

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abderrahmane Mira de Bejaia
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-chimique



Mémoire de Master

Filière : Sciences Biologiques
Option : Pharmacologie Moléculaire

Thème

Evaluation de l'activité antimicrobienne des alcaloïdes de *Fumaria* *officinalis*

Présenté par : AZZI Dihia

DJEMAA Sabiha

Composition du jury :

M ^{lle} S. ADRAR	Maitre Assistante A, A-Mira, Bejaia	Présidente
M ^{me} S. ABDERRAHIM	Maitre Assistante A, A-Mira, Bejaia	Promotrice
M ^{me} D. ATMANI	Maitre de Conférences A, A-Mira, Bejaia	Examinatrice

Année Universitaire: 2015/2016

Remerciements

Nous exprimons nos profonds remerciements au bon Dieu qui a éclairé notre chemin et qui nous a donné la foi et le courage pour réaliser ce travail.

Nous avons l'honneur et le plaisir de présenter notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à notre promotrice M^{me} ABDERRAHIM, pour sa précieuse aide, ces conseils, son orientation et le temps qu'elle nous a accordé pour mener ce travail à terme.

Nos remerciements s'adressent également à M^{lle} ADRAR de nous avoir fait l'honneur de présider le jury, et à M^{me} ATMANI, d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Un grand merci à M^{lle} AMIR et M^{me} IDRES, Pour nous avoir assisté, guidé et conseillé pendant ce travail

Nous adressons nos vifs et sincères remerciements à M^{lle}. NAIMA, pour nous avoir accueilli au sein de son laboratoire pour son aide précieuse, ainsi qu'à tous les ingénieurs des laboratoires du département physico-chimique,

SAIDA, HABIBA et FAROUK

Nos remerciements vont également aux personnes qui nous ont tendu la main, NARIMENE, SABRINA et ZAHRA

Un grand merci à tous

DIHIA ET SABHA



Dédicace



Avec un cœur plein d'amour et de fierté je dédie ce travail :

A l'étoile de mon ciel qui à su mettre la lumière dans mon univers, qui m'a toujours entourée d'amour, pour me soutenir et m'encouragée durant toute ma vie et donné l'espoir de poursuivre ce chemin jusqu'au bout «ma chère mère». Que dieu la protège.

A l'homme le plus généreux du monde, à celui qui à été toujours présent, qui m'a appris les valeurs de la vie, qui ma soutenu en toutes circonstances et à celui qui m'a tout donné sans cesse, mon père que j'aime. Que dieu le garde.

A la mémoire de mes grands-mères et mes grands-pères qui m'ont toujours aimé et comblé par leurs bénédictions que dieu le tout puissant les accueille en son vaste paradis.

A la mémoire de ma très chère tante «Ghania» partie à la fleur de l'âge, tu resteras à jamais dans nos cœurs et tu occuperas nos pensées les Plus profondes

A mes très chères sœurs

Nabila et son mari Sofiane, Lila, Saida et Nassima.

A mes deux frères adorables

Mouloud et Dadi.

Mes chers oncles, tantes, cousins et cousines.

A Mes meilleures amies Malek, Souad, Yacine, Merouane, Samir qui m'ont toujours écoutée, soutenus et encouragés.

A ma chère copine et binôme Difia avec elle on a peut surmonter tout les obstacles.

A tous ceux qui ont participé a la réalisation de ce travail de près ou de loin

Et a toute la promotion pharmacologie 2015/2016



Sabiha



Dédicace

*Je dédie ce modeste travail
Aux êtres qui me sont les plus chères dans ma vie*

A mon cher papa qui a su se montrer patient, compréhensif et encourageant, sa chaleur paternelle a été et sera toujours pour moi d'un grand réconfort.

A ma chère maman qui n'a jamais cessé de ménager ses efforts pour que j'atteigne ce niveau. Sans elle je ne serais ce que je suis maintenant, et à qui je témoigne toute mon affection.

A mes deux précieuses sœurs SARAH et MAISSA

A la mémoire de mes deux oncles CHERIF et MADJID, que dieu les accueille en son vaste paradis

A mes grands parents que dieux les gardes

A mes oncles et tantes, cousins et cousines

A mes chers amis qui étaient présent a mes cotés, et qui m'ont beaucoup encouragés et soutenus pendant toute cette période

SOUAD, MALEK, YACINE

Et a tous ceux que j'ai connus de prés ou de loin

A ma très chère sœur, copine, binôme, ensemble nous avons pu réaliser et achevé ce travail, sa présence m'a été d'un grand support

Puisse Allah le tout puissant préconiser notre lien d'amitié.

A toi SABHA et à toute ta famille

A toute la promotion de pharmacologie moléculaire 2015/2016

A tous ceux qui ont de prés ou de loin participé à la réalisation de ce travail



DIHA

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction.....1

Chapitre I : Revue bibliographique

I.1. Généralités sur les plantes médicinales.....	2
I.1.1. Fumariacées.....	2
I.2. Généralités sur <i>Fumaria officinalis</i>	2
I.2.1. Description botanique	2
I.2.2. Nomenclature de la plante.....	4
I.2.3. Classification	4
I.2.4. Répartition géographique et habitat.....	5
I.2.5. Composition chimique.....	5
I.2.6. Propriété pharmacologiques.....	6
I.2.7. Usage traditionnelle.....	7
II. Alcaloïdes.....	8
II.1. Définition.....	8
II.2. Classification.....	8
II.3. Propriétés physico-chimique.....	9
II.4. Activité biologique des alcaloïdes.....	10
III. Antibiotiques.....	11
III.1. Définition	11
III.2. Type d'action des antibiotiques.....	11
III.2.1. Antibiotique bactériostatique.....	11
III.2.2. Antibiotique bactéricide.....	11
III.3. Classification des antibiotiques.....	12
III.4. Mode d'action des antibiotiques.....	12
III.5. Microorganismes.....	13
III.5.1. Bactéries.....	13
III.5.1.1. Bactéries a gram positif.....	13
III.5.1.2. Bactéries a gram négatif.....	13
III.5.2. Micro-organismes utilisés dans les tests antibactériens.....	14
III.5.3. Champignons.....	15

III.5.4. Champignons étudiées.....15

Chapitre II: Matériels et méthode

II.1. Matériels.....16

II.1.1. Matériel biologique.....16

II.1.1.1. Matériel végétal.....16

II.1.1.2. Matériel microbien.....16

II.2. Méthode.....17

II.2.1. Préparation du matériel végétal.....17

II.2.1.1. Récolte.....17

II.2.1.2. Identification de la plante.....17

II.2.1.3. Lavage et conservation.....18

II.2.1.4. Séchage.....18

II.2.1.5. Broyage.....19

II.2.1.6. Tamisage.....19

II.2.2. Préparation des extraits.....19

II.2.2.1. Extraction des alcaloïdes par soxhlet.....20

II.2.2.2. Extraction des alcaloïdes par macération.....21

II.2.3. Evaluation de l'activité antimicrobienne des alcaloïdes de *Fumaria officinalis*.....22

II.2.3.1. Activité antibactérienne.....22

II.2.3.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice.....25

II.2.3.3. Activité antifongique.....26

Chapitre III: Résultats et discussion

III.1. Résultats.....27

III.2. Discussion.....39

Conclusion et perspective.....41

Références bibliographiques.....42

Glossaires

Annexes

Liste des figures

Figure 1 : Photographie montrant la partie aérienne de <i>Fumaria officinalis</i>	2
Figure 2 : Fumeterre poussant dans un vieux mur.....	5
Figure 3 : Exemples d'alcaloïdes.....	8
Figure 4 : Mode d'action des antibiotiques.....	13
Figure 5 : Photographie de <i>fumaria officinalis</i>	18
Figure 6 : Photographie du séchage de <i>Fumaria officinalis</i> a l'étuve.....	19
Figure 7 : Photographie de l'extracteur soxhlet.....	20
Figure 8 : Illustration de la méthode des aromagrammes sur boite de pétrie.....	24
Figure 9 : Taux d'humidité de la partie aérienne de <i>Fumaria officinalis</i>	27
Figure 10 : Histogramme des rendements d'extraction obtenu par Soxhlet et par macération selon Suau et al. (2002).....	29
Figure 11 : Histogramme des rendements d'extraction obtenu avec soxhlet et macération selon le protocole de Farzana (1997).....	29
Figure 12 : Photographie des boites de petries aux concentrations de 1mg/ml et 5mg/ml.....	31
Figure 13 : Photographie des zones d'inhibition des bactéries a 25mg/ml.....	34
Figure 14: Photographie des zones d'inhibition des champignons à 25mg/ml.....	37

Liste des tableaux

Tableau I : Principales caractéristiques des différentes parties de <i>Fumaria officinalis</i>	3
Tableau II : Les différentes nomenclatures	4
Tableau III : Classification botanique de <i>Fumaria officinalis</i>	4
Tableau IV: Principaux constituants chimiques de <i>Fumaria officinalis</i>	6
Tableau V: Les bactéries testées et leurs caractéristiques.....	16
Tableau VI : Les souches fongiques utilisées.....	17
Tableau VII : Taux d'humidité résiduelle de la prise d'essai.....	27
Tableau VIII : Les rendements d'extraction des alcaloïdes totaux de <i>Fumaria officinalis</i> selon le protocole de Suau et al. (2002) par soxhlet et par macération.....	28
Tableau IX : Effet des dilutions des extraits alcaloïdiques sur la croissance bactérien.....	32
Tableau X: Concentrations Minimales Inhibitrices pour les extraits à 1mg/ml.....	33
Tableau XI : Concentrations Minimales Inhibitrices pour les extraits à 5mg/ml.....	33
Tableau XII: Diamètre des zones d'inhibitions des bactéries a 25mg/ml.....	35
Tableau XIII : Concentrations Minimales Inhibitrices pour les extraits à 25mg/ml.....	36
Tableau XIV : Diamètre des zones d'inhibitions des alcaloïdes de <i>fumaria officinalis</i> sur les champignons.....	37

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique

AT : Alcaloïdes Totaux

CMB : Concentration Minimale Bactéricide

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

DMSO : Diméthyle Sulfoxyde

DO : Densité Optique

FA : Fraction Acide

FB : Fraction Basique

FN : Fraction Neutre

G : Gram

GC/MS : Chromatographie en phase gazeuse couplé à la spectroscopie de masse

g: gramme

h : Heure

Kp : Klebsiella pneumonia

LCMS : Chromatographie en phase liquide couplé à la spectroscopie de masse

LPS : Lipopolysaccharide

mg : milligramme

mm : millimètre

ml : millilitre

nm : nanomètre

PH : Potential d'hydrogène

Pseudo : Pseudomonas aeruginosa

SARM : Staphylococcus Aureus Résistant à la Méthiciline

UFC : Unité Formant Colonies

UV : Ultra-Violet

LISTE DES ABREVIATIONS

μl : microlitre

μm : micromètre

[] : Concentration

Introduction

Les plantes ont constituées depuis toujours la source majeure de médicament grâce à leur richesses en métabolites secondaires. Cependant, l'homme n'a découvert leurs vertus bénéfiques que par une approche progressive (**Fouché et al., 2000**).

Les plantes du genre « *Fumaria* » sont très répandues dans notre région, leur utilisation dans la médecine traditionnelle couvre plusieurs pathologies. Ces plantes sont connues pour leurs multiples activités biologiques : antioxydantes, anti-inflammatoires, antimicrobiennes, diurétique.

Elles contribuent à dissiper les troubles liés à une digestion difficile, leur effet calmant est utile en cas de nausées (**Iwasa et al., 2000 ; Iwasa et al., 2001**). L'efficacité thérapeutique de ces plantes est due en grande partie à la présence des alcaloïdes de classe isoquinoléique dans leur composition chimique.

Les antibiotiques constituent un axe de recherche d'actualité. Et ceci après le développement d'une résistance par les bactéries vis-à-vis des antibiotiques existants déjà.

Dans cette optique l'étude et la recherche de substances antibiotiques d'origine végétale est d'un intérêt majeur.

D'où s'inscrit le présent travail dont l'objectif est de contribuer à la détermination de l'activité antimicrobienne des alcaloïdes de la plante médicinale *Fumaria officinalis* vis-à-vis de souches bactériennes et de souches fongiques sur milieu solide et sur milieu liquide.

Chapitre I

Revue

bibliographique

I.1. GENERALITES SUR LES PLANTES MEDICINALES

L'utilisation des plantes pour se soigner date de la préhistoire et tous les peuples sur tous les continents ont cette vieille tradition. Malgré les efforts des chimistes pour la synthèse de nouvelles molécules, plus de 25% des médicaments prescrits dans les pays développés dérivent directement ou indirectement des plantes (**Leclerq, 2002**).

Les plantes médicinales regroupent l'ensemble des plantes dont un ou plusieurs de leurs organes sont utilisés pour leurs vertus thérapeutiques (**Sanago, 2006**).

L'expression drogue végétale ou, plus couramment, drogue, désigne une matière première naturelle servant à la fabrication des médicaments (**Ali Shtayeh et al., 2008**).

I.1.1 LES FUMARIACEES

La famille des Fumariacées est une famille de plantes dicotylédones qui comprend 450 espèces réparties en une quinzaine de genres (**Suau et al., 2002**). Les *Fumariacées* sont des *Papavéracées* évoluées, d'herbes annuelles ou vivaces, de hauteur variant de 30 cm à 1m (**Bach, 1998**). De goûts amers à l'état frais, salé à l'état sec (**Jauzein, 1995**).

I.2. GENERALITE SUR *FUMARIA OFFICINALIS*

I.2.1. DESCRIPTION BOTANIQUE

Appelée aussi Fumeterre, genre *Fumaria* est une plante herbacée annuelle ou bisannuelle, dressée ou diffuse, rarement grimpante (**Goetz et al., 2009**).



Figure 1: Photographie montrant la partie aérienne de *Fumaria officinalis* (**Goetz et al., 2009**).

Les différentes parties de la plantes sont représentées dans le tableau I.

Tableau I : Principales caractéristiques des différentes parties de *Fumaria officinalis*.

Description	Figure
<p>Une tige Très fragile dressée, de 30 à 70 cm de longueur, souvent couchée, ramifiée et parfois grimpante d'un vert bleuté (Perrot et René ; 1995).</p>	
<p>Des feuilles De forme alternes ; couleur gris-vert, pennatiséquées a lobes étroits, glabres, ressemble à une patte de poule (d'où son surnom de pied de geline) (Dubray, 2010).</p>	
<p>Les fruits petites capsules ovoïdes, mures plus large que long, tronqués, engrainés au sommet (Beloued, 2009).</p>	
<p>Les fleurs Sont purpurines ou rosées, très irrégulières, sont disposées en grappes assez lâches ou denses sur la partie terminale de la tige, le pétale supérieur prolongé en éperon. Les sépales sont ovales-lancéolés irrégulièrement dentés, plus larges que le pédicelle et plus étroits que la corolle (Goetz et al., 2009).</p>	

I.2.2. NOMENCLATURE DE LA PLANTE

Fumaria vient du mot latin « fumus » fumée de terre, la plante semble sortir de la terre comme une fumée, d’où le nom français « fumeterre ».

Cependant d’après «olivier de Serre», ce nom serait dû au fait que le suc de la plante fait pleurer les yeux comme la fumée (Cost, 1937 ;Dellile, 2007).

Tableau II : Les différentes nomenclatures (Goetz *et al.*, 2009 ; Dellile, 2007).

La langue	Nomenclature
Kabyle	Zalamit, Tedjoudjaryasghi.
Arabe	Ichikh el kanoun.
Français	<i>Fumaria officinalis</i> , fumeterre, herbe à la veuve, fiel de terre, herbe à la jaunisse.
Espagnol	<i>Fumaria oficinal</i> , sangre de Cristo, fumdeterra, palomilla.
Anglais	fumatory, common fumitory.

I.2.3. CLASSIFICATION

Le tableau suivant représente la classification de *Fumaria officinalis* (Goetz *et al.* , 2009).

Tableau III : Classification botanique de *Fumaria officinalis* (Goetz *et al.*, 2009).

Règne	plantae (plantes)
Sous-règne	Tracheobionta (plantes vasculaire)
Super division	Spermatophyta (plantes à gaines)
Division	Magnoliophyta (plantes à fleurs)
Classe	Magnoliopsida (dicotyledones)
Sous classe	Magnoliidae
Ordre	Papaverales
Famille	<i>Fumariaceae</i>
Genre	<i>Fumaria</i>
Espèce	<i>Fumaria officinalis</i>

I.2.4. REPARTTION GEOGRAPHIQUE ET HABITAT

C'est une plante commune de toute les régions tempérées d'Europe, d'Afrique du Nord et d'Asie occidentale (**Sturm *et al.*, 2006**). Elle pousse dans les terrains vagues, les ruines, sur les bords des chemins et des terres incultes, le long des vieux murs, dans les champs, jardins (**Dubray, 2010**).



Figure 2 : Fumeterre poussant dans un vieux mur (**Dubray, 2010**).

I.2.5. COMPOSITION CHIMIQUE

Fumaria officinalis est une plante alcaloïdifique à cause de sa teneur en fumarine (protopine) qui représente l'alcaloïde principale de *Fumaria officinalis* (**Bruneton, 2009 ; Goetz *et al.*, 2009**).

Tableau IV : Principaux constituants chimiques de *Fumaria officinalis* (Goetz *et al.*, 2009).

Familles des constituants chimiques	Constituants chimiques
Alcaloïdes	<p>Dérivés de l'isoquinoléines : (0,3-1%) : Protopine(=fumarine, 0,13%), cryptopine</p> <p>Dérivés de Protoberbérines : aurotensine, stylopine, sinactine et N-méthylsinactine.</p> <p>Dérivés de types spirobenzylisoquinoleine : fumaricine, fumaritine, fumariline.</p> <p>Dérivés de type indenobenzazepine : fumaritridine, fumaritrine.</p>
Hétérosides flavoniques	Hétérosides de la quercétines : isoquercitrine, rutine et le quercitrine-3,7-diglucoside-3-arabinoglucoside.
Acides phénols	Acides caféique, chlorogénique et fumarique. Ester maliques de l'acide cinnamique et de l'acide caféique.
Acides organiques	Acides malique, succinique, lactique, glycolique.
Autres	Principes amers, mucilage, résine, sels de potassium.

I.2.6. PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES

- Cholagogue et amphocholérétique : stimule la sécrétion biliaire et réduit l'hypersécrétion pathologique (protopine), spasmolytique du sphincter d'Oddi (Boucard *et al.*, 1966) .
- Anticholinergique, antibactérienne (Izzo, 1995).
- Inhibiteur de l'acétylcholinestérase (potentialités dans la maladie d'Alzheimer) (fumaranine, fumarostrejdine) (Chlebek, 2016).

- Anti-arythmique (extraits totaux) (**Komaszewska et al., 2007**).
- Anti-histaminique (protopine) (**Larousse, 2001**).
- Parasiticide in vitro en synergie avec *Artemisia annua*, *Artemisia absinthium*, *Asimina triloba* (**Ferreira, 2011**).
- Bénéfique en dermatologie (psoriasis) par l'acide fumarique (**Komaszewska et al., 2007**).
- Propriétés antivirales et antifongiques (**Orhana, 2007**).

I.2.7. USAGE TRADITIONNELLE

Fumeterre est connue depuis l'antiquité et a été décrite dans herbals du Moyen-Age. C'était principalement le genre méditerranéen qui était autrefois utilisé comme médicament traditionnel.

Dans la médecine traditionnelle, l'herbe a été utilisée pour traiter la constipation, la cystite, l'artériosclérose, les rhumatismes, l'arthrite, comme un purificateur de sang, diurétique, dans le traitement d'hypoglycémie, des infections et des troubles digestifs (**Duke., 2002 ; Gruenwald et al., 2007**).

La plante a également été utilisé pour traiter l'eczéma chronique, des éruptions cutanées et d'autres affections dermatologiques (**DerMarderosian et al., 2005; Duke 2002**). Utilisation d'une lotion oculaire conjonctivite à base de *Fumaria* a également été rapportée en 1976 par British Herbal Pharmacopoeia.

Fumeterre (Shatara) a été utilisée en Afghanistan pour le traitement de l'asthme (**Delaveau, 1980**), tandis qu'en Inde, la fumeterre est largement utilisée pour traiter les troubles dyspeptiques (**Fiegel, 1971**).

Les extraits aqueux de Fumeterre ont une action antagoniste de la sérotonine. Cette propriété contribue à l'activité antimigraineuse de la Fumeterre utilisée, par la médecine traditionnelle, dans le traitement des dyskinésies biliaires (**Delaveau, 1980**).

II. LES ALCALOÏDES

II.1. DEFINITION

Les alcaloïdes sont des substances naturelles et organiques provenant essentiellement des plantes fleurissantes et qui contiennent au moins un atome d'azote dans leur structure chimique, avec un degré variable de caractère basique. Dans leur grande majorité, les alcaloïdes sont hétérocycliques, bien que quelque composé azoté aliphatique (non cyclique) comme la mescaline et la colchicine soient parfois classés dans les alcaloïdes (Bruneton, 1999).

Le premier alcaloïde isolé est la morphine (extrait du pavot somnifère en 1804), puis la strychnine (extraite de la noix vomique en 1818) puis la caféine (graines et feuilles de caféier en 1819) (Bruneton, 1999).

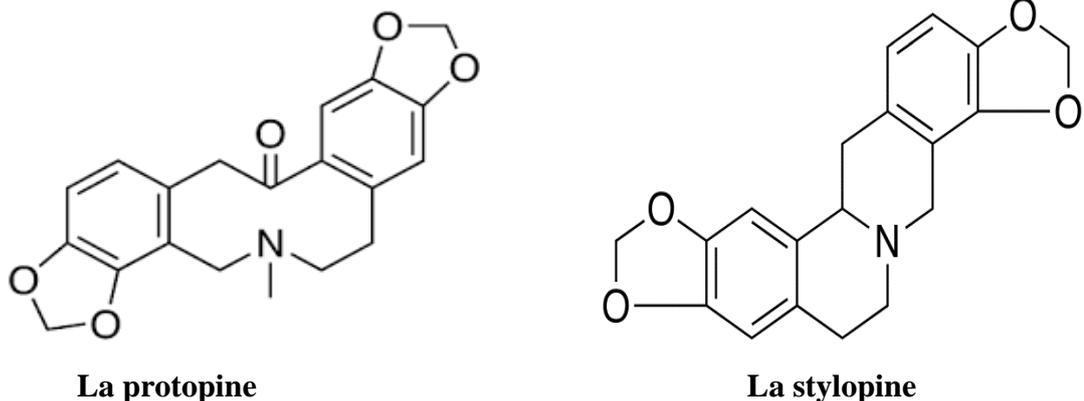


Figure 3: Exemple d'alcaloïdes (Bruneton, 1999).

II.2. CLASSIFICATION

Les alcaloïdes peuvent être classés en fonction de leur précurseur avant leur synthèse dans une voie biologique. On distingue alors trois grandes classes selon qu'ils possèdent ou non un acide aminé comme précurseur direct, et qu'ils comportent ou non un atome d'azote dans un hétérocycle.

- **Les alcaloïdes vrais** : ils dérivent d'acides aminés et comportent un atome d'azote dans un système hétérocyclique. Ce sont des substances douées d'une grande activité biologique, même à faibles doses. Ils apparaissent dans les plantes, soit

sous forme libre, soit sous forme d'un sel, soit comme N-Oxide (**Milcent et Chau, 2003**).

- **Les proto-alcaloïdes** : ce sont des amines simples, dont l'azote n'est pas inclus dans un hétérocycle. Ils dérivent aussi d'acides aminés (**Milcent et Chau, 2003**).
- **Les pseudo-alcaloïdes** : ils ne sont pas dérivés d'acides aminés. Ils peuvent cependant être indirectement liés à la voie des acides aminés par l'intermédiaire d'un de leurs précurseurs, ou d'un de leurs postcurseurs (dérivés). Ils peuvent aussi résulter d'amination, ou de réaction de transamination dans une voie connectée avec les précurseurs ou les postcurseurs d'acides aminés (**Bruneton, 1999**).

II.3. PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES

- Ils ont des masses molaires variant de 100 à 900 daltons ;
- Sont plus souvent des solides cristallisables ;
- Quelques-uns sont liquides à la température ordinaire (alcaloïdes généralement non oxygénés) ;
- Ils sont rarement colorés ;
- Ils sont presque toujours capables de dévier la lumière polarisée ;
- Ils sont des composés à caractère basique ; ils donnent des sels avec les acides minéraux (Chlorhydrates, sulfates, nitrates,...etc) ou organiques (tartrates, sulfamates, maléates,...etc)
- La solubilité des alcaloïdes dans les différents solvants varie en fonction du pH. Sous forme de bases : ils sont solubles dans les solvants organiques non polaires (benzène, chloroforme,...etc), solubles dans les alcools de titre élevé et insoluble ou très peu soluble dans l'eau. Au contraire, les sels d'alcaloïdes sont insolubles dans les solvants organiques apolaires et solubles dans les solvants organiques polaires et dans l'eau.
- La basicité des alcaloïdes est très variable, elle est en fonction de la disponibilité du doublet libre de l'azote.
- La basicité est un facteur d'instabilité pour ses molécules qui, à l'état de base et en solution, sont sensibles à la chaleur, à la lumière et à l'oxygène.
- Les alcaloïdes précipitent avec certains réactifs spécifiques (réactifs des alcaloïdes). Ces réactions de précipitation ont lieu en milieu aqueux légèrement acide (**Hurabielle et Paris, 1980 ; Bruneton, 1999**).

II.4. ACTIVITE BIOLOGIQUES DES ALCALOIDES

Si dans les plantes, les alcaloïdes en tant que composés du métabolisme secondaire jouent un rôle écologique de défense contre des herbivores, ils provoquent cependant chez l'Homme diverses réponses physiologiques.

Ils agissent sur le système nerveux central et le système nerveux autonome grâce à leurs capacité à traverser la barrière hémato-méningée et à interagir avec les récepteurs de neurotransmetteurs (**Larkins et Wynn, 2004**). Ils possèdent une action stimulante sur l'appareil digestif. Ils ont des propriétés très diverses (l'atropine et la scopolamine sont des antagonistes des récepteurs muscariniques, et ont donc une action anti cholinergique).

Il est important de préciser l'existence des alcaloïdes utilisés dans d'autres domaines comme des curarisants, d'anesthésiques locaux, et d'anti tumoraux, ainsi utilisés comme des médicaments relaxants musculaires, analgésique et tranquillisants (**Hopkins, 2003**).

Les alcaloïdes jouent aussi le rôle d'antibiotique comme la mytomycine (**Larkins et Wynn, 2004**).

A fortes doses, la plupart des alcaloïdes sont très toxiques par contre à faibles doses, ils peuvent avoir une valeur thérapeutique (**Hopkins, 2003**).

Ces différentes propriétés confèrent aux plantes alcaloïdiques une place de choix dans la pharmacopée tant traditionnelle que moderne compte tenue d'un panel d'activités thérapeutiques.

III. LES ANTIBIOTIQUES

III.1. DEFINITION

Ce sont des produits du métabolisme secondaire à faible masse moléculaire (**Sanchez et al., 2010**), d'origine naturelle, semi-synthétique ou synthétique, qui arrêtent la croissance des microorganismes (**Walsh, 2003**).

Pour qu'il soit utilisable en pratique clinique, un antibiotique doit se caractériser par une action spécifique sur les germes visés sans perturber le fonctionnement des cellules de l'hôte. Selon (**Yala et al., 2001**) les antibiotiques sont définis par leur :

- Activité antibactérienne (spectre d'activité) ;
- Toxicité sélective (mode d'action) ;
- Activité en milieu organique (pharmacocinétique) ;
- Bonne absorption et diffusion dans l'organisme.

III.2. TYPE D'ACTION DES ANTIBIOTIQUES

Les antibiotiques peuvent être distingués sur base du type d'activité qu'ils exercent, ils ont principalement deux actions possibles sur les bactéries ; bactériostatiques et bactéricides.

III.2.1. ANTIBIOTIQUE BACTERIOSTATIQUE

Une molécule qui à dose thérapeutique est capable d'inhiber momentanément la multiplication bactérienne sans perte de viabilité. Le pouvoir bactériostatique est mesuré en déterminant la concentration minimale inhibitrice (CMI). On peut citer tétracycline, chloramphénicol, érythromycine et lincomycine (**Oxoby, 2002**).

III.2.2. ANTIBIOTIQUE BACTERICIDE

Une molécule qui à dose thérapeutique est capable de provoquer la mort de la cellule bactérienne. Elle est mesurée en déterminant la concentration minimale bactéricide (CMB). On distingue des antibiotiques actifs sur les bactéries en phase de croissance seulement (Pénicilline, Céphalosporine et Fosfomycine) et d'autres actifs sur les bactéries en phase de croissance ou stationnaire (streptomycine et polymyxine) (**Oxoby, 2002**).

Il faut préciser qu'un antibiotique bactériostatique peut être bactéricide, mais à des concentrations trop élevées pour être administrées à l'être humain. (Freney, 2007).

III.3. CLASSIFICATION DES ANTIBIOTIQUES

La classification des antibiotiques peut se faire selon :

- **Origine** : élaboré par un organisme (naturel) ou produit par synthèse (synthétique ou semi synthétique) (Madigan *et al.*, 2000).
- **Mode d'action** : paroi, membrane cytoplasmique, synthèse des protéines, synthèse des acides Nucléiques (Madigan *et al.*, 2000).
- **Spectre d'activité** : liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs (spectre étroit ou large) (Madigan *et al.*, 2000).
- **Nature chimique** : très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (exemple de cycle β lactame) sur laquelle il y a hémi synthèse (Madigan *et al.*, 2000).

La classification selon la nature chimique nous permet de classer les antibiotiques en familles (β lactamines, aminosides, tétracyclines...etc.) (Madigan *et al.*, 2000).

III.4. MODE D'ACTION DES ANTIBIOTIQUES

Le mode d'action des antibiotiques implique une ou plusieurs cibles moléculaires spécifiques au monde bactérien, ils agissent à un niveau précis des structures bactériennes, les principales cibles sont (Madigan *et al.*, 2000) :

- Inhibition de la paroi bactérienne ;
- la membrane cytoplasmique ;
- Inhibition de la synthèse protéique ;
- Inhibition de la synthèse de l'ADN bactérien.

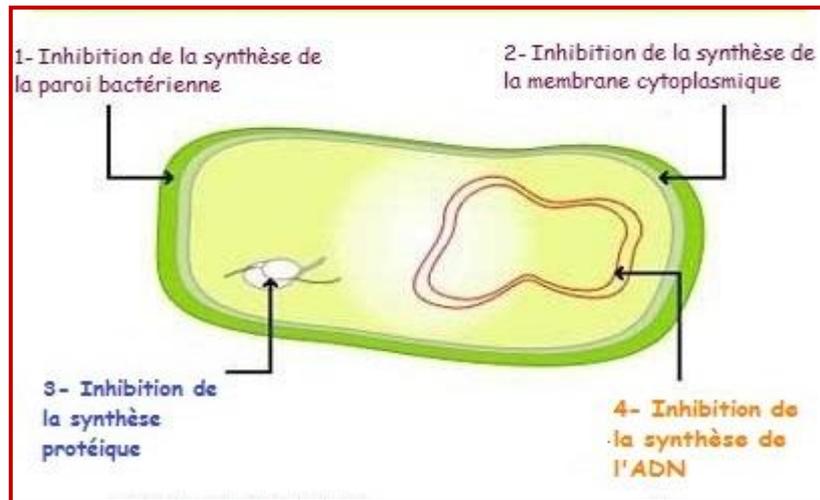


Figure 4: Mode d'action des antibiotiques (Madigan *et al.*, 2000).

III.5. LES MICROORGANISMES

III.5.1. LES BACTERIES

III.5.1.1. BACTERIES A GRAM POSITIF

Les bactéries Gram positif ont une structure unimembranée qui s'organise en trois grandes parties (de l'extérieur vers l'intérieur) : la couche de peptidoglycane composant la paroi cellulaire, l'espace périplasmique, la membrane plasmique.

La couche de peptidoglycane des bactéries à Gram positif est très épaisse contrairement à celle des bactéries à Gram négatif (Freney, 2007).

III.5.1.2. BACTERIES A GRAM NEGATIF

Les bactéries Gram négatif ont une structure bimembranée qui s'organise en trois grandes parties, soit, de l'extérieur vers l'intérieur : la membrane externe, l'espace périplasmique, comportant notamment la paroi, la membrane plasmique.

La membrane externe est en contact direct avec le milieu extérieur. Elle est principalement composée de phospholipides organisés en bicouche (partie hydrophile à l'extérieur et partie lipophile à l'intérieur) beaucoup de bactéries Gram négatif possèdent aussi un composé non protidique appelé lipopolysaccharide ou LPS (Freney, 2007).

III.5.2. MICRO-ORGANISMES UTILISES DANS LES TESTS ANTIBACTERIENS**❖ *Escherchia coli* :**

C'est un bacille à Gram négatif a bouts arrondis, isole ou en courtes chainettes et parfois sous forme de très long filament. C'est un saprophyte normal du tube intestinal de l'homme et des animaux. C'est l'un des agents responsables de septicémies, de suppurations, de diarrhées et même de dysenteries (**Kaper, 2004**).

❖ *Staphylocoque aureus* :

Le staphylocoque doré ou *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) est une bactérie à Gram positif, groupés en amas ayant la forme de grappes de raisin, immobiles, non sporulés, qui vit normalement sur la peau ou dans le nez de plusieurs personnes. (**Le Loir Y. et Gautier M, 2009**).

❖ *SARM* :

Le traitement habituel des infections au *S. aureus* est un groupe d'antibiotiques reliés à la pénicilline qui comprend la méthicilline, l'oxacilline et la cloxacilline. On appelle SARM certains *S. aureus* que la méthicilline ne réussit plus à tuer. Quand cela se produit, il faut utiliser un différent antibiotique pour traiter l'infection (**Freney, 2007**).

❖ *Pseudomonas aeuroginosa* :

Cette bactérie à Gram négatif aux extrémités arrondies peut être groupée par paire ou en courtes chainettes. C'est un germe pathogène redoutable, résistant à de nombreux antibiotiques. Il est fréquemment retrouvé dans le sol, l'eau, dans des cas d'otites, de méningites, d'endocardites ainsi que de nombreuses infections chez les patients immunodéprimés (**Morançais, 2002**).

❖ *Klebsiella pneumonia* :

C'est une entérobactérie à gram négatif. Espèce commensales des voies aériennes supérieures et du tube digestif, *Klebsiella* provoque des infections urinaires et des surinfections des bronches chez les bronchitiques chroniques, voire des abcès du poumon (**Kaper, 2004**).

III.5.3. LES CHAMPIGNONS

Les champignons appartiennent au règne *Fungiou Mycota*. Ce sont des organismes hétérotrophes par rapport au carbone : ils se nourrissent en extrayant de leur environnement des composés organiques déjà constitués. Ils ne possèdent pas de racine ni de feuille, et leur appareil végétatif appelé mycélium peut être unicellulaire dans le cas des levures, ou pluricellulaire dans le cas de champignon filamenteux (**Blackwell, 2011**).

III.5.4. LES CHAMPIGNONS ETUDIÉS

❖ *Aspergillus* :

Aspergillus est un champignon filamenteux, de type moisissure, dont les colonies se présentent sous forme duveteuse. Il se développe sur les matières organiques en décomposition, dans le sol, le compost, les denrées alimentaires, les céréales. Ses spores sont ubiquitaires et cosmopolites : on en trouve dans toutes les parties du monde. On en répertorie des centaines d'espèces, nous citons ci-dessous celles utilisées dans notre étude : *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus carbonarius*, *Aspergillus ochraceus* (**Anofel, 2011**).

❖ *Botritus cinerea* :

C'est un champignon pathogène ubiquiste responsable de pourritures sur un grand nombre de plantes hôtes d'importance économique en agriculture et en horticulture. En viticulture, *B. cinerea* fait partie de la microflore des vignobles. Les infections des grappes débutent généralement à la floraison, suivies d'une période de latence sans symptôme, durant laquelle le pathogène est présent à l'intérieur des baies. (**Keller et al. 2003 ; Viret et al. 2004**).

Chapitre II

Matériel et

Méthodes

Le présent travail a été réalisé à l'Université Abderrahmane Mira de Bejaia en deux parties, la première a été effectuée au niveau du laboratoire de Biotechnologie Végétale et Ethnobotanique pour l'extraction des alcaloïdes de *Fumaria officinalis*. La deuxième au Laboratoire de Biologie Physico-chimique qui a consisté à tester l'activité antimicrobienne des fractions d'alcaloïdes extraite vis-à-vis des souches bactériennes et fongiques.

II.1. MATÉRIEL

Les milieux et les réactifs utilisés pour les différentes extractions et pour tester l'activité antimicrobienne sont reportés en annexe N°1.

II.1.1. MATÉRIEL BIOLOGIQUE

II.1.1.1. MATÉRIEL VÉGÉTAL

L'étude expérimentale a été réalisée sur l'extrait de la partie aérienne fleurie (fleurs, feuilles, fruits et tiges) de l'espèce *Fumaria officinalis* appelée localement « Zalamit ou Tijujar-Yesghi ».

II.1.1.2. MATÉRIEL MICROBIEN

Les souches bactériennes utilisées dans le présent travail sont provenues du laboratoire de microbiologie de l'université A / Mira de Bejaia. Il s'agit de quatre souches de bactéries de référence et trois autres pathogènes (Tableau V).

Tableau V : Les bactéries testées et leurs caractéristiques.

Souches testés	Gram	Référence
<i>Escherchia coli</i>	Bacille G ⁻	ATCC 25922
<i>Escherchia coli</i>	Bacille G ⁻	Pathogène 4739
<i>Staphylococcus aureus</i>	Cocci G ⁺	ATCC 29213
<i>Staphylococcus aureus méthicilline sensible</i>	Cocci G ⁺	ATCC 292113
<i>SARM</i>	Cocci G ⁺	ATCC 103911
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Bacille G ⁻	Pathogène 4990
<i>Kleibseila pneumonia</i>	Bacille G ⁻	Pathogène 4625

L'activité antifongique des alcaloïdes de *Fumaria officinalis* a été réalisée sur les champignons filamenteux de référence provenant de l'ENS Kouba ainsi que sur *Botrytis cinerea* provenant du laboratoire de mycologie de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de Bejaia. Les germes utilisés sont rapportés dans le tableau VI ci-dessous.

Tableau VI : Les souches fongiques utilisées.

Souches testés	Référence
<i>Aspergillus niger</i>	939N
<i>Aspergillus carbonarius</i>	A731
<i>Aspergillus flavus</i>	NRRL 3251
<i>Aspergillus parasiticus</i>	CB5
<i>Aspergillus ochraceus</i>	NRRL 3174
<i>Botrytis cinerea</i>	Pathogène

II.2. METHODES

II.2.1. PREPARATION DU MATERIEL VEGETAL

II.2.1.1. RECOLTE

Le matériel végétal a été récolté dans la région d'Akbou durant la période de floraison et fructification (mois d'avril 2016), moment propice pour la cueillette, loin de la pollution et ceci pour écarter toute modification dans la composition chimique de cette plante.

II.2.1.2. IDENTIFICATION DE LA PLANTE

L'identification de notre plante a été effectuée, au niveau du laboratoire de Biotechnologie Végétale et Ethnobotanique, de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, de l'Université A /Mira de Bejaia, et en utilisant la flore des plantes Algériennes (Quezel et Santa ; 1963).



Figure 5 : Photographie de *Fumaria officinalis* (laboratoire de biologie végétale et d'ethnobotanique).

II.2.1.3. LAVAGE ET CONSERVATION

Après l'identification de l'espèce récoltée, cette dernière est bien nettoyée et lavée avec l'eau courante afin de se débarrasser de toute poussières et matières étrangères comme le sable, le sol et d'autres impuretés, puis conservée dans un endroit sec et loin de la lumière

II.2.1.4. SECHAGE

Le séchage consiste à sécher à l'étuve à une température de 40°C pendant 8 à 10 jours, pour :

- Obtenir une meilleure extraction
- Uniformiser le taux d'humidité résiduelle de nos échantillons et permettre un meilleur broyage.

Le séchage complet peut être confirmé par le test d'humidité.



Figure 6 : Photographie du séchage de *Fumaria officinalis* à l'étuve (laboratoire de biologie végétale et d'ethnobotanique).

II.2.1.5. BROUAGE

L'échantillon séché est réduit en poudre fine grâce à un broyeur électrique, la poudre obtenue est conservée dans une boîte en verre couverte avec du papier aluminium à l'abri de la lumière pour éviter la photo oxydation des substances actives dans la poudre.

II.2.1.6. TAMISAGE

La poudre ainsi obtenues après broyage est tamisée en faisant passer le broyat à travers un tamis de 250 μ m en vue d'obtenir des particules de taille moyenne et homogène qui permettent une meilleure extraction tout en évitant le colmatage et le passage des particules dans l'extrait après filtration. La poudre ainsi obtenue est conservée dans des flacons en verre, bien hermétiques, à l'abri de la lumière.

II.2.2. PREPARATION DES EXTRAITS

L'extraction des alcaloïdes est fondée, en règle générale, sur le fait qu'ils existent habituellement dans la plante à l'état de sels et sur leur basicité, c'est-à-dire sur la solubilité différentielle des bases et des sels dans l'eau d'une part, et dans les solvants organique d'autre part (**Bruneton, 1999**).

L'extraction des alcaloïdes de *Fumaria officinalis* est réalisée en utilisant deux procédés différents.

II.2.2.1. L'EXTRACTION DES ALCALOÏDES PAR SOXHLET

- **PRINCIPE DE L'EXTRACTEUR «SOXHLET»**

L'extracteur de soxhlet permet le traitement de solides (matériel végétal) en plus grande quantité que la macération, 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 surmonté d'un réfrigérant. 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. La taille du corps en verre étant limitée, il saurait nécessaire de réaliser plusieurs extractions successives pour récupérer une quantité suffisante d'extraits.



Figure 7 : Photographie de l'extracteur soxhlet (laboratoire de biologie végétale et d'ethnobotanique).

Cette extraction est faite en mettant 30g de poudre dans 300ml de méthanol à une température de 50°C, et une fois l'extrait est récupéré on suit deux protocoles distincts (le protocole de suau *et al.*, 2002 et le protocole de Farzana, 1997).

L'extraction des alcaloïdes est réalisée selon le protocole préconisé par Suau *et al.* (2002). 15 g de la poudre de la partie aérienne de la plante *Fumaria officinalis* séchée (au-dessous de 40°C) et broyée, a été extraite avec 150ml de l'éthanol dans un extracteur de Soxhlet. L'extrait éthanolique a subi une évaporation sous vide par l'évaporateur rotatif. La gomme récupérée est reconstituée dans une solution de chlorhydrate à 2,5% puis délipidée avec 150 ml d'éther diéthylique dans une ampoule à décanter. La phase aqueuse acidifiée récupérée après filtration, est alcalinisée à pH 8,5 par l'ammoniaque puis extraite par le dichlorométhane. Après décantation, une quantité d'anhydride de sulfate de magnésium a été rajoutée à la phase de dichlorométhane. Après filtration, le solvant a été éliminé par évaporation à l'air libre pour récupérer l'extrait d'alcaloïdes totaux «AT».

Le fractionnement des alcaloïdes est réalisé selon le protocole de Farzana. (1997) avec des modifications. La partie aérienne séchée et broyée de *Fumaria officinalis* (15g) a été extraite par Soxhlet avec du méthanol (150ml). L'extrait méthanolique récupéré a été concentré sous l'évaporateur rotatif pour donner une gomme brute qui a subit ensuite un fractionnement par extraction solvant-solvant. L'extrait brut a été mis en suspension dans 150 ml d'eau distillée, puis délipidé avec 150 ml d'éther diéthylique. La fraction aqueuse a été extraite avec 150ml de chloroforme pour obtenir la fraction neutre «FN». La phase aqueuse a ensuite été acidifiée avec de l'acide chlorhydrique jusqu'à pH 2,5 et extraite à nouveau avec 150 ml du chloroforme, cette phase de chloroforme a été nommée Fraction acide «FA». La phase aqueuse restante a subi une alcalinisation par l'ammoniaque jusqu'à pH 8,2 et extraite à nouveau avec du chloroforme. Cette fraction a été nommée fraction basique «FB».

II.2.2.2. L'EXTRACTION DES ALCALOÏDES PAR MACÉRATION

La macération est une méthode consiste à laisser la poudre de la plante en contact prolongé avec un solvant (LAGNICA, 2005). 30 gramme de poudre sont repris dans 300ml de méthanol. Après 72h de macération une filtration est effectuée, le filtrat récupéré subit l'un des deux protocoles précédent.

II.2.3. EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE DES ALCALOÏDES DE *FUMARIA OFFICINALIS*

L'activité antimicrobienne des alcaloïdes de *Fumaria officinalis* a été testée à différentes concentrations vis-à-vis de quelques microorganismes (bactéries, champignons).

Les extraits testés (AT, FN, FA, FB) ont été dissouts dans 1ml de DMSO (10%)

II.2.3.1. L'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE

Les alcaloïdes de *Fumaria officinalis* ont été dilués dans le DMSO à des concentrations de 1mg/ml, 5mg/ml et 25mg/ml, puis testés dans les deux milieux solide et liquide.

➤ LE MILIEU SOLIDE**• PRINCIPE**

Cette méthode consiste à mettre en évidence une éventuelle activité antibactérienne de l'extrait d'alcaloïde de *Fumaria officinalis*, en présence des germes testés. Des disques absorbants stériles, imprégnés d'une quantité d'extrait et déposés sur une gélose inoculée avec les souches. La diffusion de l'extrait dans la gélose permet de suivre l'inhibition et la croissance des germes qui se traduira par une zone claire autour de disque dite zone d'inhibition.

• MODE OPERATOIRE**A. REPIQUAGE DES SOUCHES**

Les souches étudiées ont été mises dans 5ml de bouillon nutritif afin de les revivifier, puis les ensemencements ont été réalisés pour chaque souche dans son milieu spécifique jusqu'à l'obtention d'un tapis microbien bien chargé. Les milieux spécifiques pour chaque souche sont donnés dans l'annexe N°2.

B. PREPARATION DE L'INOCULUM

Préparer une suspension bactérienne (à partir d'une culture jeune de 18 heures), puis procéder à des dilutions, prélever 1ml de la culture et l'émulsionner dans 9ml d'eau physiologique stérile jusqu'à obtention d'une concentration de 10^7 UFC/ml.

Selon Mac Farland, une DO comprise entre 0.08 et 0.1 correspond à une concentration de 10^7 à 10^8 germes/ml (Hellah, 2011).

C. PREPARATION DES DISQUES

Les disques sont préparés à partir du papier whatman n°4 avec un diamètre de 6 mm, suivant le diamètre de l'emporte-pièce, ensuite sont mis dans un tube à essai, stérilisés à l'autoclave 30 minutes à 120°C, puis stockés à une température ambiante.

D. PREPARATION DU MILIEU DE CULTURE

Le milieu de culture utilisé pour l'étude de l'activité des bactéries est Muller Hinton, qui est un milieu pour l'étude de la sensibilité aux antibiotiques et sulfamides.

La gélose Mueller Hinton est un milieu destiné à la réalisation d'antibiogrammes par diffusion. La préparation du milieu est donnée en annexe N°2.

E. ENSEMENCEMENT

Pour la réalisation d'un ensemencement sur milieu solide, plusieurs méthodes sont mises au point, dans ce travail, la méthode adoptée est celle d'écouvillonnage de Kirby-Bauer qui est faite ainsi :

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne et laisser s'imbiber.
- Le sortir du tube en l'essorant doucement sur la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum.
- Ensemencer la boîte de pétrie dont l'épaisseur de la gélose est de 4mm, en frottant l'écouvillon sur sa surface et en tournant la boîte 3 fois de 60°C afin d'assurer une bonne distribution de l'inoculum, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- Laisser sécher les boîtes pendant 15 à 20 minutes (CA-SFM, 1998).

F. DEPOT DES DISQUES ET INCUBATION

Déposer les disques à l'aide d'une pince préalablement flambée, en appuyant légèrement. Les disques doivent être parfaitement appliqués à plat sans glissement.

Une distance minimale de 15 mm doit séparer un disque périphérique du bord de la boîte, et chaque disque doit être éloigné au minimum de 30 mm des autres.

Quatre disques imbibés de 20µl des différents extraits à tester ont été déposés, un disque de 20µl de DMSO et un disque d'antibiotique de référence.

Incuber les boîtes à 37°C pendant 24 heures couvercle en bas (CA-SFM, 1998).

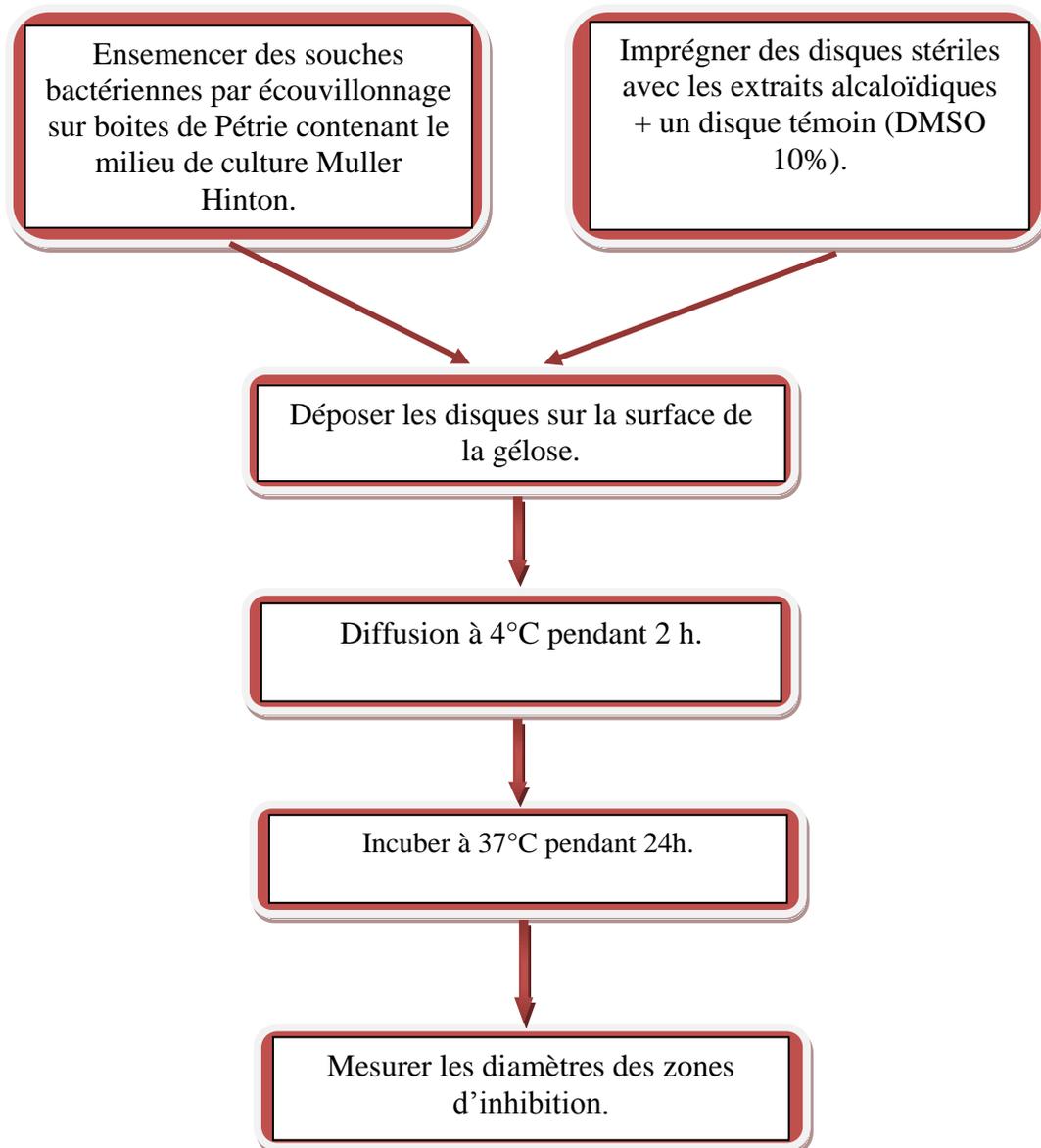


Figure 8: Illustration de la méthode des aromatoigrammes sur boîte de pétrie.

➤ LE MILIEU LIQUIDE**• MODE OPERATOIRE**

Après être passé par l'étape de repiquage et celle de préparation de l'inoculum, 1ml de chaque suspension bactérienne diluée à 10^7 UFC /ml est prélevé puis met dans un tube contenant 5ml de bouillon nutritif, la mesure de Densité Optique de ces derniers à été effectué au spectrophotomètre a une longueur d'onde de 625nm après avoir mesuré la DO du blanc(bouillon nutritif), puis 20 μ l de chaque extrait(AT,FN,FA,FB) a différentes concentrations ont été ajouté a chaque tube(pour chaque bactéries quatre tube ont été préparé, chacun pour tester une fraction différentes), les tubes ont été incubé à 37°C pendant 24h.

La lecture des résultats ce fait par la mesure de la DO après l'incubation.

II.2.3.2. DETERMINATION DE LA CONCENTRATION MINIMALE INHIBITRICE

La CMI est la plus faible concentration d'antibiotique qui inhibe la croissance bactérienne.

Après l'obtention des résultats de l'activité sur le milieu liquide aux concentrations de 1 mg/ml, 5 mg/ml et 25mg/ml, une détermination de la CMI est réalisée.

A partir d'une solution mère d'antibiotique, la gamme de dilution est préparé par des dilutions au demi dans le DMSO, et l'inoculum est préparé à partir de culture jeune de 18 heures et dilué à 10^7 UFC. La méthode utilisée est la macrométhode et elle est réalisée comme suit :

-1ml de l'inoculum est introduit dans un tube contenant 5ml du milieu de culture (bouillon nutritif) ;

-Additionné à chaque tube 20 μ l de chaque dilution d'extrait préparé ;

-incubé les tubes à 37°C pendant 24h.

La lecture des résultats est faite par mesure de la DO.

II.2.3.3. L'ACTIVITE ANTIFONGIQUE

L'activité des alcaloïdes sur les champignons a été testé a une concentration de 1mg/ml, 5mg/ml et 25mg/ml et ceci sur milieu solide.

Le milieu de culture utilisé pour l'étude de l'activité des champignons est la gélose à l'Extrait de Malt, c'est un milieu utilisé pour le dénombrement des levures et des moisissures dans les produits alimentaires et les produits pharmaceutiques. Elle convient également pour l'isolement et l'entretien des souches.

L'inoculum est préparé en prélevant quelques spores de la culture du champignon dans 100ml d'eau physiologique pour avoir un inoculum 10^5 spore/ml

Pour testé l'activité antifongique de nos extrait nous avons adopté la méthode d'inondation, 500µl de la suspension fongique ont été prélevés et déposés sur la gélose d'extrait de malt puis bien étalé à l'aide d'une pipette pasteur incliné sous forme de râteaux.

Les disques imprégnés de 20µl de chaque extrait sont déposés et les boites sont incubées pendant 2h a 4°C et par la suite a l'étuve a 25°C pendant 48h.

La lecture des résultats est réalisée par la mesure des diamètres des zones d'inhibition.

Chapitre III

Résultats et Discussion

III- RESULTATS ET DISCUSSION

III.1- TAUX D’HUMIDITE

Le taux d’humidité de la plante a été déterminé et consigné dans le (tableau VII) ci-dessous.

Tableau VII: Taux d’humidité de la prise d’essai

Matière végétale(g)	Matière végétale après passages à l’étuve(g)	Teneur en Eau	Taux d’humidité résiduelle (%)	Taux d’humidité moyen %
10	1,70	8,3	83	81,5
25	5	20	80	
50	9,20	40,8	81,6	

Le taux d’humidité est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Taux d'humidité \%} = (M_f - M_s / M_f) \times 100$$

M_f : Poids de la matière fraîche ;

M_s : Poids de la matière sèche (après passage à l’étuve).

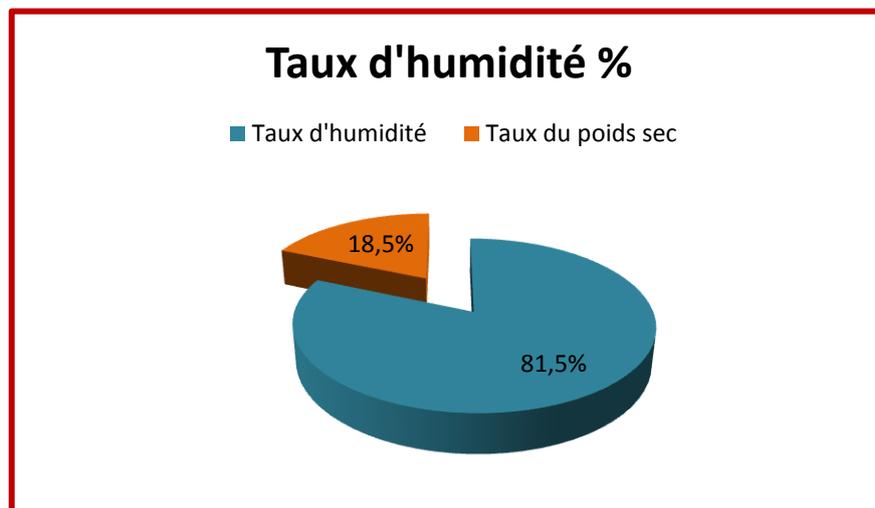


Figure 9 : Taux d’humidité de la partie aérienne de *Fumaria officinalis*.

La teneur en eau de *Fumaria officinalis* est de **(81,5%)** (Figure 9).Ce qui indique que cette espèce est riche en eau. Ce résultat est similaire aux résultats trouvés par Susplugas et collaborateurs (1975), qui ont obtenus un taux d’humidité des fumeterres qui

est de l'ordre de 85 %. Le taux d'humidité peut varié selon le climat et la nature du sol de la région de la récolte de la plante (Kannat et al., 2005).

III.2- TAUX D'EXTRACTION DES ALCALOÏDES

Le taux d'extraction des alcaloïdes de *Fumaria officinalis* a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{Le rendement \%} = [P_1 / P_0] \times 100$$

Avec :

P₁ : le poids d'extrait d'alcaloïdes ;

P₀ : le poids initial de la poudre végétale.

Les taux d'alcaloïdes de *Fumaria officinalis* sont montrés dans le tableau (VIII).

Le taux d'extraction des composés alcaloïdiques est influencé par le type du solvant, le rapport solide –liquide, la granulométrie de la poudre végétale, la température ainsi que le pH du milieu (Gbohaida, 2015).

L'extraction d'alcaloïdes est réalisée dans un milieu acide en utilisant le méthanol comme solvant d'extraction (Suau et al, 2002).

Les taux d'extractions d'alcaloïdes de *Fumaria officinalis* sont calculés par rapport à la masse de la poudre initiale (Tableau VIII) (Figures 10 et 11).

Tableau VIII : les rendements d'extraction des alcaloïdes totaux de *Fumaria officinalis* selon le protocole de Suau et al. (2002) par soxhlet et par macération.

Protocoll de Suau	Procédé	P ₀	N°	Taux	Rendement %	Rendement
	Utilisé			d'alcaloïdes		totale %
	Soxhlet	30g	1	0,190	0,63	1,32
			2	0,208	0,69	
	Macération	30 g	1	0,092	0,31	0,77
			2	0,138	0,46	

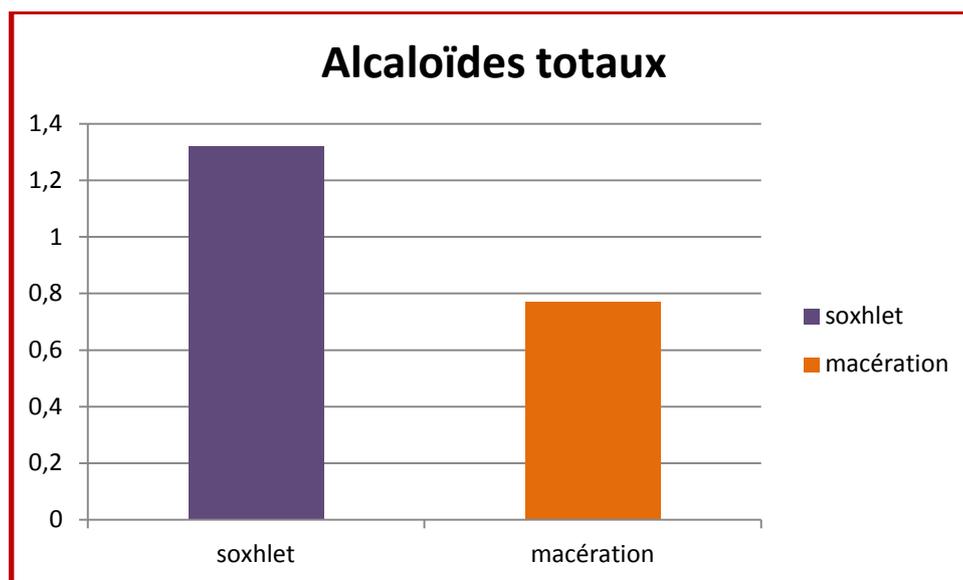


Figure 10: Histogramme des rendements d'extraction obtenus par Soxhlet et par macération selon Suau et al. (2002).



Figure 11 : Histogramme des rendements d'extraction obtenus avec soxhlet et macération selon le protocole de Farzana (1997).

Les résultats montrent que les taux d'extractions obtenus présentent des différences selon le mode d'extraction utilisé. En effet, on a remarqué que le rendement obtenu avec le dispositif de soxhlet (1,32 %) est élevé par rapport à celui obtenu avec la macération (0,77 %) pour les alcaloïdes totaux.

Les résultats obtenus ont montré que le taux en alcaloïdes de la fraction basique (0,13 %) est faible par comparaison aux autres fractions, neutre (0,42%) et acide (0, 24%), ceci est probablement dû à la richesse de *F.officinalis* en alcaloïdes quaternaires et qui sont récupérés dans les fractions FA et FN.

Certaines plantes alcaloidifères peuvent renfermer jusqu'à 4% voir 10% d'alcaloïdes, les fumariacées sont classées dans la catégorie de plantes riches en alcaloïdes (Bruneton, 1999).

En termes de rendement, on peut conclure que *Fumaria officinalis* est riche en alcaloïdes et les travaux de soussek et ses collaborateurs 1999 ont confirmé la richesse de cette espèce en alcaloïdes.

III.3- EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DE *FUMARIA OFFICINALIS*

L'extrait total et les trois fractions des alcaloïdes isoquinoléiques de *F. officinalis* ont été objet d'une évaluation antimicrobienne.

III.3.1- EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DE *FUMARIA OFFICINALIS* AUX CONCENTRATIONS DE 1 ET DE 5mg/ml

➤ SUR MILIEU SOLIDE

Les photographie de boite de pétrie des différents extraits d'alcaloïdes aux concentrations de 1 et 5 mg/ml sont représenté dans la (figure 12).



Figure 12 : Photographie des boites de petries aux concentrations de 1mg/ml et 5mg/ml.

L'analyse des données expérimentales n'a montré aucune zone d'inhibition autour des disques imprégnés de DMSO (témoin négatif).

Les résultats obtenus avec tous les extraits d'alcaloïdes de *F.officinalis* à la concentration de 1mg /ml (DMSO à 10%) ont montré une absence d'activité pour tous les germe bactériens testés.

L'augmentation de la concentration des extraits de *F.officinalis* à 5 mg/ml (DMSO à 10%) n'a pas donné une zone d'inhibition.

Les antibiotiques de référence utilisés (Vancomycine et Ceftazidime) au cours de cette étude se caractérisent par leur forte activité inhibitrice de croissance sur les germes testés, ce qui a été reflété par les diamètres d'inhibitions importants.

➤ SUR MILIEU LIQUIDE

L'activité antibactérienne des alcaloïdes des quatre extraits de *F.officinalis* a été testée sur milieu liquide aux concentrations de 1mg/ml et de 5 mg/ml. Les résultats sont reportés sur le (tableau IX).

Tableau IX: Effet des dilutions des extraits alcaloïdiques sur la croissance bactérienne.

Fraction	La concentration	S. aureus	SARM
AT 1mg/ml	0.5	+	/
	0.25	+	/
	0.125	+	/
	0.0625	-	/
	0.0312	-	/
AT 5mg/ml	2.5	+	/
	1.25	+	/
	0.625	+	/
	0.312	+	/
	0.156	-	/
FN 1mg/ml	0.5	/	+
	0.25	/	+
	0.125	/	-
	0.0625	/	-
	0.0312	/	-
FN 5mg/ml	2.5	+	+
	1.25	+	+
	0.625	+	-
	0.312	-	-
	0.156	-	-
FA 1mg/ml	0.5	+	+
	0.25	+	+
	0.125	+	+
	0.0625	-	-
	0.0312	-	-
FA 5mg/ml	2.5	+	+
	1.25	+	+
	0.625	+	+
	0.312	+	+
	0.156	-	-
FB 1mg/ml	0.5	+	+
	0.25	+	+
	0.125	+	-
	0.0625	-	-
	0.0312	-	-
FB 5mg/ml	2.5	+	+
	1.25	+	+
	0.625	+	+
	0.312	+	+
	0.156	-	-

AT : Alcaloides Totaux ; **FN** : Fraction Neutre ; **FA** : Fraction Acide ; **FB** : Fraction Basique.

(+) : présence d'activité (inhibition) ; (-): Absence d'activité (pas d'inhibition)

(/) : croissance bactérienne élevée.

Les résultats ont montré que les quatre extraits étudiés avaient révélé une bonne activité antibactérienne en milieu liquide à des concentrations de 1mg/ml et à 5mg/ml sur les souches de *Staphylococcus aureus* et *SARM*.

Les valeurs de CMI déterminées pour tous les germes testés sont résumées dans les tableaux (X et XI) ci-dessous :

Tableau X: Concentrations Minimales Inhibitrices pour les extraits à 1mg/ml.

Fractions	AT	FN	FA	FB
Bactéries	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>SARM</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
CMI (mg/ml)	0,125	0,25	0,0625	0,0625
Dilution	1/4	1/3	1/5	1/5

AT : Alcaloides Totaux ; FN : Fraction Neutre ; FA : Fraction Acide ; FB : Fraction Basique.

Tableau XI : Concentrations Minimales Inhibitrices pour les extraits à 5mg/ml.

Fraction	AT	FN	FA	FB
Bactéries	<i>S.aureus</i>	<i>S.aureus</i>	<i>SARM</i>	<i>S.aureus</i>
CMI (mg/ml)	0,312	0,625	1,25	0,156
Dilution	1/5	1/4	1/3	1/6

AT : Alcaloides Totaux ; FN : Fraction Neutre ; FA : Fraction Acide ; FB : Fraction Basique.

III.3.2- EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DE *FUMARIA OFFICINALIS* A 25mg/ml

Les résultats négatifs obtenus avec les concentrations précédentes (1 et 5 mg/ml) nous ont poussés à augmenter la concentration de l'extrait alcaloïdique jusqu'à 25 mg/ml pour pouvoir déterminer la concentration des alcaloïdes efficace sur les autres souches bactériennes.

➤ **SUR MILIEU SOLIDE**

Le résultat du test antibactérien des alcaloïdes de *F.officinalis* à la concentration de 25 mg/ml est positif sur toutes les souches bactériennes, on a observé des zones d'inhibitions significatives autour de tous les disques que ce soit pour les germes à gram positif et ceux à gram négatif.

Les photographie des boites de pétries sont représentés dans la (figure 13).

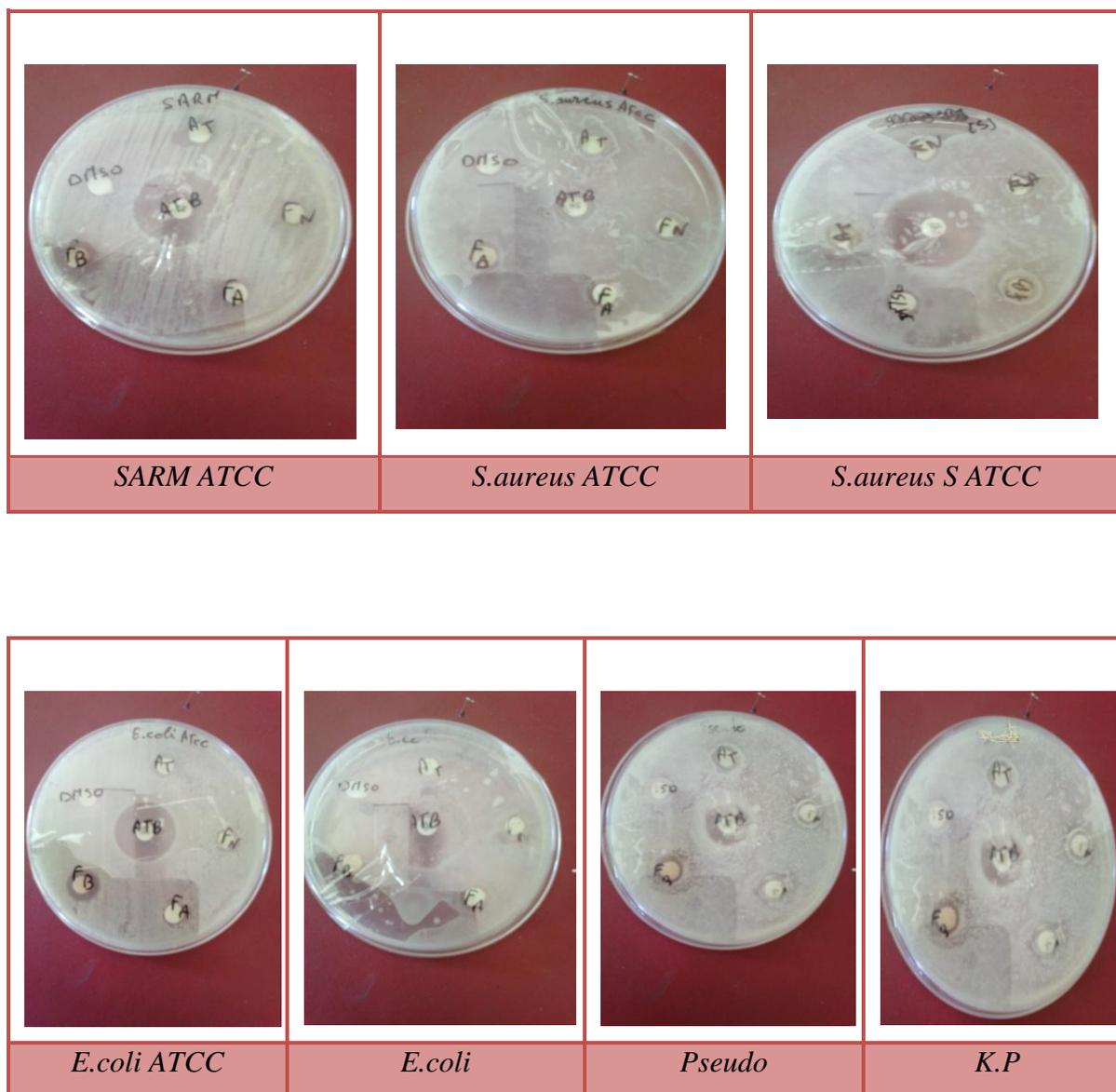


Figure 13 : Photographie des zones d'inhibition des bactéries a 25mg/ml

Tableau XII: Diamètre des zones d'inhibitions des bactéries a 25mg/ml

Fraction	AT	FN	FA	FB	ATB
<i>SARM</i> ATCC103911	8	7	7	15	25
<i>S.aureus</i> ATCC29213	11	10	9	12	11
<i>S.aureus S</i> ATCC292113	12	9	11	11	20
<i>E.coli</i> ATCC25922	10	9	8	10	22
<i>E.coli</i>	10	10	11	8	29
<i>Pseudo</i>	10	10	10	10	16
<i>K.P</i>	10	8	10	11	30

AT : Alcaloïdes Totaux ; **FN** : Fraction Neutre ; **FA** : Fraction Acide ; **FB** : Fraction Basique.

On constate une différence dans le diamètre des zones d'inhibitions entre les bactéries étudiées. L'extrait le plus actif est la fraction basique (FB) avec un diamètre de 15 mm et ceci sur *SARM*, suivie de 12 mm pour *S. aureus*, les zones d'inhibitions des autres bactéries varient de 8mm à 11mm.

La plus grande zone d'inhibition est obtenue par les alcaloïdes totaux qui est de 12 mm autour du disque de *S. aureus méthiciline sensible*, par contre la plus basse activité de l'extrait total est obtenue avec la souche *SARM* avec un diamètre de 8 mm.

Les deux fractions neutre (FN) et acide (FA) ont une activité similaire sur la majorité des bactéries testées avec un diamètre \leq à 11 mm. *SARM* s'est montré moins sensible à ces deux fractions et a donné une zone de 7 mm.

➤ SUR MILIEU LIQUIDE

Les bactéries testées en milieu liquide à la concentration de 25 mg/ml ont montré une sensibilité variable d'un germe à l'autre, qui est révélée par la réduction de la DO des souches.

L'extrait le plus efficace est la fraction acide (FA) qui a donné une forte activité sur les souches à gram positif, *SARM* et *Staphylococcus*. Suivie d'extrait AT avec une activité semblable sur toutes les souches. Par contre FN et FB ont révélé une activité identique sur toutes les souches à l'exception de *SARM* ou FB s'est montré très active.

La CMI a été déterminée et les résultats sont reportés dans le (tableau XIII).

Tableau XIII : Concentrations Minimales Inhibitrices pour les extraits à 25mg/ml.

Fraction	Bactérie	CMI (mg/ml)	Dilution
AT	SARM	0,390	1/7
	S.aureus	0,190	1/8
	E.coli	0,781	1/6
	P. aeruginosa	1,562	1/5
FN	SARM	0,390	1/7
	S.aureus	0,390	1/7
	E.coli	0,781	1/6
	P. aeruginosa	0,781	1/6
FA	SARM	0,097	1/9
	S. aureus	0,097	1/9
	E.coli	0,190	1/8
	P. aeruginosa	0,781	1/6
FB	SARM	0,097	1/9
	S.aureus	0,390	1/7
	E.coli	0,781	1/6
	P. aeruginosa	0,781	1/6

AT : Alcaloides Totaux ; **FN** : Fraction Neutre ; **FA** : Fraction Acide ; **FB** : Fraction Basique.

III.4- EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIFONGIQUE

L'évaluation de l'activité antifongique des différents extraits alcaloïdiques de *F. officinalis* a été effectuée sur six champignons.

Ces champignons se sont montrés résistants vis-à-vis des extraits d'alcaloïdes car aucune activité positive n'a été obtenue avec les deux concentrations de 1mg/ml et de 5mg/ml.

L'activité a été obtenue à 25mg/ml et ceci sur le milieu solide avec des zones d'inhibitions allant de 10 mm à 13 mm.

Les résultats obtenus sont représentés dans la (figure 14)

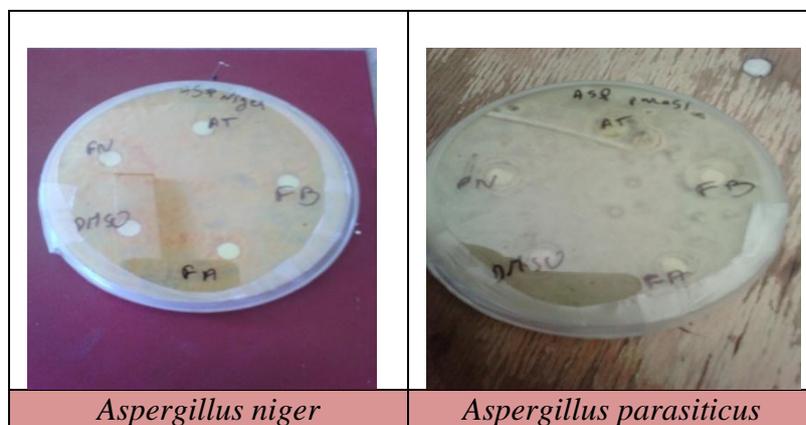


Figure 14 : photographie des zones d'inhibition des champignons à 25mg/ml.

Tous les champignons se sont révélés sensibles aux quatre extraits, la différence réside dans le diamètre d'inhibition représenté dans le tableau (XIV) ci-dessous :

Tableau XIV: Diamètre des zones d'inhibitions des alcaloïdes de *Fumaria officinalis* sur les champignons.

Germe	Fraction	Diamètre
<i>Aspergillus niger</i>	AT	12
	FN	13
	FA	11
	FB	13
<i>Aspergillus carbonarius</i>	AT	13
	FN	11
	FA	10
	FB	12
<i>Aspergillus flavus</i>	AT	12
	FN	12
	FA	11
	FB	10
<i>Aspergillus parasiticus</i>	AT	13
	FN	12
	FA	10
	FB	11
<i>Aspergillus ochraceus</i>	AT	12
	FN	11
	FA	10
	FB	10
<i>Botrytis cinerea</i>	AT	11
	FN	10
	FA	11
	FB	13

AT : Alcaloïdes Totaux ; **FN :** Fraction Neutre ; **FA :** Fraction Acide ; **FB :** Fraction Basique.

DISCUSSION GENERALE

Les essais effectués dans la présente étude à différentes concentration ont révélé une absence de l'activité antibactérienne avec les deux concentrations testées 1 mg/ml et 5mg/ml sur milieu solide, il est probable que l'absence des zones d'inhibition ne soit pas liée à une absence d'activité de la substance inhibitrice mais uniquement à une diminution du pouvoir migratoire sur la surface de la gélose.

Par contre les résultats obtenus sur le milieu liquide avec les mêmes concentrations de 1 et de 5mg/ml ont mis en évidence une activité inhibitrice sur les deux bactéries à gram positif testés *SARM* et *S. aureus*, cette activité inhibitrice de croissance est une illustration de la sensibilité des germes positifs étudiés vis-à-vis de l'extrait végétal. En revanche *E. coli*, *K. Pneumonea* et *P. aeruginosa* ont montré une forte résistance aux extraits alcaloïdiques testés.

Ces résultats nous ont permis de conclure que les alcaloïdes de *Fumaria officinalis* ont une activité antibactérienne sur les Gram⁺ alors que les Gram⁻ sont résistantes.

Ceci s'explique par la présence d'une couche lipidique dans la membrane externe des bactéries à gram négatif moins perméable et plus résistante par rapport aux grams positif qui sont dépourvus de cette couche (**Denyer et al., 2002**). Cette résistance est due aux LPS (constituant majeur de la membrane externe des bactéries gram négatif) qui empêchent la pénétration des alcaloïdes (**Meyer et al., 1999**).

Cette imperméabilité soutient les observations rapportées par Nikaido, 2003 que les porines excluent le passage des molécules a poids moléculaire élevée.

L'analyse des résultats obtenue à 25mg/ml sur les deux milieux solide et liquide montre l'efficacité de nos extraits alcaloïdiques à cette concentration.

Les résultats indiquent que ces extraits à une concentration élevée sont actifs sur les grams positifs et grams négatifs contrairement aux résultats obtenus à 1 mg/ml et 5 mg/ml.

Cette importante bioactivité des alcaloïdes de *Fumaria officinalis* est en relation avec leur teneur élevée en alcaloïdes isoquinoléiques causant des dommages au niveau de la membrane externe des bactéries a gram négatif, ce qui entraine une augmentation de la perméabilité membranaire permettant ainsi la pénétration des alcaloïdes a l'intérieur de la bactérie (**Iwasa et al., 2001**).

Dans les tests effectués *S. aureus* et *SARM* se sont montrés les plus sensibles à l'égard des extraits d'alcaloïdes étudiés.

Cette sensibilité a fait l'objet de nombreuses études, comme l'étude élaborée par Erdemoglu et ses collaborateurs (2007) qui a montré que les deux souches possèdent une sensibilité à l'égard des alcaloïdes de *Lupinus angustifolius*, une autre étude réalisée par Torres et al. (2002) qui ont rapporté l'inhibition de 10 souches de *SARM* par quatre alcaloïdes issus d'*Arenosclera brasiliensis*.

L'effet des alcaloïdes sur les souches gram positifs et gram négatifs est confirmé les travaux de Iannello *et al.* (2014) qui ont révélé la présence d'une activité antibactérienne des alcaloïdes de *Crinum angustum*, les gram positifs se sont avérés plus sensibles que les gram négatifs avec des CMI qui varient de 156 à 625 µg/ml. Iannello *et al.*, (2014) a aussi montré l'efficacité de ces extraits sur les germes fongiques.

Njume *et al.* (2016) ont évalué l'activité antibactérienne d'un extrait brute de *Bidens pilosa* L. (Asteraceae) composé de six métabolites secondaires parmi eux les alcaloïdes. Les résultats ont révélé l'efficacité de cet extrait vis-à-vis des souches bactériennes positives et négatives avec des zones importantes allant jusqu'à 36 mm. Ce qui démontre que les alcaloïdes sont efficaces comme antimicrobien en interaction avec d'autres métabolites secondaires.

Conclusion

A l'issu des résultats obtenus, nous pouvons affirmer que la partie aérienne de *Fumaria officinalis* possède une teneur élevée en eau.

En termes de rendement, on peut conclure que *Fumaria officinalis* est riche en alcaloïdes, et plusieurs travaux ont confirmé la richesse de cette espèce en alcaloïdes.

L'évaluation de l'effet antibactérien des extraits d'alcaloïdes de *F.officinalis* a montré qu'à de faibles concentrations les alcaloïdes ont montrée une activité antimicrobienne modérée.

A de faible concentration les alcaloïdes étudiés ont révélés une sensibilité vis-à-vis des souches à gram positif *Staphylococcus* et *SARM* sur le milieu liquide, par contre, les grams négatifs se sont montrés résistants sur les deux milieux solide et liquide.

Des concentrations plus élevées en alcaloïdes (25mg/ml), ont permis de donner une activité antibactérienne modérée sur les deux milieux étudiés liquide et solide et avec toutes les souches testées.

On a déduit que les deux souches *Staphylococcus* et *SARM* sont les plus sensibles vis-à-vis des extraits alcaloïdiques, ce qui justifie l'usage de *Fumaria officinalis* en médecine traditionnelle contre les maladies de la peau.

Les champignons ont également montré leur sensibilité vis-à-vis des alcaloïdes de à (25mg/ml).

En perspectives, il serait souhaitable :

D'identifier les alcaloïdes de *F.officinalis* responsables de cette activité par différentes méthodes d'investigations (GC/MS et LCMS) pour pouvoir les explorer dans d'autres domaines industriels comme conservateurs alimentaires ou en cosmétique.

Dans le cadre de son utilisation comme antibiotique des travaux plus approfondies devraient être poursuivies.

Références bibliographiques

A

- **Ali-Shtayeh, M.S., Jamous, R.M., Al-Shafie, J.H., Elgharabah, W.A., Kherfan, F.A., Qarariah, K.H., Khdaïr, I.S., Soos, I.M., Musleh, A.A. et al. (2008).** Traditional Knowledge of wild edaible plants used in Palestine (Northern West Bank): A comparative study. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 4: 1-13.
- **Anofel.** Aspergilloses. Cours de l'Université Médicale Virtuelle Francophone, 2010-2011.

B

- **Bach, D. (1998).** Cours de botanique générale. P : 171-238.
- **Beloued, A. (2009).** Plantes médicinales d'Algérie. Office des publications universitaire. 102p.
- **Blackwell, M. (2011).** The fungi: 1, 2, 3 ... 5.1 million species. *American Journal of Botany*, 98(3):426-438.
- **Boucard, M et Laubenheimer, B. (1966).** Action du nébulisat de fumeterre sur le débit biliaire du rat. *Thérapie*, 21 :903-11.
- **Breneton, J. (2009).** *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales*. Paris: 4eme édition Lavoisier.

- **Bruneton, J. (1999).** *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, partie n°4 : Alcaloïdes.* Paris : 3^e édition LAVOISIER (1120p). pp-784.873.

C

- **Chlebek, J., Novak, Z., Kassemova, D., Safratova, M., Kostelník, J., Maly, L., Locarek, M., Opletal, L., Host'alkova, A. et al. (2016).** Isoquinoline Alkaloids from *Fumariaofficinalis* L. and Their Biological Activities Related to Alzheimer's Disease. *ChemBiodivers*, 13(1):9-91
- **Coste, H. (1937).** Flore descriptive et illustrée de la France, de la corse et des comtés limitrophes. Paris : Ed Librairie des sciences et des arts. 191p.

D

- **Dellile L. (2007).** Les plantes médicinales d'Algérie. *Ed Berti, Alger*, P: 120121.
- **Denyer, S.P., Maillard, J.Y. (2002).** Cellular impermeability and uptake of biocides and antibiotics in Gram-negative bacteria. *J. Appl. Microbiol*, 92: 35S–45S.
- **Dubray, M. (2010).** *Fumariaofficinalis*. Cour d'herboristerie Tout droit réservé, reproduction strictement interdite, Document réservé à un usage personnel.

E

- **Erdemogulu, M., Ozkan, S., Tosun, F. (2007).** Alkaloid profile and antimicrobial activity of *Lupinusbrasiliensis* alkaloid extract. *Phytochem Rev*, (6): 197-201.

F

- **Farzana, A.(1997).** *Isolation and structural studies on the chemical constituents of Withania somnifera, Fumaria flabilata and xray diffraction studies*, Thèse de doctorat, Université de Karach, p.106-107.
- **Ferreira, J.F., Peaden, P. et Keiser, J. (2011).** In vitro trematocidal effects of crude alcoholic extracts of *Artemisia annua*, *A. absinthium*, *Asiminatriloba*, and *Fumariaofficinalis*: trematocidal plant alcoholic extracts. *ParasitolRes. Dec*,109(6):1585-92.
- **Freney, J.** bactériologie clinique. Paris: Éd. Eska. (2007). Précis de

G

- **Goetz, P., Ghedira, K. et Le Jeune, R. (2009).** *Fumaria officinalis L.* (Fumariacée):Matière médicale pratique. *Phytothérapie*, 221- 225p.

H

- **Hellah, Z. (2011).** Contribution à l'étude des propriétés antibactérienne et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus. Application sur sardine (*Sardina pilchardus*), Thèse de magister, Faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques, Université de Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.
- **Hopkins, W.G. (2003).** *Physiologie végétale*. Paris: 2ème édition américaine, de Boeck et Lancier S A. 514p.
- **Hrabak J, Chudackova E, Papagiannitsis CC. (2014).** Detection of carbapenemases in *Enterobacteriaceae*: a challenge for diagnostic microbiological laboratories. *Clin Microbiol Infect*; 20: 839-53.
- **Hurabielle, M et Paris, M. (1980).** *Pharmacognosie. Abrégé de Matériel Médical. Plante à alcaloïdes*. Masson (2). 256-262p.

I

- **Iannello, C., Bastida, J., Bonvicini, F., Antognoni, F., Gentilomi, G.A. et Poli, F. (2014).** Chemical composition, and in vitro antibacterial and antifungal activity of an alkaloid extract from *Crinum angustum* Steud. *Nat Prod Res*, 28(10):704-10.
- **Iwasa K, Moriyasu M, Tachibana Y, Kim H.S, Wataya Y, Wiegrede W, Bastow F.K, Cosentino M, Kozuka M, Lee H.K. (2001).** Simple isoquinoline and benzulisoquinoline alkaloids as potential Antimicrobial, Antimalarial, Cytotoxic and Anti-HIV agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, (9): 2871-2884.

- **Izzo, G., di Carlo, D., Biscardi, R., De Fusco, N., Mascolo, F., Borrelli, F., Capasso, M.P., Fasulo, G. (1995).** Biological screening of Italian medicinal plants for antibacterial activity. *Phytotherapy Research*, 9, (4):281–286.

J

- **Jauzein, P. (1995).** Flore des champs cultivés. Paris : Ed INRA. 557p.

K

- **Kanatt, S.R., Sweetie, R., Chander., Ramesh., Sharma, A., Arun, R. (2005).** Antioxydants potential of mint (*Menthaspicata* L) in radiation-processed lamb meat. *Food Chemistry*, 100 (2): 451-8.
- **Kaper, J.B., Nataro, J.P. et Mobley, H.L. (2004).** Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol*, 2:123-140.
- **Keller, M., Viret, O. et Cole, F.M. (2003).** *Botrytis cinerea* infection in grape flowers: defense reaction, latency, and disease expression. *Phytopathology*, **93** (3): 316–322.
- **Komaszewska, E.W., Petruczynik, A., Jozwiak, G., Kesik, K., and Waksmundzka-Hajnos, M. (2007).** Quantitative determination of protopine in *Fumaria officinalis* extracts by Hight performance liquide chromatography. *Annale Universitatis Mariae Curie-Sklodowska, Lublin-polonia*. p :77.

L

- **LaGinika, L. (2005).** *Étude photochimique et activité biologique de substances naturelle isolée de béninoise.* Thèse de doctorat, en science pharmaceutique, Université Louis Pasteur Strasbourg, p.267.
- **Larousse. (2001).** Encyclopedia of medicinal plants. 2nd Edition Vuief, p: 213.
- **Leclerq, J.Q. (2002).** Le voyage insolite de la plante au médicament. *Journal de pharmacie de Belgique*, (57) :11-20.
- **Le Loir, Y. et Gautier, M. (2009).** *Staphylococcus aureus*, collection : Monographies de microbiologie, Editions Tec&Doc Lavoisier.

M

- **Madigan, M.T., Martinko, J.M. et Parker, J. (2002).** In: *Brockbiology of microorganisms*, Prentice Hall Upper Saddle River, NJ, USA: Ninth Edition. P.749-771.
- **Meyer, A., Deiana, J. et Leclere, H. (1999).** Cours de microbiologie nouveau programme Ed Douin. p: 365.
- **Milcent, R. et Chau, F. (2003).** *Chimie organique hétérocyclique.* Ed: EDP sciences. 845:725-809.
- **Morançais, S., Tavoukdjian, N. (2002).** *Le monde microbien.* Paris :Casteilla. 96p.

N

- **Nikaido, H.(2003).** Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiologie and molecular biologie review*, (64): 593-656.
- **Njume ,C.,Gqaza, B.M., Rozani, C.etGoduka, N.I.(2016).**Studies on bioactivity and secondary metabolites of crude extracts of *Bidenspilosa* L. (Asteraceae): A medicinal plant used in the Transkei region of South Africa.*Pak J Pharm Sci*,29(3): 877-85.

O

- **Orhana, I., Ozcelik, B., Karaoglu, T., Sener, B. (2007).** Antiviral and antimicrobial profiles of selected isoquinoline alkaloids from *Fumaria* and *Corydalis* species.*Z Naturforsch C*, 62(1-2):19-26.
- **Oxoby,M.J.(2002).***Etudes sur la synthèse totale des antibiotiques naturels de la famille des angucylinones*,thèse de doctorat, chimie organique,Université de Bordeaux I ecole doctorale des sciences chimiques.p 3-12.

P

- **Perrot, E. et René. (1995).** Les plantes médicinales. Ed De boek, 100p.

S

- **Sanago, R. (2006).** *Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle.* Université Bamako(Mali), p.53.
- **Sanchez, S., Chavez, A., Forero, A., Garcia-Huante, Y., Romero, A., Sanchez, M., Rocha, D., Sanchez, B., Avalos, M et al. (2010).** Carbon source regulation of antibiotic production. *The Journal of Antibiotics*, 63: 442-459.
- **Sousek, K.J., Guedon, D., Adam, T., Bochorakova, H., Taborska, E., Valka, I., Cimanek, A. (1999).** Alkaloids and organic acids content of eight *Fumaria* species. *Phytochemical Analysis*, (10):6-11.
- **Suau, R., Cabezudo, B., Rico, R., LopezRomero, J.M et Najera, F.(2002).** Alkaloids from *Fumaria sepium* and *Fumaria agraria*. *Biochemical systematics and Ecology*, 30:263-265.
- **Susplugas, J., Massa, P., Susplugas, A., Taillarde, Mime. C., Susplugas. Et Salabert, J. (1975).** Fumeterres en languabdoc Roussillon. Université de Montpellier Faculté de pharmacie. *Anal. Inst.Bot. canavilles*, 32(2): 233-239.
- **Sturm, S., Stasser, E.M. et Stuppner, H. (2006).** Quantification of *F.officinalis* isoquinoline alkaloids by nonaqueous capillary electrophoresis-electrospray ion trap mass spectrometry. *Journal of chromatography A*, 2 (11): 331-338.

T

- **Torres, V.R., Berlinck, G.S., Nascimento, G.F., Fortier, S.C., Pessoa, C., Moraes, M.O. (2002).** Antibacterial activity against resistant bacteria and cytotoxicity of four alkaloid toxins isolated from the marine sponge *Arenosclera brasiliensis*. *Toxicon*, (40) : 885-891

V

- **Viret, O., Keller, M., Jaudzems, V.G. et Cole, F.M. (2004).** *Botrytis cinerea* infection of grape flowers: light and electron microscopical studies of infection sites. *Phytopathology*, 94(8): 850–857.

W

- **Walsh, C. (2003).** *Antibiotics: actions, origins, resistance*. Washington : ASM Press. 117p

Y

- **Yala, D., Merad, A.S., Mohamedi, D. et Ouar Korich, M.N. (2001).** Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb*, 91.

Glossaire médicale

- ❖ **Acétylcholinestérase** : En biochimie, les cholinestérases sont une famille d'enzymes qui catalysent l'hydrolyse du neurotransmetteur acétylcholine en choline et acide acétique, une réaction nécessaire pour permettre à un neurone cholinergique de revenir à son état de repos après l'activation.
- ❖ **Amphocholérétique** : médicament qui peut favoriser ou au contraire ralentir la production de bile par le foie.
- ❖ **Analgesique** : Les antalgiques ou analgésiques sont des médicaments utilisés en médecine dans le traitement de la douleur (antalgie ou analgésie) d'un patient.
- ❖ **Antagoniste**: En pharmacologie et en électrophysiologie, un antagoniste est une molécule interagissant avec un récepteur membranaire et bloquant ou diminuant l'effet physiologique d'une autre molécule. L'antagoniste ne possédant pas de propriétés sur ce site de fixation (récepteur) il empêche la fixation d'un ligand endogène.
- ❖ **Anti-arythmique** : médicament utilisé pour les troubles du rythme cardiaque.
- ❖ **Anticholinergique** : Un agent anticholinergique est une substance appartenant à une classe pharmacologique de composés qui servent à réduire les effets où l'acétylcholine joue le rôle de neuromédiateur dans le système nerveux central et le système nerveux périphérique.
- ❖ **Anti-histaminique** : médicament qui s'oppose à l'action de l'histamine, et que l'on utilise dans le traitement des allergies et de l'ulcère gastroduodéal.
- ❖ **Artériosclérose** : dégénérescence des parois des artères qui provoque leur durcissement et leur épaissement.
- ❖ **Bactéricide** : Détruit et tue les bactéries.
- ❖ **Bactériostatique** : arrête la multiplication des bactéries sans les détruire.
- ❖ **Calculs biliaires** : corps cristallin formé par accrétion ou concrétion de composants normaux ou anormaux de la bile dans la vésicule ou les voies biliaires.
- ❖ **Cholagogue** : Une substance cholagogue (aussi appelée cholécystokinétique) a pour effet de faciliter l'évacuation de la bile vers l'intestin en provoquant une chasse biliaire à partir de la vésicule qui se vide en se contractant.

- ❖ **Curarisant:** Se dit d'une substance naturelle ou de synthèse dont l'effet est semblable à celui du curare et qui est employée au cours des anesthésies pour relâcher les muscles.
- ❖ **Cystite :** inflammation de la vessie, généralement due à une infection bactérienne de l'urètre, du vagin ou des reins.
- ❖ **Diurétique :** Terme caractérisant de façon générale ce qui augmente la sécrétion urinaire.
- ❖ **Dysenterie :** maladie aiguë ou chronique du gros intestin.
- ❖ **Dyskinésies biliaires :** désigne une atteinte des vésicules biliaires, de petits organes situés à côté du foie responsables du stockage de la bile. Elle correspond à une mauvaise contraction des vésicules.
- ❖ **Endocardite :** infection et inflammation de la membrane tapissant la surface interne du cœur et les valves cardiaques.
- ❖ **Immunodéprimé :** On dit d'une personne qu'elle est immunodéprimée lorsque son système immunitaire n'est plus capable de faire face correctement à des microbes.
- ❖ **Maladie d'Alzheimer :** maladie neurologique dégénérative, caractérisée par une atrophie diffuse du cortex cérébral provoquant une démence progressive.
- ❖ **Méningite:** inflammation des méninges, les membranes qui enveloppent le cerveau et la moelle épinière.
- ❖ **Otite:** inflammation aiguë ou chronique de l'oreille externe ou moyenne.
- ❖ **Parasiticide:** est un produit chimique capable de détruire (tuer) les parasites.
- ❖ **Paresse hépatique:** l'impossibilité du foie à assurer l'absorption des graisses.
- ❖ **Psoriasis:** maladie eczémateuse chronique de la peau formant des plaques rouges couvertes de squames
- ❖ **récepteur muscarinique:** est un récepteur métabotrope qui lie l'acétylcholine libérée dans le milieu extracellulaire.
- ❖ **relaxant:** médicament susceptible de conférer un état de détente physique (notamment musculaire) ou psychique.
- ❖ **septicémie:** maladie caractérisée par la présence dans le sang de bactéries qui s'y sont introduites et se sont multipliées à la suite d'une blessure ou d'une intervention chirurgicale.
- ❖ **Sérotoninergique :** est un effet indésirable potentiellement mortel lié à la perturbation de l'équilibre chimique du système nerveux central due à un excès de sérotonine au niveau cérébral.

- ❖ **Spasmolytique:** Synonyme de antispasmodique, c'est à dire possédant la capacité de combattre les spasmes (contractures, crampes, convulsions).
- ❖ **Suppuration:** désigne la création de pus, le plus souvent due à une infection.
- ❖ **Tranquillisant:** médicament destinés à exercer un effet sédatif sur le psychisme et à traiter, en particulier, l'anxiété, l'insomnie et les états d'agitation.
- ❖ **Troubles dyspeptiques:** regroupent l'ensemble des signes cliniques responsables de malaises épigastriques, localisés au niveau supérieur de l'abdomen.

Glossaire botanique

- ❖ **Annuelle** : adjectif désignant une plante qui ne vit qu'une saison.
- ❖ **Assises** : couche de cellules.
- ❖ **Bisannuelle** : adjectif désignant une plante vivant pendant deux saisons successives.
- ❖ **Corolle** : enveloppe des pièces florales connus sous le nom de pétales.
- ❖ **Dimère** : En chimie, un dimère est une molécule de la famille des polymères ne comportant que deux sous-unités.
- ❖ **Eperon** : prolongement tubuleux du calice ou de la corolle en dessous de la fleur.
- ❖ **Glabre** : dépourvus de poils.
- ❖ **Grappe** : inflorescence disposée autour d'un axe, chaque fleur étant nettement pédicellée.
- ❖ **Herbacée** : plante dont le tissu végétal reste verte et peu consistant et qui ne développent pas de tige ligneuse permanente.
- ❖ **Lancéolé** : se dit d'une feuille en forme de fer de lance.
- ❖ **Laticifère**: Il désigne un élément botanique qui contient du latex.
- ❖ **Lobe** : découpure large et courbe (des organes végétaux).
- ❖ **Silicule** : silique courte, tout au plus trois fois aussi longue que large.
- ❖ **Silique** : fruit sec, plus de trois fois aussi longue que large, s'ouvrant en principe en deux valves séparées par une cloison sur les bords de laquelle sont attachées les graines. La silique est le fruit caractéristique des brassicacées.
- ❖ **Stipule** : appendice le plus souvent foliacé ou membraneux.
- ❖ **Tégument** : En botanique, le tégument désigne un tissu différencié formant une enveloppe autour de divers organes, notamment l'ovule et la graine.
- ❖ **Vivace** : se dit d'une plante vivant plus de trois saisons.
- ❖ **Zygomorphe** : se dit d'une fleur irrégulière, à symétrie bilatérale.

Annexes

*ANNEXE 1**MATERIEL ET REACTIF*

Matériels	Réactifs
-Ampoule à décanter	-Acide acétique
-Balance électrique RADWAG, WPS	-Ammoniac (NH ₃)
-Barreau magnétique	-Chloroforme (CHCl ₃)
-Béchers	-Dichlorométhane
-Boîtes de pétries	-DMSO
-Broyeur électrique	-Eau distillé
-Burettes	-Ethanol (C ₂ H ₆ O)
- Cuves	-Ether diéthylique
-Eprouvette	-Méthanol
-Etuves (BINDER et MEMMER)	-Bouillon nutritif
-Micropipettes	-Milieu Miller Hinton
-Papier aluminium, Papier filtre watman	-Gélose a l'extrait de malt
-pH mètre HANNA instrument	-gélose chapman
-Soxhlet Gerhardt	-gélose CN
-spatules	-gélose hektoen
-Spectrophotomètre UV-VIS.SHIMADZU	-gélose TSA
-Tamiseur Resch de 250 µm.	
-Tubes à essais	
-Vortex TECHTNICA-EV102	

ANNEXE 2

PREPARATION DES MILIEUX DE CULTURES

L'élaboration des milieux se fait à partir des poudres lyophilisées.

Au moment de l'emploi, on pèse avec précision une quantité de poudre équivalente à la quantité de milieu dont on a besoin.

La poudre dissoute est chauffée et maintenue à ébullition pendant environ 2mn pour permettre

la dissolution des cristaux. Les milieux sont ensuite répartis dans des flacons stériles avant d'être autoclavés (pendant 15 à 20mn à 120-121°C). Au moment de l'emploi les flacons sont fondus au bain-marie bouillant avant l'usage et repartis dans les boîtes de pétri.

Ces boîtes de pétri prêts à l'emploi sont conservés à 4°C dans des sacs en plastiques soudés.

Le milieu de culture	La quantité nécessaire g/l
Muller-Hinton	38
Gélose d'extrait de malt	45
Bouillon nutritif	20
Hektoen	76,7
TSA	45,5
CN	46/990 ml

Résumé

Notre étude a porté en premier lieu sur l'extraction des alcaloïdes de la partie aérienne de la plante médicinale *Fumaria officinalis*, et le protocole d'extraction utilisé est celui basé sur l'extraction solide-liquide, avec l'alcool.

En deuxième lieu on s'est intéressé à l'évaluation de l'activité antimicrobienne de ces alcaloïdes, qui a été évaluée par deux méthodes ; la diffusion des disques et celle sur milieu liquide pour l'activité antibactérienne, et par uniquement la méthode de diffusion des disques pour l'activité antifongique et ceci contre sept souches bactériennes et six souches fongiques (référénciées et pathogènes).

Fumaria officinalis a fournit un taux d'alcaloïdes d'environ 1,32%, l'évaluation de l'effet antimicrobien montre qu'à une faible concentration, ces alcaloïdes n'exerce aucun effet sur les microorganismes sur milieu solide, par contre en milieu liquide une certaine activité a été trouvée sur les bactéries à gram positif. Mais en revanche à une concentration plus élevée allant à 25mg/ml, une inhibition de la culture des bactéries et des champignons a été obtenue sur les deux milieux solide et liquide. Ce qui a permis de conclure que l'extrait le plus efficace est FA, Suivie de AT. Puis en dernier lieu FN et FB qui a donné une très faible activité avec des CMI qui varie de 0,097 et 0,781.

Mots clés : Activité antibactérienne, activité antifongique, alcaloïdes, *Fumaria officinalis*, extraction.

Abstract

Our study focused primarily on the extraction of alkaloids aerial part of the medicinal plant *Fumaria officinalis*, and the extraction protocol used is based on the solid-liquid extraction with alcohol.

Secondly we became interested in evaluating the antimicrobial activity of these alkaloids, which was evaluated by two methods; diffusion disks and on the liquid medium for the antibacterial activity, and only the disk diffusion method for antifungal activity and this against seven bacterial strains and six fungal strains (referenced and pathogens).

Fumaria officinalis provides an alkaloid levels of about 1.32%, evaluation of the antimicrobial effect shows has a low concentration, these alkaloids has no effect on microorganisms on solid medium, as against liquid medium some activity was found about a gram positive bacteria. But on the other hand to a higher concentration of up to 25mg / ml, inhibition of the culture of bacteria and fungi was obtained on both solid and liquid media. What has led to the conclusion that the most effective extract FA, Followed by AT. Then last FN and FB who gave very low activity with MICs ranging from 0.097 and 0.781.

Keywords: antibacterial activity , antifungal activity , alkaloids, *Fumaria officinalis* , extraction.

الملخص:

دراستنا تركز في المقام الأول على استخراج الالكالويدات من الجزء العلوي من النبتة الطبية *Fumaria officinalis* ، باستخدام طريقة استخراج الصلبة والسائلة مع الكحول. توفر *Fumaria officinalis* 1.32 ٪ من الالكالويدات.

ثانيا تم تقييم نشاط هذه الالكالويدات كمضادات للميكروبات، بأسلوبين مختلفين بالانتشار على سطح الجلوز وعلى الوسط السائل؛ وهذا ضد سبعة أنواع من البكتيريا وستة سلالات فطرية أظهرت النتائج نسبة تأثير منخفضة في الوسط السائل ومنعدمة على سطح الجلوز وهذا بالتركيز المنخفض اما بالتركيز العالي 25 مغ / مل تم الحصول على تثبيط البكتيريا والفطريات في الوسط السائل والصلب FA هي الأكثر فعالية تليها AT تم الحصول على نسبة التثبيط المنخفضة تتراوح ما بين 0.097 مغ / مل و 0.781 مغ / مل.

كلمات أساسية: المضاد الحيوي، لالكالويدات، *Fumaria officinalis*، مضاد الفطريات، استخراج.