sol à analyser avec un tamis de 2mm de diamètre
- Peser 5g de sol dans un bécher et ajouter 25 ml d'eau distillée.
- Agiter et laisser reposer
- Mesurer le pH eau au moyen d'un pH mètre.

### **2.1.1.4. pH KCl**

La détermination de l'acidité d'échange se fait de la même manière que pH eau mais à la place de l'eau distillée on met une solution KCl (1N), le pH KCl donne une idée exacte de la quantité d'ions H<sup>+</sup> fixés.

**Tableau 15:** la gamme de pH des sols (*Gaucher, in Soltner, 1981*)

<b>pH</b>	<b>Désignation des sols</b>
3 – 4.5	Extrêmement acides
4.5 - 5	Très fortement acides
5 – 5.5	Très acides
5.5 - 6	Acides
6 – 6.75	Faiblement acides
6.75 – 7.25	Neutres
7.25 – 8.5	Alcalin
> 8.5	Très alcalin

#### **2.1.1.5. Conductivité électrique**

La conductivité électrique est la mesure du degré de la salinité globale d'un sol.

La détermination de la conductivité électrique se fait sur extrait de sol (rapport sol/eau=1/5) à l'aide d'un conductimètre (tableau16).

**Tableau 16:** Echelle de salinité du sol (*USSS, 1954*)

<b>Conductivité électrique (mS/cm)</b>	<b>Salure</b>
0 – 0.6	Non salé
0.6 – 1.4	Peu salé
1.4 – 2.4	Salé
2.4 - 6	Très salé

### 2.1.1.6. Dosage du calcaire total par titrimétrie

- Peser 5 à 25 g du sol déposés dans un erlen Mayer, ajouter 50ml d'HCl à 0.5N
- Bouillir pendant 5 mn
- Laisser refroidir
- Filtrer le contenu avec un rinçage à l'eau distillée pour lessiver le HCl en excès
- Déterminer la quantité d'HCl qui n'a pas réagit avec le CaCO<sub>3</sub> en ajoutant deux gouttes de phénolphaléine et titrer avec NaOH à 0.25 N
- Appliquer la formule suivante :

$$\% \text{CaCO}_3 = \frac{(50 \times N_1 \text{ HCl} - N_2 \text{ NaOH} \times X)}{P_0} \times 5$$

**X** : volume de NaOH titré par ml

**P<sub>0</sub>** : le poids du sol en g

**N<sub>1</sub>** : normalité HCl

**N<sub>2</sub>** : normalité NaOH

**Tableau 17:** Echelle internationale d'évaluation du calcaire dans les sols

Taux du calcaire (%)	Appréciation
0 à 5%	Sols non calcaires
5 à 15%	Sols moyennement calcaires
15 à 30%	Sols calcaires
> 30%	Sols très calcaires

## 2.1.2. Mise en évidence de quelques métabolites secondaires

### 2.1.2.1. Recherche des anthocyanes

La recherche des anthocyanes repose sur le changement de couleur de l'infusé à 10% avec le changement du pH :

Nous avons ajouté quelques gouttes d'HCl pur et nous avons observé le changement de couleur. Ensuite nous avons rajouté quelques gouttes de NH<sub>4</sub>OH, le changement de la couleur indique la présence des anthocyanes.

### 2.1.2.2. Recherche des leuco-anthocyanes

Se fait sur prise de 5ml d'infusé, mêlé de 4ml d'alcool chlorhydrique (éthanol / HCl pur 3/1 vv). Après un chauffage au bain-marie à 50°C pendant quelques minutes il y a apparition d'une couleur rouge cerise indiquant la présence des leuco-anthocyanes.

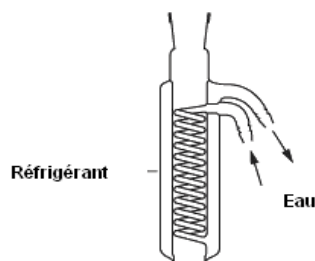
### 2.1.2.3. Recherche des flavonoïdes

5g de drogue pulvérisée sont macérés dans 150ml d'HCl à 1% pendant 24h, après avoir filtré le mélange, puis nous avons pris 10ml du filtrat, après l'avoir rendu basique par l'ajout du NH<sub>4</sub>OH, après 3h il y a apparition d'une couleur jaune claire dans la partie supérieure du tube indiquant la présence des flavonoïdes.

## 2.1.3. Procédé d'extraction des flavonoïdes

### 2.1.3.1. Principe du système d'extraction au Soxhlet

L'extracteur de Soxhlet permet le traitement de solides (matériel végétal) avec des solvants en phase liquide ou partiellement vaporisés. Le corps de l'extracteur contient une cartouche en cellulose remplie de matériel végétal. Cette cartouche est fixée sur un réservoir de solvant (ballon) et est surmontée d'un réfrigérant (figure 19). Le solvant est vaporisé puis condensé tout en restant en contact avec le matériel végétal. La solution collectée dans le ballon s'enrichit de plus en plus en soluté à chaque cycle d'extraction et le matériel végétal est toujours en contact avec du solvant fraîchement distillé. L'extraction est terminée lorsque le solvant d'extraction devient de plus en plus clair, c'est-à-dire sans une proportion significative de soluté (*Houghton et Raman, 1998*).



**Figure 19** : Système d'extraction au Soxhlet

### 2.1.3.2. Méthode d'extraction

L'extraction a été effectuée par la méthode de **Charaux et Paris (1954)** :



**Photo 3**: Dispositif de l'appareil de soxhlet installé au laboratoire

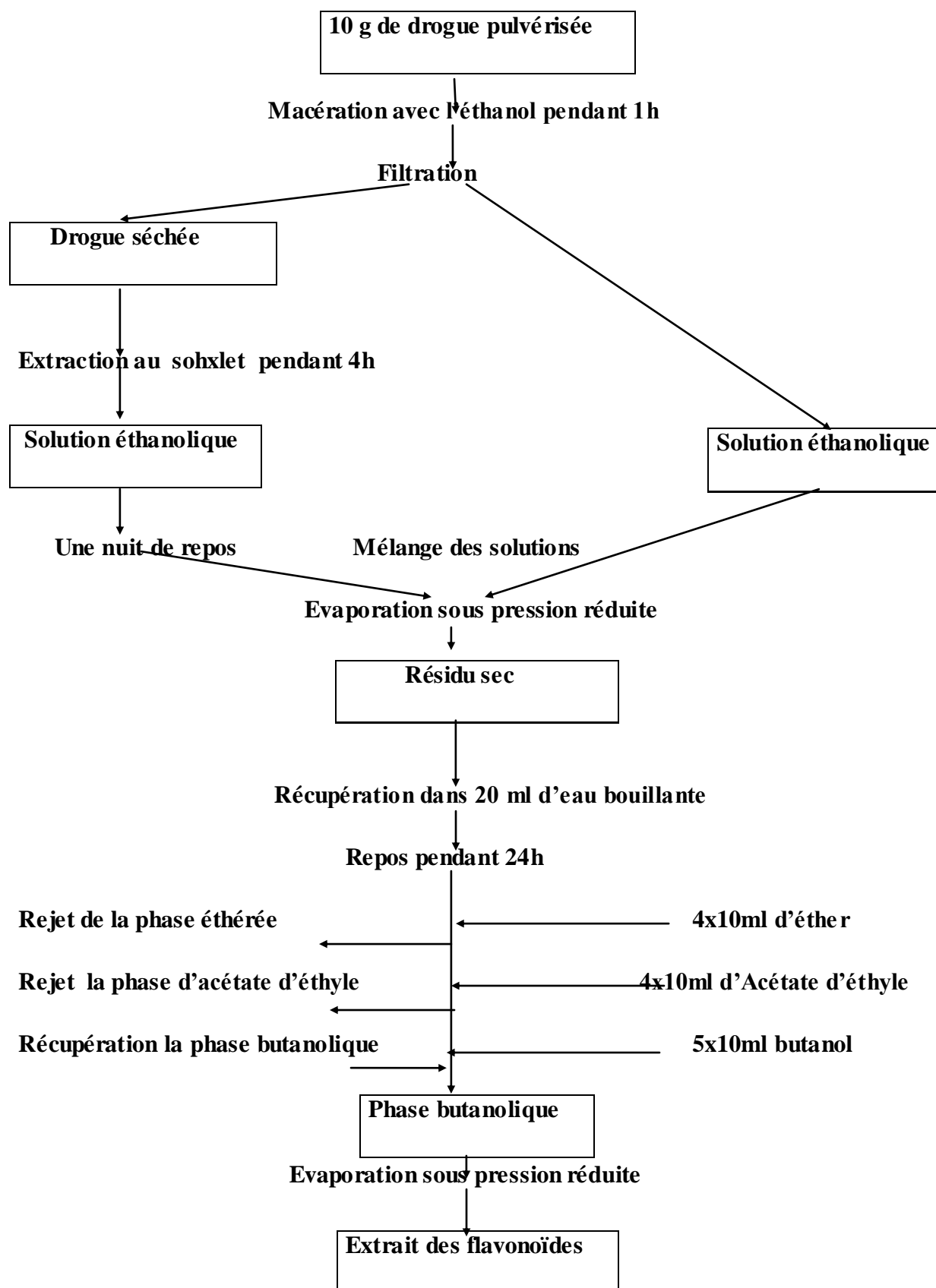
- Peser 10 g de drogue pulvérisée des feuilles de chaque échantillon et les mettre dans 200 ml d'éthanol bouillant pendant une heure.
- Après filtration, récupérer la solution éthanolique et faire sécher la matière végétale.
- Réaliser une deuxième extraction à l'aide de l'appareil de soxhlet avec 200 ml d'éthanol pendant 4 heures (photo 3).
- Après une nuit de macération réunir les deux solutions éthanoliques et les évaporer par pression réduite.
- Récupérer le résidu dans 20 ml d'eau bouillante et laisser au repos pendant 24 heures.
- Déplacer la solution dans une ampoule à décantation en ajoutant successivement :
  - 4 x 10 ml d'éther.
  - 4 x 10 ml d'acétate d'éthyle.
  - 5 x 10 ml du n-butanol
- Seule la phase butanolique est récupérée car elle contient une quantité acceptable des flavonoïdes.
- Le butanol est ensuite évaporé sous pression réduite.

#### **2.1.4. Détermination du rendement**

Le rendement est le rapport entre les poids de l'extrait et le poids de la plante traitée. Il s'agit de comparer les rendements en flavonoïdes des quatre échantillons prélevés de quatre sols différents.

Le rendement est exprimé en pourcentage et calculé selon la formule suivante :

$$R = (\text{poids de l'extrait} / \text{poids de la plantes}) \times 100$$



**Figure 20 :** présentation schématique de la méthode d'extraction des flavonoïdes

## **2.1.5. L'analyse de la composition chimique des flavonoïdes par la chromatographie sur couche mince (CCM)**

### **2.1.5.1. Principe de la CCM**

La Chromatographie sur Couche Mince (CCM) est une technique analytique rapide, simple et peu coûteuse, utilisée au cours de la séparation et de l'identification des métabolites. Elle repose principalement sur le phénomène d'adsorption. Elle s'applique aux molécules pures, aux extraits (mélange complexes de métabolites) et aux échantillons biologiques. Elle permet d'avoir une idée globale des métabolites présents dans un extrait ou une fraction, permet un contrôle aisé et rapide de la pureté d'un composé lorsque les conditions opératoires sont bien déterminées. Elle permet également de suivre la progression d'une réaction étant donné qu'elle indique le nombre de composants dans un mélange réactionnel. La mise en œuvre d'une CCM nécessite du matériel tels que :

#### **➤ Une cuve chromatographique**

C'est un récipient en verre, de forme variable (selon les manipulations à effectuer) fermé par un couvercle maintenu étanche.

#### **➤ Une phase stationnaire**

C'est une couche d'adsorbant étalé uniformément sur un support en aluminium ou en verre de dimensions variables (généralement 20 x 20 cm, 10 x 10cm ou 5 x 10cm) avec une épaisseur comprise entre 0.5 et 2 mm. L'adsorbant que nous avons utilisé est du gel de silice qui permet la séparation de substances lipophiles et hydrophiles d'un mélange.

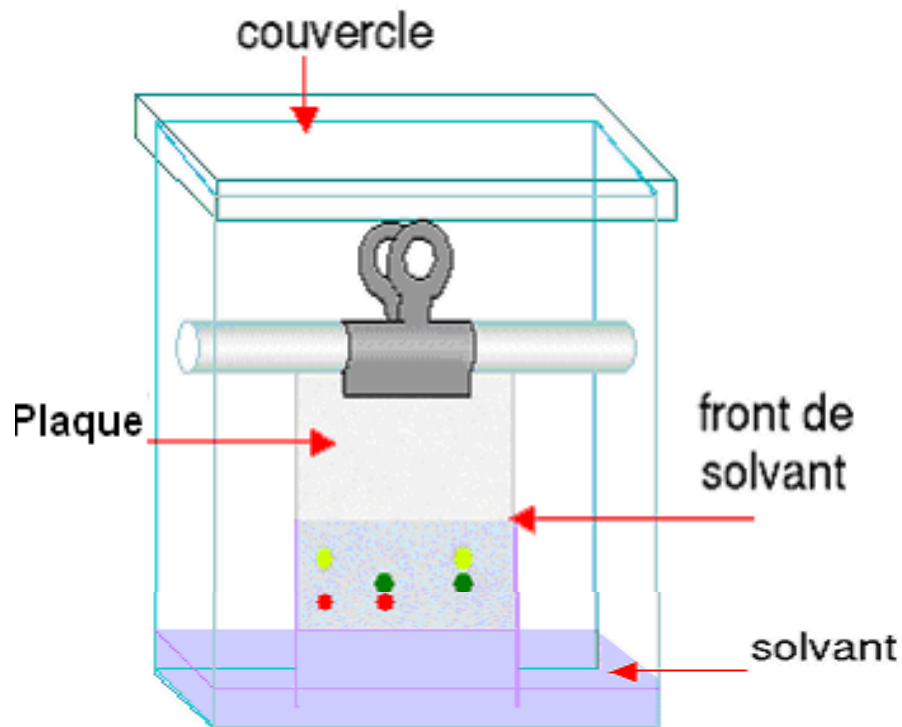
#### **➤ La phase mobile**

C'est l'éluant, il est composé d'un solvant unique ou d'un mélange de solvant qui migre lentement le long de la plaque en entraînant les composants de l'échantillon déposé.

#### **➤ Les échantillons**

Ils sont le plus souvent solubilisés dans un solvant volatil qui n'est pas forcément le même que l'éluant.

Pour une bonne élution, la cuve contenant le solvant d'élution doit être saturée (figure 21).



**Figure 21:** schéma du développement chromatographique d'une plaque

### 2.1.5.2. Méthode d'analyse

10 $\mu$ l de chaque extrait ont été spotées sur une ou plusieurs plaques déposées verticalement dans la phase mobile constituée, comme préalablement indiqué, par un ou plusieurs solvants organiques. La chromatographie a été ensuite développée sur 10 cm avec un éluant typique des flavonoïdes (chloroforme, acétone, ac formique (75,16.5, 8.5 ml)).

Une fois le développement du chromatogramme effectué, la plaque est séchée à température ambiante puis examinée à l'UV de longueurs d'ondes  $\lambda = 365$  nm (photo 4).

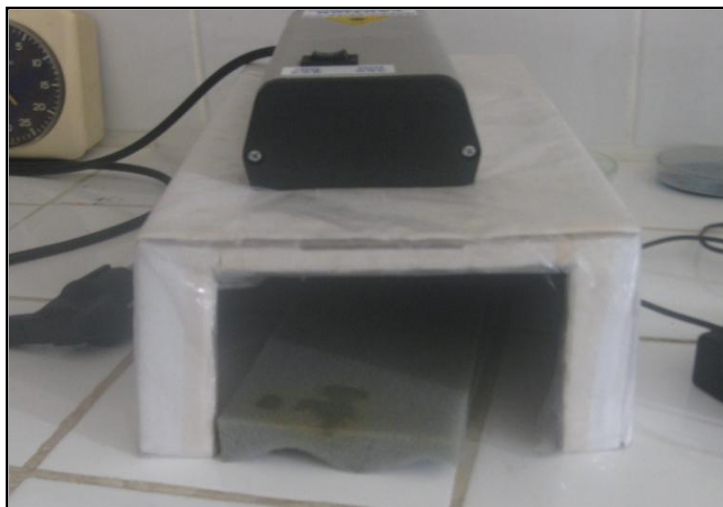
Nous avons étudié quatre extraits des flavonoïdes isolés de la luzerne cultivée « *Medicago sativa* » prélevée dans les quatre stations étudiées :

**A** : Aéroport (Annaba)

**H** : El Hadjar (Annaba)

**Bs**: Besbes (El Tarf)

**Bn**: Ben Mehidi (El Tarf)



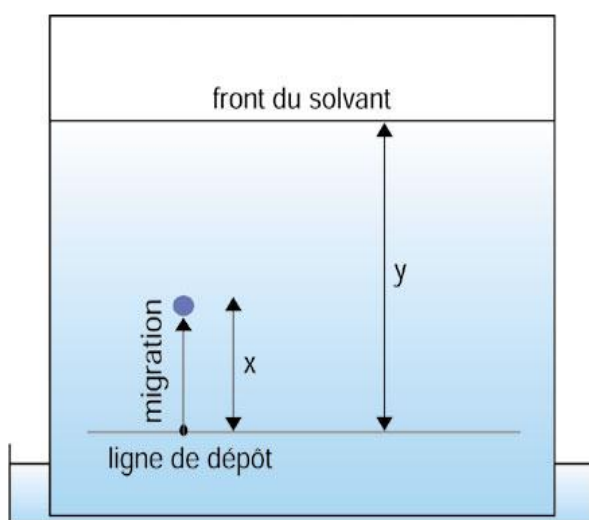
**Photo 4 :** La Lampe de Wood

### 2.1.5.3. Détermination des rapports frontaux

Le Rf est caractéristique d'une substance donnée pour un éluant déterminé sur un support (phase stationnaire) donné, il est le même que le constituant soit pur ou dans un mélange.

Le Rf ne dépend pas de la concentration du constituant dans le mélange.

On détermine pour chaque constituant, le Rapport frontal :



cuve + solvant de migration

$$R_f = X/Y$$

**X :** Distance parcourue par le constituant

**Y :** Distance parcourue par le front de l'éluant

**Figure 22 :** Détermination du rapport frontal

## **2.2. Etude de l'activité antibactérienne**

Dès sa naissance, l'homme se trouve en contact de bactéries qui progressivement colonisent son revêtement cutané-muqueux. Pour résister aux bactéries, de nombreux moyens sont mis en jeu. Les produits antibactériens sont des molécules qui inhibent sélectivement certaines voies métaboliques des bactéries, sans exercer habituellement d'effets toxiques pour les organismes supérieurs. Ces produits peuvent être synthétisés (pharmaceutiques) ou naturels (végétale).

### **2.2.1. Antibiogramme**

#### **2.2.1.1. Solutions à tester**

Pour notre travail, deux solutions ont été testées à partir des feuilles de « *Medicago sativa* » :

- Une décoction, est une opération qui consiste à laisser la poudre du matériel végétal en contact prolongé avec de l'eau bouillante (20g dans 1 litre d'eau) pendant 30 min pour en extraire les principes actifs. C'est une extraction qui se fait à température élevée (150°C).
- Extrait du flavonoïde obtenu à base de solvants organiques.

#### **2.2.1.2. Milieu de culture utilisé**

Pour toutes les cultures, on utilise le milieu de Müller-Hinton (Gélose).

**Milieu Müller-Hinton de:** (g/l) pH = 7.4

- Macération de viande de boeuf 300ml
- Hydrolysate 17.5g
- Amidon 1.5g
- Agar 10g

### **2.2.1.3. Préparation des inoculums**

Les souches ont été au préalable réactivées par ensemencement à la surface de milieux gélosés adaptés et à partir de 3 à 5 colonies isolées et similaires on a préparé les suspensions bactériennes obtenus de l'eau physiologique stérile à une concentration de  $10^6$  -  $10^8$  CFU/ml (0.5 Mc.Farland).

L'ensemencement s'est fait à partir des dites suspensions à l'écouvillon à la surface du milieu solide de Müller-Hinton selon le CLSI (Committee for Laboratory Standards Institute). Sécher les boîtes ensemencées pendant 20 min à l'étuve.

### **2.2.2. Test d'activité antibactérienne**

La méthode utilisée est celle de Vincent:

Des disques de papier buvard calibrés et stériles sont imprégnés par les solutions à tester.

- Des disques sont directement plongés dans la décoction
- 1ml de DMSO est additionné au flacon de flavonoïdes pour les rendre plus fluides et faciliter leur absorption par le disque.

Une fois égouttés, les disques sont disposés à la surface du milieu préalablement ensemencé.

On prendra soins d'appuyer légèrement sur le disque pour assurer le contact avec la gélose. Les boîtes sont ensuite mises à l'étuve à 35°C pendant 24h.

La lecture se fait par la mesure en millimètre du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque.

On traduit les résultats à l'aide du tableau de classement des bactéries selon le diamètre d'inhibition pour définir si la souche étudiée est résistante ou sensible aux solutions étudiées (tableau 18).

**Tableau 18:** Classement des bactéries selon le diamètre d'inhibition

<b>Diamètre d'inhibition</b>	<b>&lt;8 mm</b>	<b>8 → 14mm</b>	<b>14 → 20 mm</b>	<b>&gt;20 mm</b>
Sensibilité du germe	Résistante	Sensibilité limitée	Sensibilité moyenne	Très sensible
Degré d'activité	(-)	(+)	(++)	(+++)

**Remarque :**

On disposera comme témoins, des disques de papier buvard stériles et d'autres imprégnés de DMSO uniquement.

# Chapitre II

## Chapitre II

### Résultats et discussion

### Résultats et discussion

## 1. Caractéristiques physico-chimiques des sols des sites de prélèvements

Selon le tableau 19 on remarque que :

- Le pH est neutre à légèrement basique pour la majorité des sols (tableau 19).
- Tous les sols étudiés sont non salé.
- La teneur en matière organique est très faible pour El Hadjar et l'Aéroport, faible pour Besbes et Ben Mehidi.
- La texture est argilo-limoneuse pour tous les sols à l'exception d'El Hadjar qui est Limono-sableuse.
- Les sols sont moyennement calcaires pour El Hadjar et l'Aéroport et calcaires pour Besbes et Ben Mehidi.

**Tableau 19:** Caractéristiques physico-chimiques

Types de sols	Paramètres étudiés					
	pH eau	pH KCl	Salinité mS/cm à 25°C	Matière organique %	Calcaire %	Texture
<b>El Hadjar</b>	<b>7.66</b>	<b>6.9</b>	<b>0.13</b>	<b>1.2</b>	<b>12.52</b>	<b>Limono-sableuse</b>
<b>Aéroport</b>	<b>7.52</b>	<b>6.80</b>	<b>0.14</b>	<b>1.5</b>	<b>14</b>	<b>Argilo-limoneuse</b>
<b>Besbes</b>	<b>7.61</b>	<b>6.92</b>	<b>0.17</b>	<b>1.8</b>	<b>22.37</b>	<b>Argilo-limoneuse</b>
<b>Ben Mehidi</b>	<b>7.12</b>	<b>7.04</b>	<b>0.12</b>	<b>1.6</b>	<b>23.47</b>	<b>Argilo-limoneuse</b>

## 2. Mise en évidence de quelques métabolites secondaires

### 2.1. Recherche des anthocyanes

L'addition de  $\text{NH}_4\text{OH}$  à l'infusion des feuilles de la luzerne est suivie par un changement de couleur qui indique la présence des anthocyanes.



**Photos 5 :** Recherche des anthocyanes au laboratoire dans les feuilles de la luzerne

## 2.2. Recherche des leuco-anthocyanes

Selon la photo (6) montre l'apparition dans le tube d'une couleur rouge cerise indiquant la présence des leuco-anthocyanes.



**Photo 6 :** Recherche des leuco-anthocyanes dans les feuilles de la luzerne cultivée

## 2.3. Recherche des flavonoïdes

L'apparition d'une couleur jaune claire dans la partie supérieure du tube indique la présence des flavonoïdes.



**Photo 7:** Recherche des flavonoïdes dans les feuilles de la luzerne cultivée

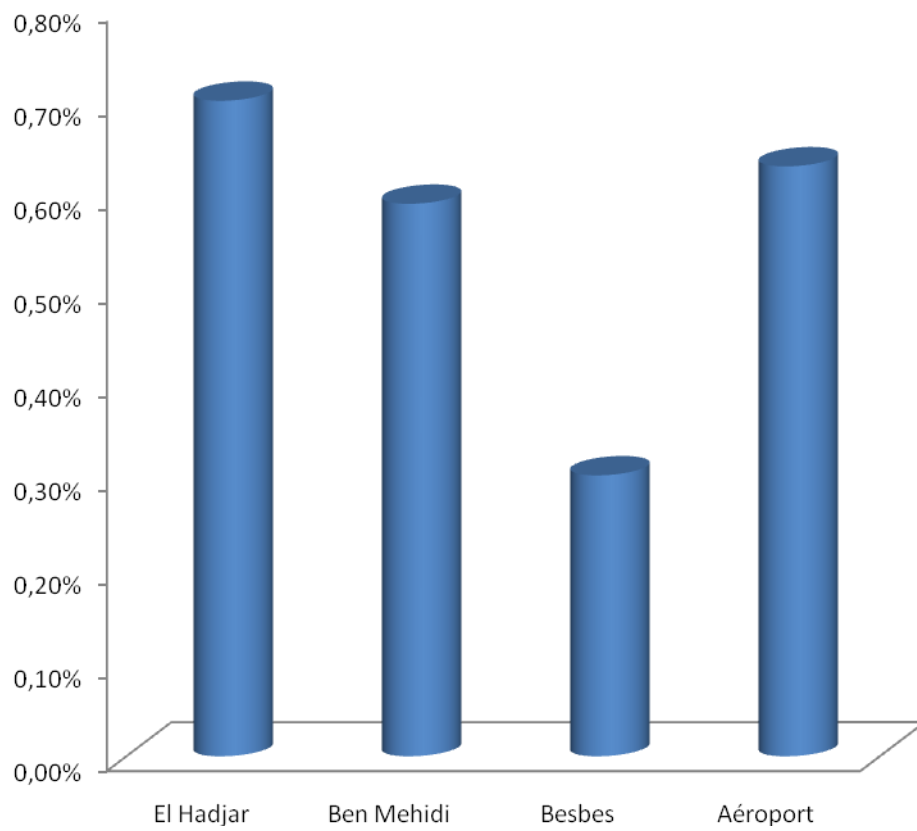
### 3. Détermination du rendement

Selon la figure (23) et en comparaison avec les résultats des analyses physico-chimiques du sol on remarque que :

Les rendements en flavonoïdes varient avec le type de sol. A travers ces résultats et d'après la synthèse bibliographique on peut constater que le sol de Besbes présente les caractères physico-chimiques les plus favorables pour la croissance de la luzerne , malgré ça le taux des flavonoïdes obtenu présentent la plus faible valeur, ceci peut être lié à la présence sur ce sol d'un fort taux de calcaire et à l'absence d'éléments minéraux perturbant la biosynthèse des flavonoïdes.

**Tableau 20:** Rendements en flavonoïdes de l'extrait des feuilles de *Medicago sativa*

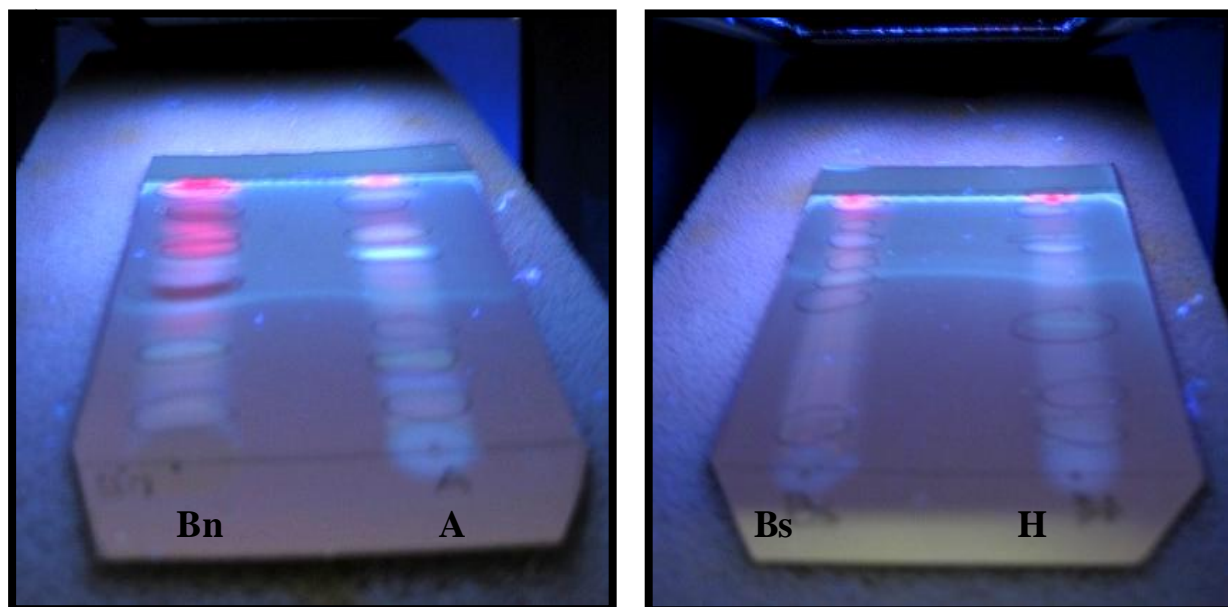
<b>Sites de prélèvement</b>	<b>Rendements (%)</b>
<b>El Hadjar</b>	0.7%
<b>Ben Mehidi</b>	0.59%
<b>Besbes</b>	0.3%
<b>Aéroport les salines</b>	0.63%



**Figure 23 :** Rendements en flavonoïdes

#### 4. L'analyse de la composition chimique des flavonoïdes par CCM

La photo (8) relative aux résultats de la C.C.M. observés à 365 nm à la lampe de Wood indiquent pour chaque type de sol, la présence pour chaque extrait de sept taches de différentes couleurs.



**Photos 8:** La chromatographie sur couche mince des quatre extraits observés à la lampe de Wood (365 nm)

**Tableau 21 :** Fractions des extraits flavonoïques isolés par CCM (Station de Ben Mehedi)

Taches observées	Couleurs sous UV (365 nm)	Rapports frontaux	Types des flavonoïdes possibles
Bn <sub>1</sub>	Jaune	0.129	Flavones
Bn <sub>2</sub>	Jaune brun	0.29	Flavones, flavonols
Bn <sub>3</sub>	Rouge	0.483	Anthocyanidine-3 glycosides
Bn <sub>4</sub>	Violet	0.645	Flavones
Bn <sub>5</sub>	Violet	0.693	Flavones
Bn <sub>6</sub>	Violet	0.822	Flavones
Bn <sub>7</sub>	Violet	0.935	Flavones

**Tableau 22** : Fractions des extraits flavonoïques isolés par CCM (Station d'Aéroport)

<b>Taches observées</b>	<b>Couleurs sous UV (365 nm)</b>	<b>Rapports frontaux</b>	<b>Types des flavonoïdes possibles</b>
A <sub>1</sub>	Orange	0.112	Anthocyanidine-3 glycosides
A <sub>2</sub>	Vert	0.225	Flavones -Flavonones
A <sub>3</sub>	Pourpre	0.338	Flavonols - Flavones-Isoflavones- Chalcones -Flavonones
A <sub>4</sub>	Jaune	0.596	Flavones
A <sub>5</sub>	orange	0.693	Anthocyanes
A <sub>6</sub>	Jaune verdâtre	0.838	Flavones-Flavonones
A <sub>7</sub>	Violet	0.951	Flavones

**Tableau 23** : Fractions des extraits flavonoïques isolés par CCM (Station de Besbes)

<b>Taches observées</b>	<b>Couleurs sous UV (365 nm)</b>	<b>Rapports frontaux</b>	<b>Types des flavonoïdes possibles</b>
Bs <sub>1</sub>	Orange	0.104	Anthocyanes
Bs <sub>2</sub>	Rouge	0.477	Anthocyanes
Bs <sub>3</sub>	Violet	0.567	Flavones
Bs <sub>4</sub>	Violet	0.641	Flavones
Bs <sub>5</sub>	Orange	0.731	Anthocyanes
Bs <sub>6</sub>	Jaune verdâtre	0.791	Flavones-Flavonones
Bs <sub>7</sub>	Violet	0.895	Flavones

**Tableau 24** : Fractions des extraits flavonoïques isolés par CCM (Station d'El Hadjar)

<b>Taches observées</b>	<b>Couleurs sous UV (365 nm)</b>	<b>Rapports frontaux</b>	<b>Types des flavonoïdes possibles</b>
H <sub>1</sub>	Jaune	0.104	Flavones
H <sub>2</sub>	Bleu	0.194	Acides phénols
H <sub>3</sub>	Violet	0.402	Flavones
H <sub>4</sub>	Jaune	0.701	Flavones
H <sub>5</sub>	Vert	0.746	Flavones-Flavonones
H <sub>6</sub>	Bleu	0.88	Acide phénol
H <sub>7</sub>	Violet	0.955	Flavones

La révélation de ces taches (tableaux 21, 22, 23,24) nous a permis d'après les recherches bibliographiques, d'identifier des flavones, des flavonones, des flavonols, des chalcones, des isoflavones, des anthocyanes et des acides phénols. La composition des extraits en ces composés varie selon la nature du sol. On peut noter également que dans le même extrait un même composant peut se présenter avec des Rf différents.

Pour les quatre stations, les flavones sont représentés par la plus forte proportion par rapport à la composition chimique totale.

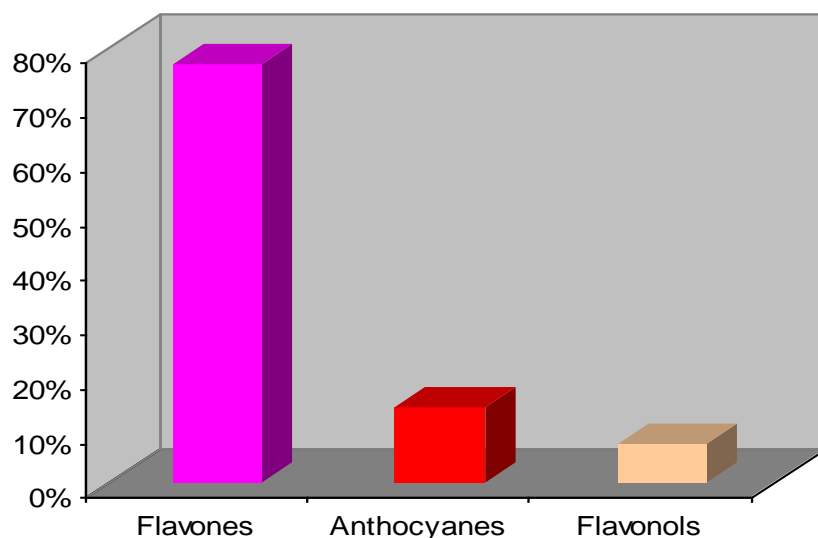
Les flavonoïdes extraits des feuilles récoltées sur des stations de Ben Mehidi, Besbes, El Hadjar, représentent seulement trois composés chimiques de qualités et de proportions différentes selon la nature de sol.

L'extrait flavonoïque isolé des feuilles récoltées de la station de l'Aéroport (figure 25) est qualitativement le plus riche. Du point de vue quantitatif les différents composés représentent des proportions plus ou moins faibles par rapport aux autres stations.

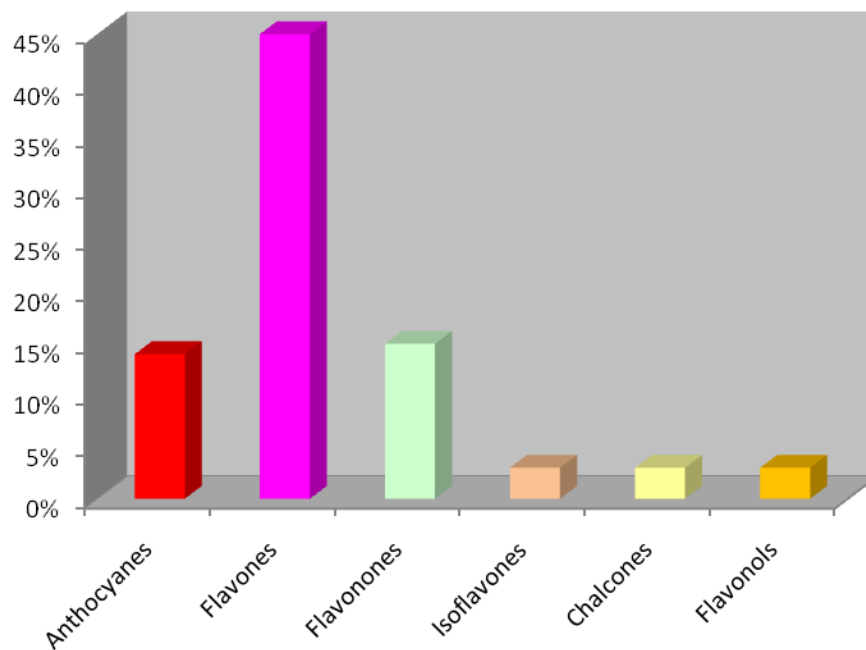
La figure (24) signale, les anthocyanes et les flavonols comme deuxième et troisième composés important du point de vue qualitatif après les flavones.

La figure (26) signale, les anthocyanes et les flavonones comme deuxième et troisième composés. Ce dernier est absent sur la station de Ben Mehidi.

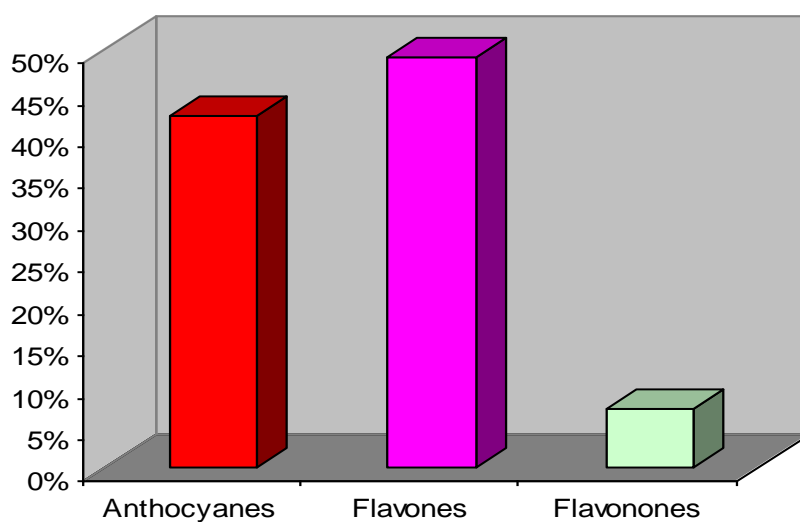
Les flavonoïdes représentés par la figure (27) renferment en plus des flavones présents dans tous les échantillons, des acides phénols et des flavonones. L'acide phénol comme deuxième constituant chimique de cette station est absent dans la composition chimique des extraits des stations de Ben Mehidi, l'Aéroport et Besbes (figure 24, 25, 26).



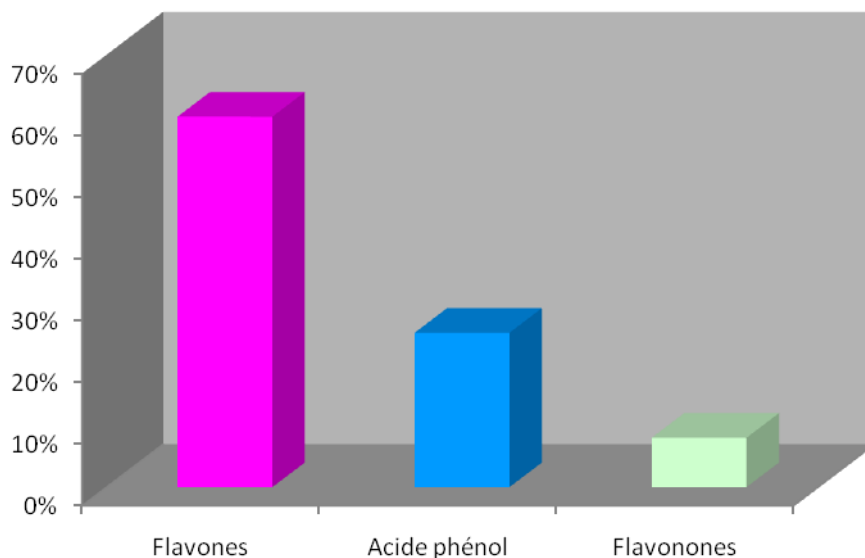
**Figure 24** : Proportions en différentes fractions par rapport à la composition chimique totale de de l'extrait flavonoïque (station de Ben Mehidi)



**Figure 25** : Proportions en différents fractions par rapport à la composition chimique totale de l'extrait flavonoïque (station d'Aéroport)



**Figure 26** : Teneur en différents fractions par rapport à la composition chimique totale de l'extrait flavonoïque (station de Besbes)



**Figure 27** : Teneur en différents fractions par rapport à la composition chimique totale de l'extrait flavonoïque (station d'El Hadjar)

les flavones sont les constituants majeurs des extraits flavonoïques pour toutes les stations, suivi par les anthocyanes qui sont présents dans tous les extraits à l'exception de l'extrait d'El Hadjar.

Les composés flavonoïques de la station d'El Hadjar sont les plus diversifiés qualitativement.

### **Conclusion**

Selon ces résultats on peut dire que l'extrait foliaire de la luzerne cultivée « *Medicago sativa* » contient principalement des flavones, des flavonols, des flavonones et des anthocyanes.

les flavones sont les constituants majeurs des extraits flavonoïques pour toutes les stations, suivis par les anthocyanes qui sont présents dans tous les extraits à l'exception de l'extrait d'El Hadjar.

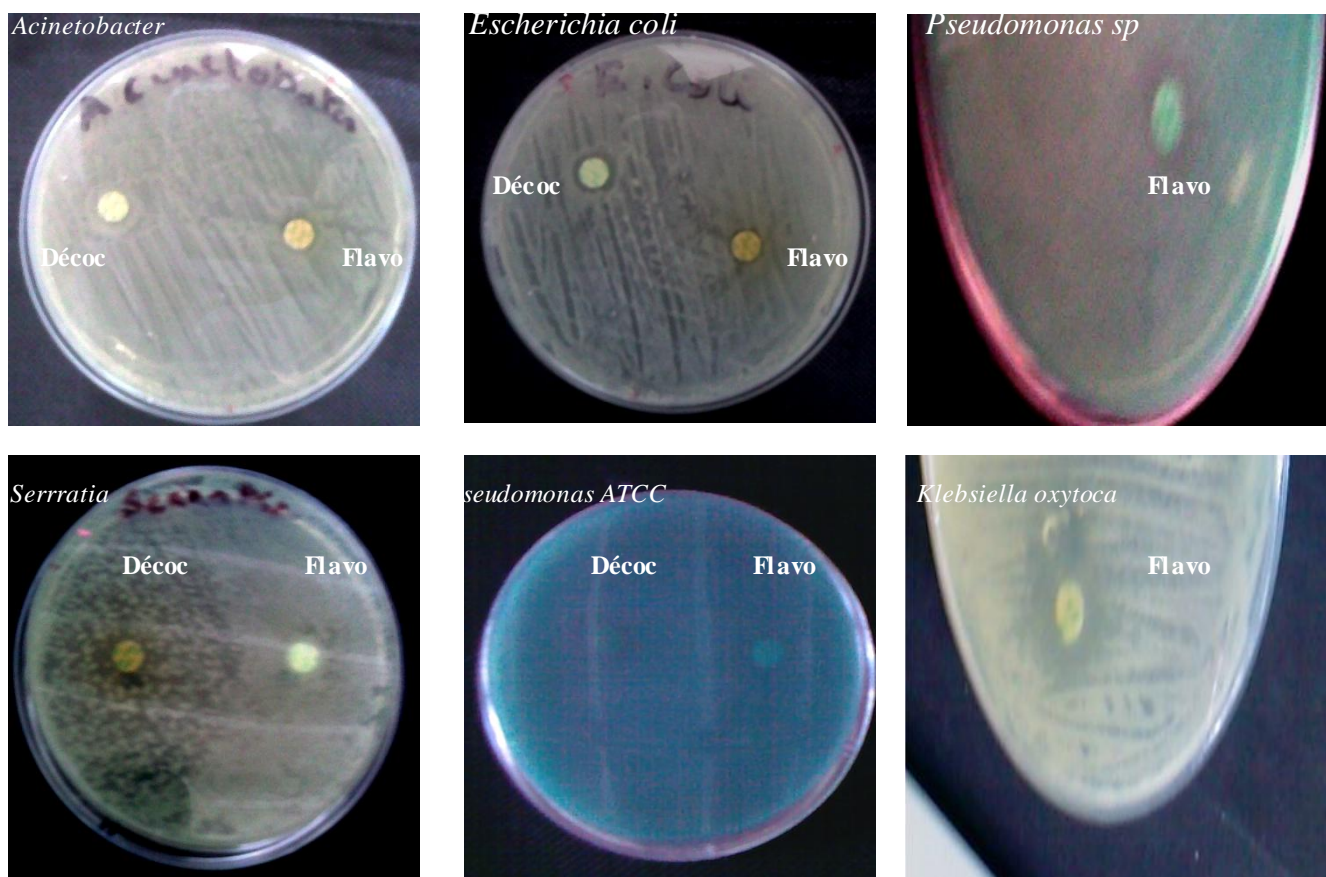
Les composés flavonoïques de la station d'El Hadjar sont les plus diversifiés qualitativement.

Ceci montre que la nature du sol a également une influence sur la composition chimiques des flavonoïdes.

## 5. Etude de l'activité antibactérienne

### 5-1 Spectre d'activité des flavonoïdes et de la décoction des feuilles « *Medicago sativa* » sur les souches étudiées

Selon les photos (9) et le tableau de classement des bactéries de *Puraffond* les résultats de notre activité antibactérienne sont représentés sur le tableau (25)



**Photos 9:** Test d'activité antibactérienne des flavonoïdes et de la décoction des feuilles  
de *Medicago sativa*

**Tableau 25** : Spectre d'activité des flavonoïdes et de la décoction des feuilles « *Medicago sativa* » sur les souches étudiées

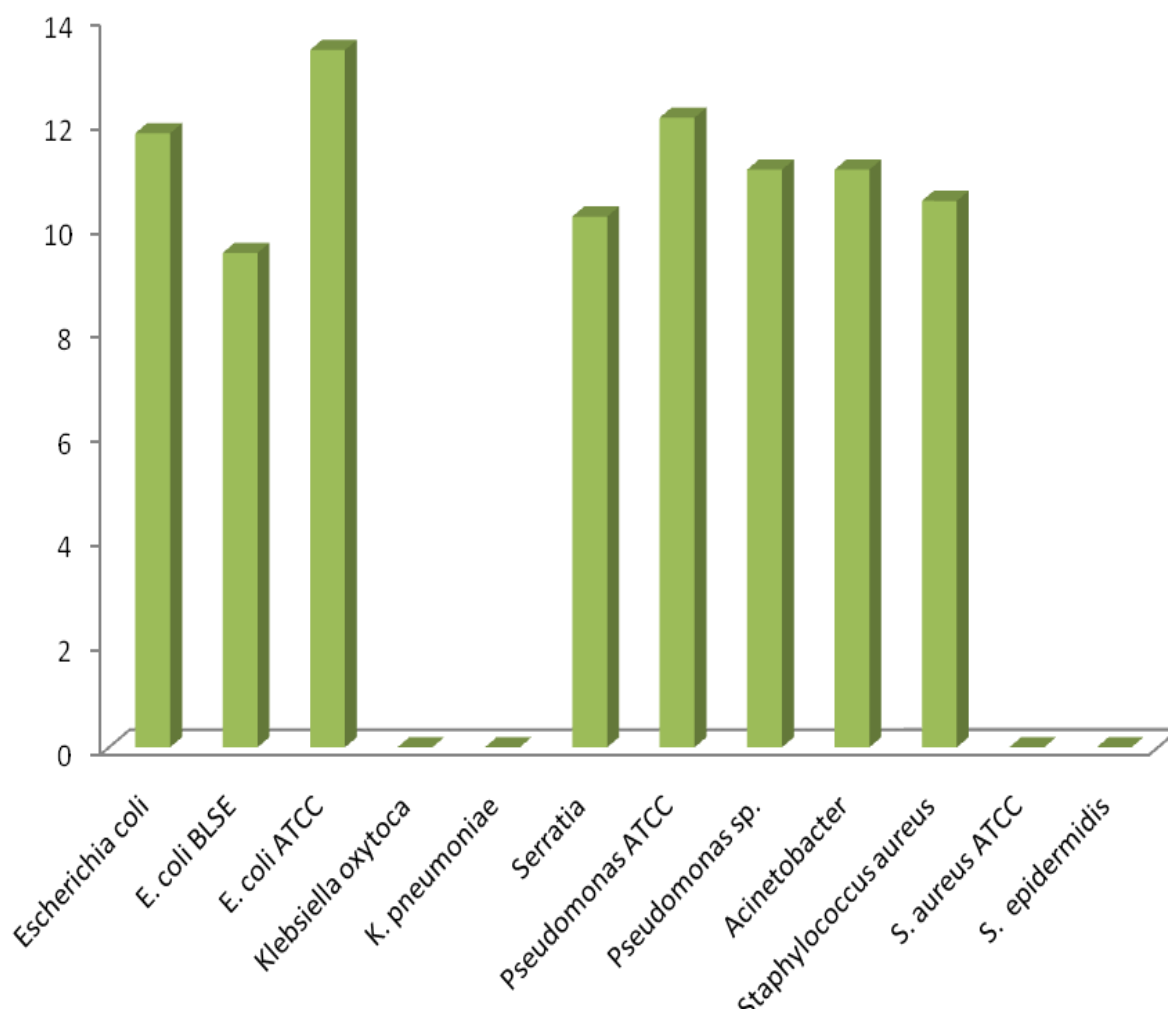
Souches bactériennes	Diamètres des zones d'inhibitions (mm)		Sensibilité du germe		Degré d'activité	
	Déco	Flavo	Déco	Flavo	Déco	Flavo
<i>Escherichia coli</i>	11.8	10.6	Sensibilité limitée	Sensibilité limitée	+	+
<i>E. coli BLSE</i>	9.5	8.1	Sensibilité limitée	Sensibilité limitée	+	+
<i>E. coli ATCC</i>	13.4	9.3	Sensibilité limitée	Sensibilité limitée	+	+
<i>Klebsiella oxytoca</i>	<8	18.7	Résistante	Sensibilité moyenne	-	++
<i>K. pneumoniae</i>	<8	<8	Résistante	Résistante	-	-
<i>Serratia</i>	10.2	9.1	Sensibilité limitée	Sensibilité limitée	+	+
<i>Pseudomonas ATCC</i>	12.1	10.5	Sensibilité limitée	Sensibilité limitée	+	+
<i>Pseudomonas sp.</i>	11.1	8.1	Sensibilité limitée	Sensibilité limitée	+	+
<i>Acinetobacter</i>	11.1	9.7	Sensibilité limitée	Sensibilité limitée	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	10.5	9.9	Sensibilité limitée	Sensibilité limitée	+	+
<i>S. aureus ATCC</i>	<8	11.5	Résistante	Sensibilité limitée	-	+
<i>S. epidermidis</i>	< 8	9.8	Résistante	Sensibilité limitée	-	+

De façon générale, la plupart de nos extraits ont une activité antibactérienne qui varie d'une souche à une autre.

### 5-2 Effets de la solution de décoction sur la croissance des souches bactériennes testées

La décoction présente une activité antibactérienne importante sur toutes les souches à l'exception de : *Klebsiella oxytoca*, *K. pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* ATCC, *S. epidermidis*, qui sont résistantes à ce produit (figure 28).

Zone d'inhibition (en mm)

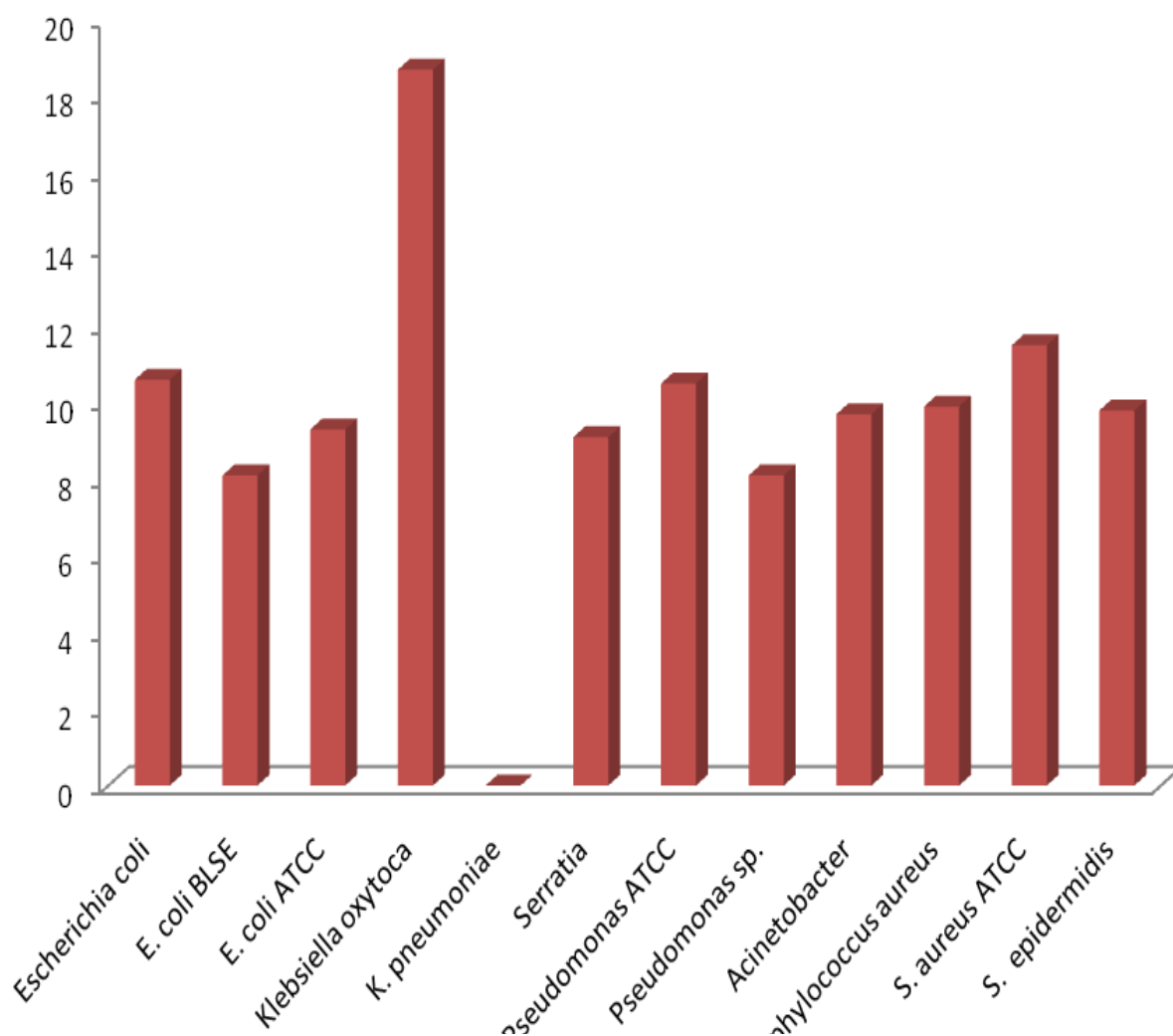


**Figure 28 :** Effets de la solution de décoction sur la croissance des souches bactériennes testées

### 5-3 Effets des extraits flavonoïques sur la croissance des souches bactériennes testées

En ce qui concerne l'extrait flavonoïque son activité est importante sur *Klebsiella oxytoca*, elle est moyennement importante sur les autres bactéries, à l'exception de *K. pneumoniae* qui a été résistante à cet extrait, les autres présentent une activité importante (figure 29).

Zone d'inhibition (en mm)

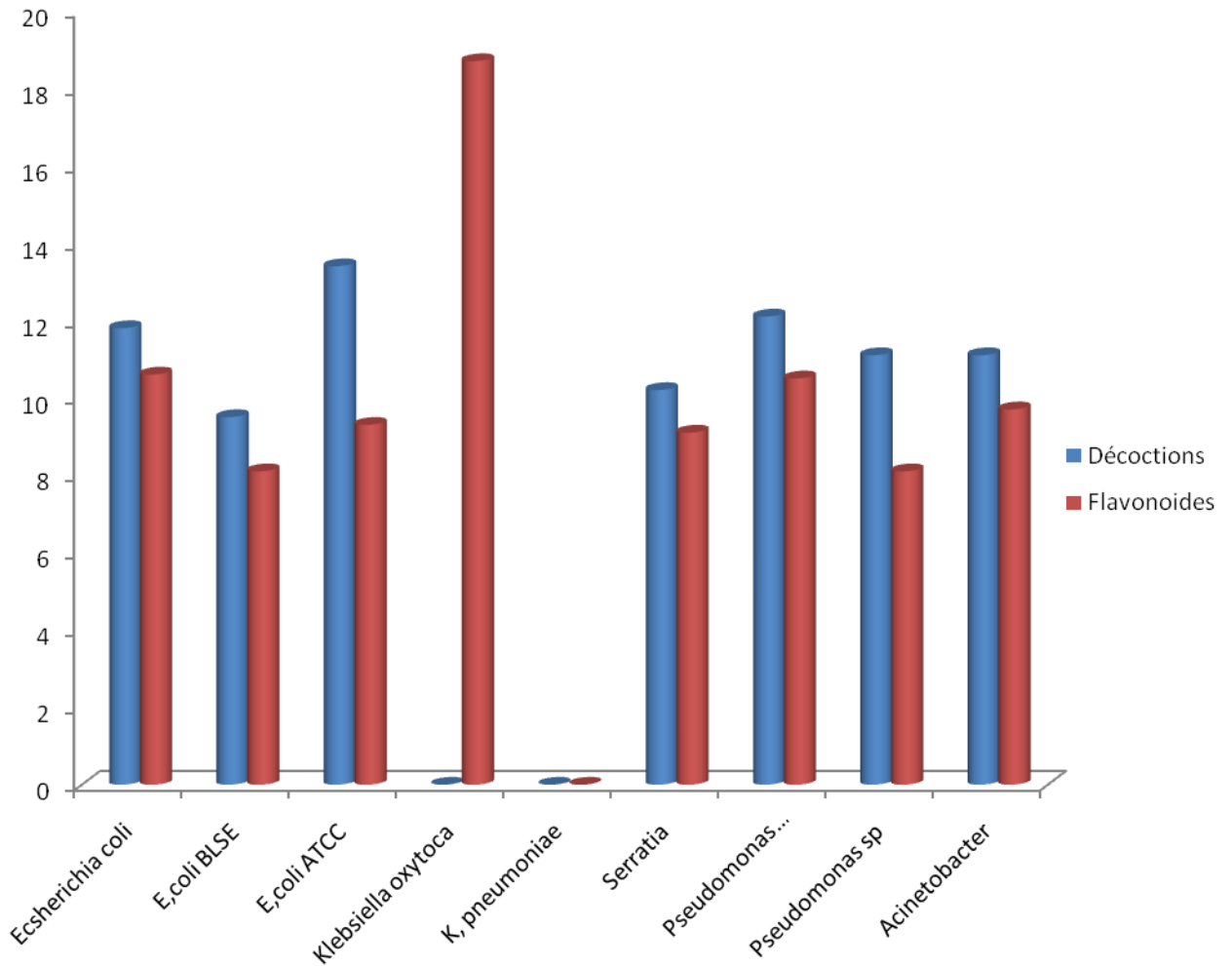


**Figure 29 :** Effets des extraits flavonoïques sur la croissance des souches bactériennes testées

#### 5-4 Etude comparative de l'activité antibactérienne de la décoction et de l'extrait flavonoïques des feuilles la luzerne sur les bactéries Gram<sup>-</sup>

L'étude comparative de l'effet de la décoction et de l'extrait (figure 30) nous a permis de constater que la décoction présente des zones d'inhibition sur les bactéries Gram<sup>-</sup> étudiées, supérieures à celles de l'extrait flavonoïque, à l'exception de *Klebsiella oxytoca* qui est résistante pour la décoction mais présente par contre une sensibilité moyenne pour l'extrait flavonoïque avec le diamètre de zone d'inhibition le plus important (18,7 mm).

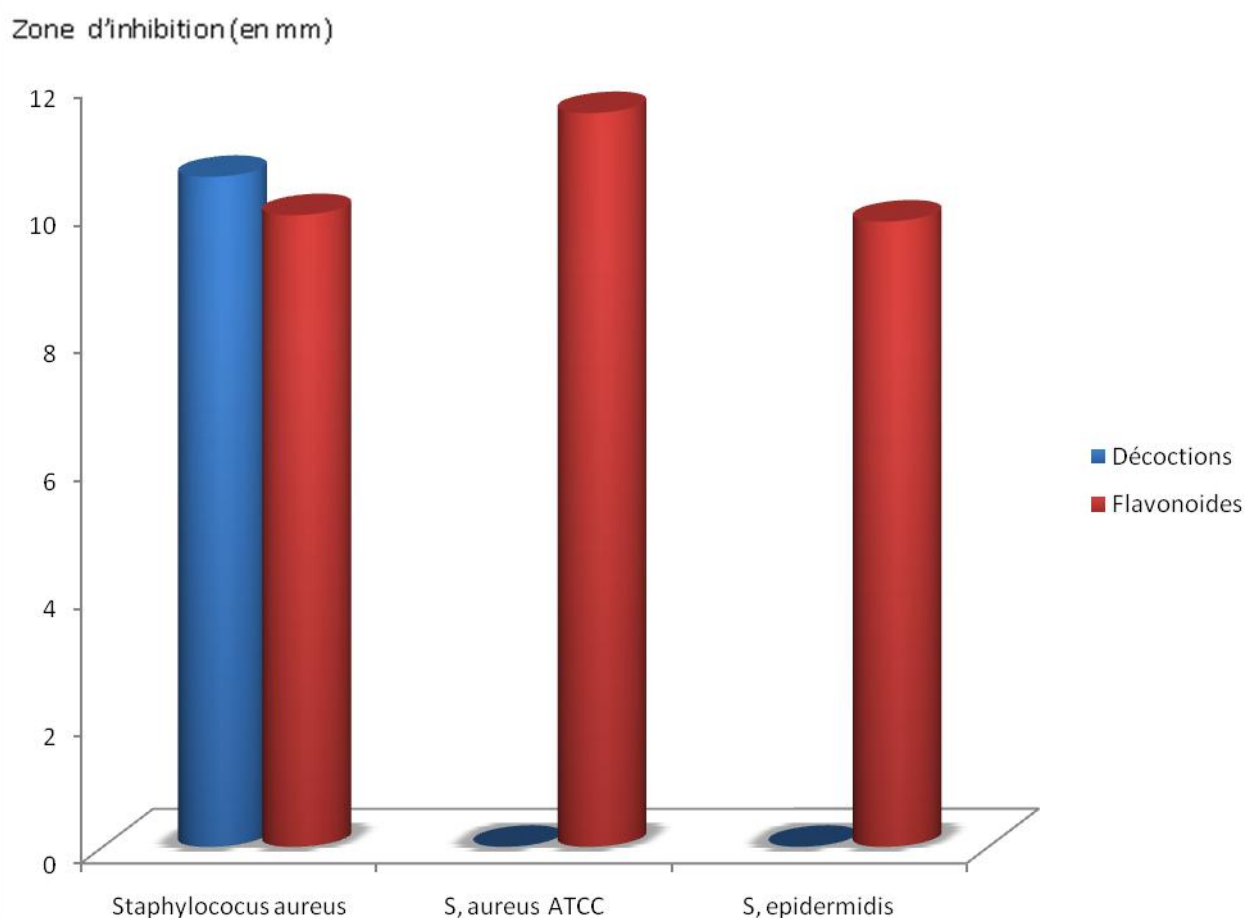
Zone d'inhibition (en mm)



**Figure 30 :** Etude comparative de l'activité antibactérienne de la décoction et de l'extrait flavonoïques des feuilles la luzerne sur les bactéries Gram<sup>-</sup>

### 5-5 Etude comparative de l'activité antibactérienne de la décoction et de l'extrait flavoniques des feuilles de luzerne sur les bactéries Gram<sup>+</sup>

Sur les trois bactéries Gram<sup>+</sup> étudiés, deux (*S. aureus* ATCC et *S. epidermidis*) sont résistantes à la décoction. Une zone d'inhibition de la croissance de *Staphylococcus aureus* est apparue autour du disque imprégné par cette solution (figure 31). Les trois souches sont par contre sensibles à l'extrait.



**Figure 31 :** Etude comparative de l'activité antibactérienne de la décoction et de l'extrait flavoniques des feuilles la luzerne sur les bactéries Gram<sup>+</sup>

## **Conclusion**

On peut dire qu'il est évident d'utiliser la décoction des feuilles de la luzerne cultivée « *Medicago sativa* » pour traiter les maladies provoquées par les Bactéries de Groupe des Non Entérobactérie (BGNNE) (Gram-) comme les infections nosocomiales, les infections des voies respiratoires, infections urinaires et l'infection des parties molles, par contre on peut utiliser l'extrait des flavonoïdes de la luzerne cultivée particulièrement aux infections nosocomiales, mais aussi pour les infections urinaires, les infections des voies respiratoires et l'infection des parties molles.

# Conclusion et perspectives

## *Conclusion et perspectives*

Au terme de notre travail expérimental, nous pouvons dire que la luzerne cultivée ou *Medicago sativa* est une plante médicinale par excellence. L'étude phytochimique de ses extraits foliaires a mis en évidence la présence de métabolites secondaires tels que les anthocyanes, les leuco-anthocyanes et les flavonoïdes connus pour leurs effets thérapeutiques.

L'étude des caractères physico-chimiques des sols et des extraits foliaires, prouvent que la nature du sol joue un rôle important sur le rendement en flavonoïdes ainsi que sur la qualité et la quantité de leurs composants chimiques.

Les tests d'activité antibactérienne de l'extrait et de la décoction des feuilles de *Medicago sativa*, réalisés sur douze germes bactériens pathogènes : des bacilles Gram<sup>-</sup> et des cocci Gram<sup>+</sup> montrent que cette espèce a une activité antibactérienne importante, la majorité des souches est sensible aussi bien à l'extrait des flavonoïdes qu'au décocté des feuilles. Quelques souches se sont montrées résistantes, il s'agit de *K. pneumoniae* pour l'extrait et de *Klebsiella oxytoca*, *K. pneumoniae*, *S. aureus* ATCC et *S. epidermidis* pour le décocté. Ces résultats sont très prometteurs surtout dans le cas des infections nosocomiales pour l'extrait flavonoïque et des infections urinaires et des parties molles pour la décoction. Ce qui apporte une validation scientifique de l'usage traditionnel de cette espèce.

Pour le futur nous envisageons de mieux identifier quantitativement et qualitativement les composés flavonoïques de la luzerne cultivée par plusieurs techniques (CPG, RMN, HPLC) et de poursuivre cette étude sur un grand nombre d'échantillons au niveau de plusieurs zones pour déterminer précisément l'influence de l'environnement sur le rendement et la qualité des flavonoïdes. L'étude d'autres principes actifs de cette plante tels que les vitamines, les saponines, les anthocyanes ainsi que l'activité microbienne sur d'autres souches sont également à envisager.

# Résumés

## Résumés

## ***Résumé***

L'objectif de cette étude est de comparer les rendements et la composition chimique des flavonoïdes isolés des feuilles de « *Medicago sativa* » prélevées sur quatre stations différentes dans les régions d'Annaba et d'El Tarf.

L'effet antibactérien de l'extrait flavonoïque ainsi que celui de la décoction des feuilles de « *Medicago sativa* » ont été également analysés sur plusieurs souches bactériennes du groupe Gram<sup>+</sup> et Gram<sup>-</sup>.

Les résultats des analyses effectuées montrent que les caractéristiques physico-chimiques des sols influencent les rendements et l'aspect chimique des flavonoïdes.

La chromatographie sur couche mince (CCM) a permis d'identifier dans les extraits, des composés tels que les flavones, les flavonols et les anthocyanes qui varient avec les types du sol.

L'activité antibactérienne étudiée sur douze souches bactériennes montre qu'il existe une sensibilité importante de la majorité des souches à nos produits.

**Mots clés :** *Medicago sativa* L ; luzerne ; flavonoïdes ; sol ; CCM ; effet antibactérien ; décoction.

## ***Abstract***

The objective of this study is to compare the yield and chemical composition of flavonoids isolated from leaves "*Medicago sativa*" taken from four stations in different regions of Annaba and El Tarf.

The antibacterial effect of the flavonoid extract and decoction of the leaves "*Medicago sativa*" were also analyzed on several bacterial strains of group Gram + and Gram-.

The results of analysis show that the physico-chemical properties of soil influence the yields and the chemistry of flavonoids.

The thin layer chromatography (CCM) has been identified in extracts, compounds such as flavones, flavonols and anthocyanins, which vary with soil types.

The antibacterial activity studied twelve bacterial strains shows that there is a significant sensitivity of most strains in our products.

***Key words:*** *Medicago sativa* L; alfalfa flavonoids; soil; CCM; antibacterial effect; concoction.

## ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو المقارنة بين العائد والتركيب الكيميائي للمركبات الفلافونويد معزولة عن يترك

"*Medicago sativa*" التي أخذت من أربعة مراكز في مناطق مختلفة من عنابة والطارف.

تأثير مضاد للجراثيم لاستخراج الفلافونويد و مستخلص "*Medicago Stiva*" كما تم اختبارها على عدة سلالات بكتيرية من جماعة + الغرام و - الغرام.

نتائج التحليل أن الخصائص الفيزيائية والكيميائية للتربة لها تأثير على الفلافونويدس.

التصوير اللوني على طبقة رقيقة (CCM) سمحت بتحديد مركبات مثل فلافونيس ، الفلافونول والانثوسيانين ، والتي تختلف مع أنواع التربة.

النشاط المضاد للبكتيريا درس اثني عشر سلالات بكتيرية يدل على ان هناك حساسية كبيرة من سلالات أكثر في محاليلنا.

**الكلمات المفتاحية:** *Medicago sativa* ؛ فلافونويدس , البرسيم ؛ التأثير مضاد للجراثيم , التربة .

# Références bibliographiques

## ***Références bibliographiques***

- Alcocer-Varela J, Iglesias A, Llorente L and Alarcon-Segovia D**; 1985. Effects of L-canavanine on Tcells may explain the induction of systemic lupus erythematosus by alfalfa. *Arthr Rheum.* pp. 28 -52-57.
- Alexander D** ; 1996. Initiation à l'agroforesterie en zone sahélienne. Ed. IRD et Karthala. pp. 58.
- Anonyme 1** ; 1959. Physiologie végétale. Ed. De Boeck Université. pp. 273-282.
- Anonyme 2** ; 2002. Dictionnaire médical. Ed. Masson. PP. 977-978.
- Anonyme 3** ; 2004. Pharmacologie intégrée. Ed. De Boeck Université. pp. 488-500.
- Anonyme 4** ; 2007. Le corps humain étude, structure et fonction. Ed. De Boeck Université. pp. 2-4.
- Anonyme 5**; 2008. Encyclopédie des plantes médicinales. Ed. Larousse. pp. 10-233.
- Bahorun T**; 1997. Substances naturelles actives : La flore mauricienne. Une source d'approvisionnement potentielle. Food and agricultural research council, mauritius. pp.83-85.
- Bardana EJ, Malinow MR, Houghton DC, McNulty WP, Wuepper KD, Parker F et Pirofsky B**; 1982. Diet-induced systemic lupus erythematosus (SLE) in primates. *Am J Kidney Dis.* pp.1- 345-352.
- Bassomo M.Y,1Pegnyemb D.E, Ngo Mbing J, Atchade D.T, Tih R.G , Sondengam B.L, Blond, A et Bodo B** ; 2004. Flavonoïdes isolés des feuilles de *Ochna afzelii* et Hémisynthèse des Afzelodines A,B et C à partir de la dihydrolophirone C. CNRS, Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris, France. pp 101.
- Bertin E** ; 2002. Les extraits foliaires de la luzerne EFL. Dossier scientifique. L'UFR médecine de l'université de Remis. pp. 9-23.
- Boisseau N** ; 2005. Nutrition et bioénergétique du sportif. Ed. Masson. pp. 167-172.
- Boullard B** ; 2002. Plantes et champignons. Ed. Estem. pp. 10.

- Bouvenot G , Devulder B, Guillevin L, Queneau P et Schaeffer A ;** 1994. Pathologie médicale. Ed. Masson. pp. 465-472.
- Bourdon D, Perez JM, Henry Y et Calmes R ;** 1980. Valeur énergétique et azotée d'un concentré de protéines de luzerne, le « PX1 », et utilisation par le porc en croissance-finition. Journées Rech Porcine en France. pp.227-244.
- Braden AWH, Hart NK et Lamberton JA ;** 1967. Oestrogenic activity and metabolism of certain isoflavones in sheep. Aus J Agric Res. pp. 355-348.
- Campbell J et Stevens K ;** 2001. Botanique Systématique. Ed. De Boeck Université. PP. 87.
- Carr JR et Pearson G ;** 1974. Nutritive value of Lucerne leaf-protein concentrate and lupin seed-meal as protein supplements to barley diets for growing pigs. Proc N Z Soc Anim Prod.pp. 95 – 100.
- Causse C ;** 2005. Les secrets de santé des antioxydants. Ed. Alpen. pp. 44-45.
- Cazaubon M ;** 2003. **Programme jambes légères. Ed. Alpen. pp. 82-83.**
- Chaabena A et Abdelguerfi A ;** 2001. Situation de la luzerne pérenne dans le Sahara et comportement de quelques populations locales et variété introduites dans le sud-est du Sahara algérien. Université de Ourgla, Institut d'Agonomie Saharienne, Ourgla, Algérie .Institut National Agronomique, El Harrach. pp. 58.
- Chaby L ;** 2002. La ménopause pour le praticien. Ed. Estem. pp. 3-11.
- Chenna A ;** 2009. Inventaire de la famille des Oléacées dans le Parc national d'El-Kala (P.N.E.K). Phytochimie de *Olea europea.L.*.Mémoire de Magister en physiologie des plantes médicinales Université d'Annaba Algérie. pp. 66-71.
- Collins BM, Mc Lachlan JA et Arnold SF;** 1997. The estrogenic and antiestrogenic activities of phytochemicals with the human estrogen receptor expressed in yeast. Steroids. pp. 365-372.
- Davet P ;** 1996. Vie microbienne du sol et production végétale. INRA.pp.15.
- Delaude C ;** 2004. Afrique guérisseurs, plantes médicinales et plantes utiles. Ed. Maisonneuve et Larose. pp. 21-25.
- Descheemaeker K et Provoost C ;** 1999. L'impact de la nutrition sur la santé. Ed. Garant. pp. 95-96.
- Descheemaeker K ;** 2000. Nutri- et phytothérapie développement récents -1. Ed. Garant. pp. 47-51.

- Descheemaeker K** ; 2002. Nutri- et phytothérapie développement récents -3. Ed. Garant. pp. 11-29.
- Devadas RP et Murthy NK**; 1978. Biological utilisation of beta-carotene from Amaranth and leaf protein in preschool children. *World Rev Nutr Diet*. pp. 159-161.
- Devadas RP, Vijayalakshmi P et Vijaya S**; 1984. Studies on nutritional trial with preschool children with low cost leaf protein supplements in ‘current trends in life sciences’ vol XI – 1984 – progress in leaf protein research . Ed. N Singh. pp. 311-315.
- Djabou N** ; 2006. *Sambus nigra L* ; une plante de la pharmacopée traditionnelle Nord africaine. Mémoire du Magistère en chimie université Abou Bekr Belkaid Tlemcen Algérie. pp. 100-105.
- Dohou N , Yamni K , Tahrouch S , Idrissihassani L.M , Badoc A et Gmira N** ; 2003 ; Screening phytochimique d’une endémique Ibéro-Marocaine *Thymelaea lythroïdes* . *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*. pp. 72.
- Doraiswamy TR, Singh N et Daniel VA** ;1969. Effects of supplementing ragi (*Eleusine coracana*) diets with lysine or leaf protein on the growth and nitrogen metabolism of children. *Br J Nutr*. pp. 737-743.
- Dupin H , Cuq J, Malewiak M , Leynaud-Rouaud C et Berthier A**; 1992. Alimentation et nutrition humaines. Ed. E S F. pp. 107-116.
- Duraffourd C et Lapraz J** ; 1998. Traité de phytothérapie clinique. Ed. Masson. pp. 471-474.
- Ernst E** ; 2005. Médecines alternatives le guide critique. Ed. Elsevier. pp.216.
- Farnsworth N , Akerele O , Bingel A , Soejarto D et Guo Z**; 1986. Place des plantes médicinales dans la thérapeutiques. Organisation Mondiale de la Santé. pp. 159-160.
- Fenwick DE et Oakenfull D**; 1983. Saponin content of food plants and some prepared foods. *J Sci Food Agric*. pp. 186-191.
- Gallais A et Bannerot H** ; 1992 . Amélioration des espèces végétales cultivées. Ed. INRA. pp. 328-334.
- Gassier J ; Bru M ; Lecocq R ; Moussy-Binet G et Seibert C** ; 2008. Le Méga Guide concours AS/AP. Ed. Masson. pp. 307-311.
- Gastineau I et Mathan O** ;1980. La préparation industrielle de la protéine verte de luzerne. In : Gauthier-Villars, ed. Costes C. Protéines foliaires et alimentation. Paris. pp. 159-182.
- Granner M et Rodwell M** ; 2004 ; Biochimie de Harper. Ed. De Boek Université; Les Presses de l’université Laval. pp. 628-658.

**Hostettman K** ; 2006. Les phyto-oestrogènes une alternative de choix contre les troubles de la ménopause. Ecole de Pharmacie Genève-Lausanne.

**Houghton P. J et Raman A**; 1998. Laboratory Hand book for Fractionation of Natural Extracts. Ed. Chapman et Hall. Londres. pp. 29-31.

**IESV**; 2006. Institut Européen des Substances Végétales.

**Jefferson WN, Padilla-Banks E, Clark G et Newbold RR**; 2002. Assessing estrogenic activity of phytochemicals using transcriptional activation and immature mouse uterotrophic responses. J Chromatogr. B. pp. 179-189.

**Lagnika.L** ; 2005. Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes Béninoises. Thèse du grade de docteur de L'université Louis Pasteur Domaine : Pharmacognosie. pp.86-94

**Lala VR et Reddy V**; 1970. Absorption of beta-carotene from green leafy vegetables in undernourished children. Am J Clin Nutr. pp. 110-113.

**Macheix J, Fleuriot A et Jay-Allemand C** ; 2005. Les composés phénoliques des végétaux. Ed. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes. pp. 68-74.

**Malinow MR, Mc Nulty WP, Houghton DC, Kessler S, Stenzel P, Goodnight SH, Bardana EJ, Palotay JL, Mc Laughlin P et Livingston AL**; 1982. Lack of toxicity of alfalfa saponins in cynomolgus macaques. J Med Primatol. pp. 106-118.

**Malinow MR, Bardana EJ, Pirofsky B, Craig S et McLaughlin P**; 1982. Systemic lupus erythematosus-like syndrome in monkeys fed alfalfa sprouts: role of a nonprotein amino acid. Science. pp. 415-417.

**Malinow MR, McLaughlin P, Bardana EJ et Craig S**; 1984. Elimination of toxicity from diets containing alfalfa seeds. Food Chem Toxicol. pp. 583-587.

**Mauries M**; 2003. Luzerne culture récolte conservation. Ed. France agricole. pp. 12-13.

**Mazur W**; 1998. Phytoestrogen content in foods. Baill Clin Endocrinol Metab. pp. 729-742.

**Milane H** ; 2004. La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres, études et applications thérapeutiques. Thèse du grade de docteur en sciences de l'université Louis Pasteur Strasbourg Domaine : Pharmacochimie. pp. 23-36.

**Morimoto I, Shiozawa S, Tanaka Y et Fujita T**; 1990. L-canavanine acts on suppressor-inducer T cells to regulate antibody synthesis: lymphocytes of systemic lupus erythematosus patients are specifically unresponsive to L-canavanine. Clin Immunol Immunopathol. pp. 97-108.

- Moulin M et Coquerel A** ; 1995. Pharmacologie. Ed. Masson. PP. 555-557.
- Pilardeau P** ; 1999. Biochimie et nutrition des activités physiques. Ed. Masson. PP. 481-536.
- Newsome FE et Kitts WD**; 2002. Action of phytoestrogens coumestrol and genistein on cytosolic and nuclear oestradiol-17B receptors in immature rat uterus. Anim Reprod Sci. pp. 233-245.
- Olatunbosun DA, Adadevoh BK et Oke OL**; 1972. Leaf protein : a new protein source for the management of protein calorie malnutrition in Nigeria. Nigerian Med J. pp. 195-199.
- Pirie NW**; 1959. Leaf protein as human food. Lancet. pp. 961-962.
- Pirie NW**; 1966. Leaf protein as a human food. Science. pp. 1701-1705.
- Pocock VJ, Sales GD et Milligan SR**; 2002. Comparison of the oestrogenic effects of infant milk formulae, oestradiol and the phytoestrogen coumestrol delivered continuously in the drinking water to ovariectomised mice. Food Chem Toxicol. pp. 643-651.
- Portet B** ; 2007. Recherche bioguidée de molécules antipaludiques d'une plante guyanaise *Piper hostmannianum* var. *berbicense*. Thèse du Doctorat en chimie de l'université de Toulouse. pp. 16.
- Ramelet A , Perrin M , Kern P et Bounameaux H**; 2006. Phlébologie. Ed. Masson. pp. 340.
- Roberts JL, Hayashi JA**; 1981. Exacerbation of SLE associated with alfalfa ingestion. N Engl J Med. pp.1361.
- Roussel M** ; 2006. Les miracles du soja. Ed. Alpen. pp. 26-29.
- Roux D** ; 2005. Les nouvelles plantes qui soignent. Ed. Alpen. pp.21-13.
- Sarembaud A et Poitevin** ; 1996. Médicaments à usage homéopatique dictionnaire pratique. Ed. Masson. pp. 13.
- Sauveur B** ; 1989. Phosphore phytique et phytases dans l'alimentation des volailles. INRA Prod Anim. pp. 343-351.
- Schoutteten F** ; 2004. Fiche technique agro-industrie. Ed. CRCI/ARIST Champagen-Ardenne.
- Scimeca D et Tétau M** ; 2005. Votre santé par les plantes. Ed. Alpen. pp. 37-38.
- Shah FH, Salam Sheikh A et Rasool FH; 1981. A comparison of leaf protein concentrate fortified dishes and milk as supplements for children with nutritionally inadequate diets. Hum Nutr . pp. 245-258.

**Smadi A** ; 1996. Etude de l'extrait chloroformique d'Oudneya africana. Mémoire de Magister en chimie organique. Université El-Hadj Lakhdar Batna. pp.54-77.

**Small E et Catling P** ; 2000. Les cultures médicinales canadiennes. Ed. CARC.ARC. pp. 218-220.

**Waterlow JC**; 1962. The absorption and retention of nitrogen from leaf protein by infants recovering from malnutrition. Br J Nutr. pp. 531-540.

**Waugh A et Grant A** ; 2007. Anatomie et physiologie normales et pathologiques. Ed. Elsevier. pp. 294-299.

**Widmer N** ; 1999. Phytochimie Cardui marie fructus dosage des flavonolignans. Examens finaux de pharmacie. Grandvaux. pp. 7-12.

**Whitten PL et Russell E, Naftolin F**; 1992. Effects of a normal, human-concentration, phytoestrogen diet on rat uterine growth. Steroids. pp.98-106.

**Whitten PL, Lewis C, Russell E et Naftolin F**; 1995. Phytoestrogen influences on the development of behavior and gonadotropin function. Proc Soc Exp Biol Med . pp.82-86.

**Zanin V** ; 1998. Un nouveau concept nutritionnel pour l'homme l'extrait foliaire de luzerne. Association pour la promotion des extraits foliaires en nutrition APEF. pp. 6-21.

#### **Sites internet consultés :**

**Boudesocque L , Yzerman M , Bontemps G et Marie M** ; 2001. Méthodes d'extraction et de purification des saponines de la Luzerne (*Medicago sativa*). Intérêts Modernes de cette Espèce. <http://www.passeportsante.net>

[www.luzernes.org](http://www.luzernes.org)

[www.semencemag.fr](http://www.semencemag.fr)

## *Liste des figures*

**Figure 1** : Les différentes classes des composés phénoliques

**Figure 2** : Structures chimiques des saponines triterpéniques

**Figure 3** : Structures chimiques des saponines stéroïdiques

**Figure 4** : Structure chimique de la Dioscine

**Figure 5** : Les saponines de certaines variétés de la luzerne

**Figure 6** : Structure chimique de la rétinol

**Figure 7** : voie métabolique de la vitamine D

**Figure 8** : Structure chimique La vitamine E

**Figure 9** : Structures chimique de la vitamine K

**Figure 10** : Noyau flavone

**Figure 11** : les différentes génines des flavonoïdes

**Figure 12** : Les différents hétérosides des flavonoïdes

**Figure. 13:** Structures chimiques de quelques flavonols

**Figure 14** : Biosynthèse des flavonoïdes

**Figure 15:** Le diagramme floral de la famille des fabacées

**Figure 16** : Les produits actifs des isoflavonoïdes

**Figure 17:** Les différents organes de « *Medicago sativa* »

**Figure 18 :** Localisation géographique des sites de prélèvements

**Figure 19 :** Système d'extraction au Soxhlet

**Figure 20 :** présentation schématique de la méthode d'extraction des flavonoïdes

**Figure 21:** schéma du développement chromatographique d'une plaque

**Figure 22 :** Détermination du rapport frontal

**Figure 23 :** Rendements en flavonoïdes

**Figure 24 :** Teneur en différents fractions par rapport à la composition chimique totale de l'extrait flavonoïque (station de Ben Mehidi)

**Figure 25 :** Teneur en différents fractions par rapport à la composition chimique totale de l'extrait flavonoïque (station d'Aéroport)

**Figure 26 :** Teneur en différents fractions par rapport à la composition chimique totale de l'extrait flavonoïque (station de Besbes)

**Figure 27 :** Teneur en différents fractions par rapport à la composition chimique totale de l'extrait flavonoïque (station d'El Hadjar)

**Figure 28 :** Effets de la solution de décoction sur la croissance des souches bactériennes testées

**Figure 29 :** Effets des extraits flavonoïques sur la croissance des souches bactériennes testées

**Figure 30 :** Etude comparative de l'activité antibactérienne de la décoction et de l'extrait flavonoïques des feuilles la luzerne sur les bactéries Gram-

**Figure 31 :** Etude comparative de l'activité antibactérienne de la décoction et de l'extrait flavonoïques des feuilles la luzerne sur les bactéries Gram+

## *Liste des photos*

**Photo 1:** La luzerne cultivée « *Medicago sativa* »

**Photo 2:** Champ de la luzerne cultivée

**Photo 3:** Dispositif de l'appareil de soxhlet installé au laboratoire

**Photo 4 :** La Lampe de Wood

**Photos 5 :** Recherche des anthocyanes au laboratoire dans les feuilles de la luzerne

**Photo 6 :** Recherche des leuco-anthocyanes dans les feuilles de la luzerne cultivée

**Photo 7:** Recherche des flavonoïdes dans les feuilles de la luzerne cultivée

**Photos 8:** La chromatographie sur couche mince des quatre extraits observés à la lampe de Wood (365 nm)

**Photos 9:** Test d'activité antibactérienne des flavonoïdes et de la décoction de la luzerne cultivée

## *Liste des tableaux*

**Tableau 1 :** Les différents médicaments d'origine végétale

**Tableau 2 :** Les différentes activités des polyphénols

**Tableau 3 :** Fonctions et effets des vitamines hydrosolubles

**Tableau 4:** Structure de quelques anthocyanidine

**Tableau 5:** Teneur en 4-oxo-flavonoïdes de quelques Fruits et légumes mg/kg

**Tableau 6:** Superficies occupées par la luzerne « *Medicago sativa* » à travers le monde

**Tableau 7 :** Valeurs quantitatives des éléments nutritionnels de 10g de concentré de luzerne

**Tableau 8 :** Teneurs et caractéristiques des principaux composés vitaminiques contenus dans le concentré de luzerne

**Tableau 9 :** Fonctions et teneurs des matières minérales contenues dans les extraits foliaires de luzerne

**Tableau 10:** les différentes génines des saponines de luzerne

**Tableau 11 :** Coordonnées géographique des stations de prélèvement

**Tableau 12 :** les différentes souches testées et leurs principaux caractéristiques

**Tableau 13 :** Echelle de la texture

**Tableau14 :** Classification des sols d'après leur teneur en matière organique

**Tableau 15:** la gamme de pH des sols

**Tableau 16:** Echelle de salinité du sol

**Tableau 17:** Echelle internationale d'évaluation du calcaire dans les sols

**Tableau 18:** Classement des bactéries selon le diamètre d'inhibition

**Tableau 19:** Caractéristiques physico-chimiques des sols

**Tableau 20:** pourcentage des flavonoïdes pour 10 g de luzerne cultivée dans les quatre sites de prélèvement

**Tableau 21 :** Résultats de la CCM des extraits flavonoïques (Station de Ben Mehidi)

**Tableau 22 :** Résultats de la CCM des extraits flavonoïques (Station d'Aéroport)

**Tableau 23 :** Résultats de la CCM des extraits flavonoïques (Station de Besbes)

**Tableau 24 :** Résultats de la CCM des extraits flavonoïques (Station d'El Hadjar)

**Tableau 25 :** Résultats du test préliminaire

**Tableau 26 :** Spectre d'activité des flavonoïdes et de la décoction de « *Medicago sativa* » sur les souches étudiées