



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي

Université Echahid Hamma Lakhdar - El Oued

كلية علوم الطبيعة والحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département de biologie Cellulaire et Moléculaire

## MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Sciences  
biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

### THEME

Etude phytochimique et biologique des alcaloïdes de  
l'*Astragalus gombo* Bunge dans la région d'Oued Souf

Présentés Par :

M<sup>elle</sup>: Bouhamed Ikram

M<sup>elle</sup> : Houamdi Sara

M<sup>elle</sup> : Soltani Hadjer

Devant le jury composé de :

Président : SAADI Hamza

M.A.A

Université d'El Oued

Examineur : CHOUIKH Atef

Pr

Université d'El Oued

Promoteur : TLILI Mohammed Laid

M.C.A

Université d'El Oued

- Année universitaire 2022/2023-

# REMERCIEMENTS

Nous remercions Dieu, le tout puissant de nous avoir accordé santé et courage pour accomplir ce modeste travail. Nous remercions sincèrement monsieur TLILI Mohammed Laid docteur à la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie pour l'honneurs qu'il nous fait en acceptant d'encadrer ce travail et pour la confiance qu'il nous accordée.

Nous remercions également messieurs SAADI Hamza et CHOUIKH Atef docteurs à la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'Université Echahid Hamma Lakhdar EI-OUED, d'avoir accepté de présider le jury de ce travail.

Nous tenons aussi à exprimer notre gratitude et nos remerciements à toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

Nous adressons nos remerciements et nos reconnaissances à tous les enseignants, les personnels de l'université Echahid Hamma Lakhdar -El OUED, qu'ils trouvent ici l'expression de nos profonds respects et grande considération.

Enfin nous remercions nos proches. Merci à nos parents sans qui tout cela n'aurait été possible. Merci de nous avoir permis d'aller aussi loin dans nos études et de nous avoir soutenu et supporté tout au long de ces années.

# Dédicace

*Je dédie ce modeste travail :*

*Aux personnes les plus chères au monde : Mon père Tayeb et ma mère Maïssa , qui donnent le meilleur d'eux pour me voir réussir, vous êtes la lumière de mes yeux. Je vous souhaite une longue et heureuse vie.*

*A mon unique adorable frère « Mounir »*

*A ma soeur chérie « Manel »*

*pour leurs amour et soutien et encouragements, que dieu vous protège pour moi.*

*A mon fiancé « Lalmi »*

*qui me transmet de l'énergie positive, et qui me motive pour donner le meilleur de moi même. que dieu te garde pour moi. A ma chère amie « Asma »*

*Pour votre fidèle amitié et vos encouragements constants*

*A mes amies : «Khouloud , Intissar , Djoumana ,Ichrak »*

*pour les moments passés ensemble tout au long de mes études et en dehors.*

*A mon binôme « Ikram »*

*J'ai partagé avec elle les joies et les difficultés au suivi de notre travail.*

*A toute ma famille et mes amies*

*Enfin, à tous ceux qui savent donner sans recevoir et qui aident sans retour.*

**Sara**

# Dédicace

*Avec mes sentiments de respect, avec l'expérience de ma reconnaissance, je dédie ma remis de diplôme et ma joie*

*A mon paradis, à la prunelle de mes yeux, à la source de ma joie et mon bonheur, ma lune et le fil d'espoir qui allumer mon chemin, ma moitié, maman.*

*A celui qui m'a fait une femme, ma source de vie, d'amour et d'affection à mon support qui était toujours à mes cotés pour me soutenir et m'encourager, papa.*

*A mon frère Mahmoud pour l'amour qu'il me réserve.*

*A mes sœurs adorées Yakin, Aroua et Omnia, vous êtes ma source de joie et de bonheur , et je suis fière de vous avoir dans ma vie.*

*A mes très chère amies Asma, Sara et ma chère tante Hanine qui ont été mes piliers dans les moments difficiles et mes partenaires de fête dans les moments de joie, merci pour votre amitié sincère, votre soutien sans faille et votre amour inconditionnel.*

*Au-delà des noms cites, il existe des personnes qui ont joue un rôle significatif dans mon parcours, je vous exprime ma reconnaissante pour votre présence et votre soutien qui ont marqué positivement ma vie. Mes amis d'école «Hadil, saida, Intissar, Djoumana et Ichrak»*

*A tous les membres de ma grande famille, mes grands-parents, mes tantes et mes oncles.*

*A tout ce qui ont participé à ma réussite et a tout qui m'aiment.*

***Ikram***

# Dédicace

*Je dédie ce modeste travail:*

*A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie ma mère qui ma  
Apporté son appui durant toutes mes années d'étude, pour son sacrifice et soutien  
qui M'ont donné confiance, courage et sécurité.*

*A mon cher père qui ma appris le sens de la persévérance tout au long de mes études,  
Pour son sacrifice ses conseils et ses encouragements.*

*A mes très chers frères et sœurs*

*Et à mes amis : Sara , Ikram , Romysaa , Esraa, Elham , Sara , Wisam, Imane , Rawaa  
, Seham , Romysaa*

*Un grand merci au Dr F.Mehdid et Dr B.Ailam qui ont suivi mon cas, qui ont été la  
meilleure aide pour moi.*

***Hadjer***

## Résumé

Ce travail est porté sur l'étude des alcaloïdes des feuilles de *A.gombo* suivi évaluation in vitro des activités antioxydant et antibactérienne de ces composés.

Dans ce travail on a utilisé deux méthodes d'extraction des alcaloïdes par l'utilisation d'une solution soniquée contenant un tensioactif (SDS) comme agent d'extraction, et par un appareil Soxhlet a été utilisé pour l'extraction par solvant organique, Le solvant utilisé était l'acétate d'éthyle. Ces techniques permettent d'obtenir un rendement de l'ordre de 1,38 % et 5,23 % respectivement.

L'évaluation de l'effet antioxydant de ces extraits par le piégeage du radical libre DPPH a donné les valeurs des IC50 de  $9,60 \pm 0,38$  mg/ml pour l'extrait par Soxhlet et  $32,18 \pm 0,50$  mg/ml pour l'extrait par E.A.U. En parallèle, l'étude de FRAP montre que le concentration efficace a absorbance 0.5 de l'extrait par E.A.U égal  $A_{0,5}$ :  $7,33 \pm 0,19$  mg/ml et pour l'extrait par Soxhlet  $A_{0,5} = 6,77 \pm 0,02$  mg/ml.

L'évaluation de l'activité antibactérienne montre que l'extrait de feuilles d'*Astragalus gombo* par E.A.U possèdent une activité remarquable contre les trois souches étudiées. Les résultats ont été estimés en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition autour des disques qui a été estimé  $25 \pm 0,66$  mm contre *E. coli*, pour *S. aureus* est  $20,6 \pm 1,11$  mm et la zone d'inhibition de *P. aeruginosa* est  $20 \pm 1,33$  mm. Par contre concernant l'extrait de feuilles d'*Astragalus gombo* par Soxhlet nous n'avons observé aucun diamètre de la zone d'inhibition.

Mots clés: *Astragalus gombo*, alcaloïdes, activité antioxydante, activité antibactérienne, Soxhlet , E.A.U.

## ملخص

يهدف هذا العمل الى دراسة قلويدات أوراق هذه النبتة متبوعة بالتقييم المختبري للأنشطة المضادة للأكسدة والبكتيريا لهذه المركبات.

استخدمنا في هذا العمل طريقتين لاستخراج قلويدات عن طريق استخدام محلول صوتني يحتوي على مادة خافضة للتوتر السطحي (SDS) كعامل استخلاص , و بواسطة جهاز Soxhlet تم استخدامه للاستخراج بواسطة مذيب عضوي , وكان المذيب المستخدم هو أسيتات الإيثيل. تتيح هذه التقنيات الحصول على عائد بنسبة 1,83 % و 5,23 % على التوالي.

أعطى تقييم التأثير المضاد للأكسدة لهذه المستخلصات عن طريق محاصرة الجذور الحرة DPPH قيم IC50 من 0,38 ± 9,60 مجم / مل لمستخلص Soxhlet و 9.39 ± 32,18 مجم / مل لمستخلص بواسطة E.A.U. بالتوازي, أظهرت دراسة FRAP أن التركيز الفعال له امتصاص 0.5 من المستخلص بواسطة E.A.U يساوي 7.33 ± A<sub>0,5</sub>: 0.19 مجم / مل والمستخلص بواسطة Soxhlet هو 6.77 ± 0.02 A<sub>0,5</sub>.

أظهر تقييم النشاط المضاد للبكتيريا أن مستخلص أوراق فولة الإبل المتحصل عليه بطريقة E.A.U له نشاط ملحوظ ضد السلالات الثلاثة المدروسة. تم تقدير النتائج من خلال قياس قطر منطقة التثبيط حول الأقراص والتي قدرت بـ 0,66 ± 25 مم ضد *E.coli* , بالنسبة لـ *S.aureus* هي 1,11 ± 20,6 مم , *P.aeruginosa* هي 1,33 ± 20 ملم. من ناحية أخرى , فيما يتعلق بمستخلص أوراق فولة الإبل المتحصل عليه بواسطة Soxhlet, لم نلاحظ أي تثبيط. الكلمات المفتاحية: فولة الإبل , القلويدات, نشاط مضاد للأكسدة, نشاط مضاد للبكتيريا, Soxhlet, E.A.U.

## Abstract

This work focused on the study of the alkaloids of *A. gombo* leaves followed by in vitro evaluation of the antioxidant and antibacterial activities of these compounds.

In this work we used two methods of extraction of alkaloids by the use of a sonicated solution containing a surfactant (SDS) as an extraction agent, and by a Soxhlet apparatus was used for the extraction by organic solvent, The solvent used was ethyl acetate. These techniques make it possible to obtain a yield of the order of 1.38% and 5.23% respectively.

Evaluation of the antioxidant effect of these extracts by trapping the free radical DPPH gave IC<sub>50</sub> values of  $9.60 \pm 0.38$  mg/ml for the extract by Soxhlet and  $32.18 \pm 0.50$  mg /ml for the extract by E.A.U In parallel, the FRAP study shows that the effective concentration has absorbance 0.5 of the extract by E.A.U. equal to A<sub>0.5</sub>:  $7.33 \pm 0.19$  mg/ml and for the extract by Soxhlet A<sub>0.5</sub>:  $6.77 \pm 0.02$ mg/ml.

The evaluation of the antibacterial activity shows that the extract of *Astragalus gombo* leaves by E.A.U. possess a remarkable activity against the three strains studied. The results were estimated by measuring the diameter of the zone of inhibition around the discs which was estimated to be  $25 \pm 0.66$  mm against *E.coli*, for *S.aureus* is  $20.6 \pm 1.11$  mm and the inhibition zone of *P. aeruginosa* is  $20 \pm 1.33$  mm. On the other hand, concerning the extract of *Astragalus gombo* leaves by Soxhlet, we did not observe any diameter of the zone of inhibition.

Key words: *Astragalus gombo*, alkaloids, antioxidant activity, antibacterial activity, Soxhlet, E.A.U.

## Liste des Figures

Figure 1: Classification des alcaloïdes sur la base de cycle hétérocyclique et aminoacide .....	7
Figure 2: Quelques espèces et quelques gousses de plantes du genre <i>Astragalus</i> présentes en Algérie. ....	16
Figure 3: La situation géographique de la zone d'étude (El Oued). ....	17
Figure 4: Photo originale de la plante <i>Astragalus Gombo</i> 31/1/2023. ....	23
Figure 5 : Diagramme d'E.A.U des alcaloïdes par solution tensioactifs ( <b>Djilani <i>et al.</i>, 2006</b> ). ....	25
Figure 6: Diagramme d'extraction des alcaloïdes par Soxhlet. ....	26
Figure 7: Résultats des IC50 du radical DPPH.....	33
Figure 8: Résultats des A <sub>0,5</sub> du radical FRAP .....	34

## Liste des tableaux

Tableau 1: Structure de quelques alcaloïdes ( <b>Jaber, 2017</b> )	7
Tableau 2: Les matériels non biologiques utilisées	22
Tableau 3: : Les diamètres des zones des différentes souches (en mm)	36

## Sommaire

### Remerciements

### Dédicace

### Liste des photos

### Liste des tableaux

### Liste des figures

### Introduction générale

#### Chapitre I :

#### Généralité sur les alcaloïdes

I. Généralité .....	5
I.1. Définition des Alcaloïdes .....	5
I.2. Classification des alcaloïdes.....	6
I.2.1. Vrais alcaloïdes .....	6
I.2.2. Proto alcaloïdes .....	6
I.2.3. Pseudo alcaloïdes .....	6
I.3. Propriétés pharmacologique .....	8
I.4. Localisation et distribution les alcaloïdes .....	8
I.5. Rôle des alcaloïdes dans les plantes .....	9
I.6. Méthodes d'extraction des alcaloïdes .....	10
I.7. Purification et l'isolement des alcaloïdes .....	12

#### Chapitre II :

#### Généralité sur *Astragalus gombo* Bunge

II. Généralité sur <i>Astragalus gombo</i> Bunge .....	15
II.1. Présentation du genre <i>Astragalus</i> .....	15
II.2. Description morphologique d'espèce .....	15
II.3. Position systématique .....	16
II.4. Répartition géographique .....	17

II.5. Utilisation générale des Astragales .....	17
II.6. Composition de l' <i>Astragalus gombo</i> dans des études précédentes .....	18
II.7. Toxicité d'Astragalus .....	19
II.7.1. Astragalus toxiques .....	19
II.7.2. Astragalus non toxiques .....	19

## Partie Pratique

### *Matériel et Méthodes*

I.1. Matériel .....	22
I.1.1. Matériel non Biologiques .....	22
I.1.2. Matériel Biologique.....	22
I.1.2.1. Matériel végétale .....	23
I.1.2.2. Matériels bactérienne .....	23
II.2. Méthodes .....	24
II.2.1. Extraction des alcaloïdes.....	24
II.2.1.1. Extraction des alcaloïdes par ultrason .....	24
II.2.1.2. Extraction des alcaloïdes par Soxhlet .....	25
II.2.2. Évaluation des activités biologiques .....	27
II.2.2.1. Activité antioxydante .....	27
II.2.2.1.1. Teste de piégeage de radical DPPH .....	27
II.2.2.1.2. Pouvoir réducteur du fer (FRAP) .....	28
II.2.2.2. Évaluation des activités antibactériennes .....	28
II.3. Analyse statistique .....	30

### Résultats et Discussion

III.1. Rendement d'extraction .....	32
III.2.1. Extractions des alcaloïdes par Soxhlet .....	32
III.1.2. Extractions des alcaloïdes par E.A.U .....	32
III.2. Évaluation des activités biologiques .....	32

III.2.1. Test de l'activité antioxydante .....	32
III.2.1.1. Activité antioxydante (Test de piégeage du radical DPPH) .....	32
III.2.1.2. FRAP .....	34
III.2.2. Évaluation de l'activité antibactérienne .....	35
Conclusion générale .....	39
Références .....	41

## List des abréviations

***A.gombo*** *Astragalus gombo*

**A<sub>0.5</sub>** : Concentration efficace a absorbance 0.5

**Abs** : Absorbance

**CHCl<sub>3</sub>** : Chloroforme

**CI50** : Concentration inhibitrice médiane

**Cip** : Ciprofloxacine

**DMSO**: Diméthylsulfoxyde

**DPPH** : 1, 1-diphényl-2-picrylhydrazyl

***E. coli*** : Escherichia coli

**E.A.U.** : Extraction assistée par ultrasons

**Fe<sup>+2</sup>** : fer ferreux

**Fe<sup>+3</sup>** : fer ferrique

**FeCl<sub>3</sub>** : Chlorure ferrique

**FRAP** : Pouvoir réducteur du fer

**H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** : Acide sulfurique

**K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>** : Ferricyanure de potassium

**LPWG** : The Legume Phylogeny Working Group

**m** : Masse

**MH** : Muller Hinton

**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>** : Carbonate de sodium

**NH<sub>4</sub>OH** : Ammoniac

***P. aeruginosa*** : *Pseudomonas aeruginosa*

**PEN** : Pénicilline

***S.aureus*** : *Staphylococcus aureus*

**SDS** : Dodécylsulfate de sodium

# **Introduction générale**

## Introduction

Plus de 80% de la population mondiale dépend uniquement des plantes médicinales pour leurs besoins de soins de santé primaires. Il a été prouvé que certaines de ces herbes procurent un soulagement symptomatique et aident à prévenir la complication secondaire des maladies, tandis que d'autres aident à la régénération des cellules anormales et à vaincre les agents pathogènes causant des maladies (**Nyamai *et al.*, 2016**). Les plantes sélectionnées à des fins médicinales depuis des milliers d'années constituent le choix le plus évident pour examiner la recherche actuelle de nouveaux médicaments thérapeutiquement efficaces tels que les médicaments anticancéreux, les médicaments antimicrobiens, les composés antihépatotoxiques (**Yadav et Agarwala., 2011**). De plus, ces substances naturelles sont facilement disponibles, bon marché et n'entraînent pas d'effets secondaires indésirables généralement associés aux drogues synthétiques (**Nyamai *et al.*, 2016**).

Le genre *Astragalus* est l'un des plus grands genres de la famille des Fabacées et est représenté par plus de 2500 espèces. Les plantes d'astragale sont des herbes à tige annuelles ou vivaces ou de petits arbustes, poussant à partir de racines souterraines. En général, les espèces d'astragale sont cosmopolites, réparties dans les régions continentales fraîches, tempérées, arides et semi-arides de l'Asie du Sud-Ouest, de la région Sino-Himalaya, de l'Amérique du Nord et du Sud, de l'Europe, de l'Afrique du Nord et de l'Australie. Ces plantes inestimables sont largement utilisées comme nourriture, fourrage, médicament, combustible et comme plantes ornementales dans différentes pratiques ethnobotaniques à travers le monde (**Kurt-Celep *et al.*, 2021**).

Les plantes sont des organismes autotrophes et servent à la fois une source majeure et ultime de nourriture pour les animaux et les microorganismes. Parmi les métabolites secondaires produits par les plantes, les alcaloïdes.

Les alcaloïdes constituent l'une des classes les plus larges de produits naturels, étant synthétisés pratiquement par tous les embranchements d'organismes marins et terrestres, à n'importe quel stade de l'évolution (**Fattorusso et Tagliatela ., 2007**). Sont liés que par la présence d'un atome d'azote dans un cycle hétérocyclique. On estime que les plantes produisent environ 12 000 alcaloïdes différents, qui peuvent être organisés en groupes en fonction de leurs structures squelettiques carbonées (**Ziegler et Facchini., 2008**).

L'extraordinaire variété (et souvent la complexité) des structures alcaloïdes et propriétés biologiques ont longtemps intrigué les chimistes des produits naturels (pour la structure détermination et études biosynthétiques), chimistes analytiques et biosynthétiques chimistes.

Les toxicologues, les pharmacologues et les sociétés pharmaceutiques ont utilisé et continuera certainement à utiliser les alcaloïdes comme outils biologiques et/ou comme plombs composés pour le développement de nouveaux médicaments (**Fattorusso et Tagliatela ., 2007**).

L'objectif de la présente étude est d'identifier et fournir des nouvelles connaissances au sujet de l'*Astragalus gombo* Bunge et l'étude des alcaloïdes de cette plante ainsi que sur l'évaluation des activités antioxydantes et antibactériennes des extraits préparés.

La présente étude s'articule autour de quatre chapitres

Dont la première est consacrée à une synthèse bibliographique qui décrit un aperçu général sur les Alcaloïdes. Un rappel de leurs structures, à leur classification ainsi que leurs propriétés biologiques. Et enfin, des quelques méthodes d'extraction des alcaloïdes.

Le second chapitre à propos des caractéristiques et taxonomiques et l'utilisation générale des plantes appartenant au genre *Astragalus* et notamment à l'espèce *Astragalus gombo* Bunge ont été décrites. Les propriétés thérapeutiques de cette plante.

Le troisième chapitre décrit les matériels et les méthodes utilisées dans ce travail. Et consacré à l'évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits de la plante étudiée.

Dans le dernier chapitre, nous présenterons les résultats obtenus, leur discussion et leur conclusion.

# **Chapitre I :**

## Généralité sur les alcaloïdes

## I. Généralité

Les produits naturels sont des composés organiques formés par des systèmes vivants. L'élucidation de leurs structures et de leur chimie, synthèse et biosynthèse sont des domaines majeurs de la chimie organique. Les composés naturels peuvent être divisés en trois grandes catégories. Premièrement, il y a ces composés qui se produisent dans toutes les cellules et jouent un rôle central dans le métabolisme et la reproduction de ces cellules. Ces composés comprennent les acides nucléiques et les acides aminés et sucres courants. Ils sont appelés métabolites primaires. Deuxièmement, il y a les matériaux polymères de haut poids moléculaire tels que la cellulose, les lignines et les protéines qui forment les structures cellulaires. Enfin, il y a les composés qui sont caractéristiques d'une gamme limitée d'espèces. Ce sont les métabolites secondaires. La plupart des métabolites primaires exercent leur effet biologique dans la cellule ou l'organisme responsable de leur production. Les métabolites secondaires, d'autre part, ont souvent suscité l'intérêt en raison de leur effet biologique sur d'autres organismes. Ces composés comprennent les polycétides et acides gras et les terpénoïdes et stéroïdes, phénylpropanoïdes, alcaloïdes, acides aminés et peptides spécialisés, glucides spécialisés (**Hanson, 2003**).

### I.1. Définition des Alcaloïdes

Les alcaloïdes forment une grande famille hétérogène de métabolites secondaires (**Guignard et al., 1985**), présents dans environ 20 % des espèces végétales, ils sont un groupe diversifié de composés azotés de faible poids moléculaire dérivés principalement d'acides aminés (**Ziegler et Facchini, 2008**), il n'existe pas de définition simple et précise des alcaloïdes et il est parfois difficile de situer les frontières qui séparent les alcaloïdes et les autres métabolites azotés d'origine naturelle. Cependant, **Bruneton (1999)** définit un alcaloïde comme « un composé organique hétérocyclique d'origine naturelle (le plus souvent végétale), azoté, plus ou moins basique, de distribution restreinte et doué à faible dose de propriétés pharmacologiques marquées » (**Jaber, 2017**), dont le goût est amer (**Guignard et al., 1985**). Les alcaloïdes sont censés jouer un rôle défensif contre les herbivores et les agents pathogènes. En raison de leur puissante activité biologique, bon nombre des quelque 12000 alcaloïdes connus ont été exploités comme produits pharmaceutiques, stimulants, narcotiques et poisons. Contrairement à la plupart des autres types de métabolites secondaires, les nombreuses classes d'alcaloïdes ont des origines biosynthétiques uniques (**Ziegler et Facchini, 2008**). Leur synthèse a lieu au niveau du réticulum endoplasmique, puis se

concentrent dans la vacuole (**Guignard *et al.*, 1985**). À ce jour, si l'origine végétale est prépondérante, plus de 27683 alcaloïdes différents ont été isolés à partir de sources végétales, animales ainsi qu'à partir de micro-organismes (**Jaber, 2017**).

## I.2. Classification des alcaloïdes

Ces composés peuvent être classés comme alcaloïdes vrais, proto alcaloïdes ou pseudo alcaloïdes selon la classification d'**Hegnauer, 1988**.

### I.2.1. Vrais alcaloïdes

Les vrais alcaloïdes dérivent d'acides aminés et partagent un cycle hétérocyclique avec l'azote (Tableau 1). Ces alcaloïdes sont des substances hautement réactives avec une activité biologique même à faible dose. Tous les vrais alcaloïdes ont un goût amer et se présentent sous la forme d'un solide blanc, à l'exception de la nicotine qui a un liquide brun. Les vrais alcaloïdes forment des sels solubles dans l'eau. De plus, la plupart d'entre eux sont des substances cristallines bien définies qui s'unissent aux acides pour former des sels. Les vrais alcaloïdes peuvent être présents dans les plantes à l'état libre, sous forme de sels et de N oxydes. Ces alcaloïdes sont présents dans un nombre limité d'espèces et de familles (**Tadeusz, 2007**). (Ex : nicotine du tabac, Tableau 1)

### I.2.2. Proto alcaloïdes

Les proto alcaloïdes sont des amines simples, dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique. Ils dérivent d'acides aminés et sont souvent appelés « amines biologiques » (Tableau 1). Ils ont un caractère basique et sont solubles dans l'eau (**Badiaga, 2012**) (Ex :coniine de la ciguë, Tableau 1)

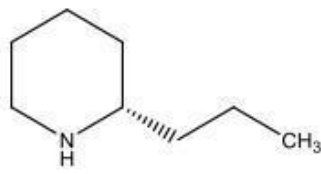
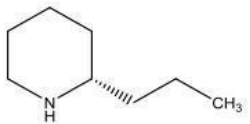
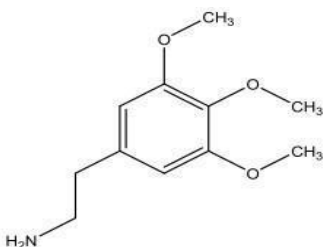
### I.2.3. Pseudo alcaloïdes

Les pseudo alcaloïdes sont des composés dont les squelettes carbonés de base ne sont pas dérivés d'acides aminés (Tableau 1). En réalité, les pseudo alcaloïdes sont liés aux voies des acides aminés. Ils sont dérivés des précurseurs ou postcurseurs (dérivés du processus de dégradation) des acides aminés. Ils peuvent également résulter des réactions d'amination et de transamination des différentes voies liées aux précurseurs ou postcurseurs d'acides aminés.

Ces alcaloïdes peuvent également être dérivés de précurseurs non acides aminés. L'atome N est inséré dans la molécule à un stade relativement tardif (**Tadeusz, 2007**), Les

alcaloïdes stéroïdaux et les purines sont les représentants principaux de cette classe d'alcaloïdes (Milcent , 2022). (Ex : mescaline de peyotl, Tableau 1)

Tableau 1: Structure de quelques alcaloïdes (Jaber, 2017)

Classe	Exemple	Structure
Vrai alcaloïdes	nicotine du tabac	
Proto alcaloïdes	coniine de la ciguë	
Pseudo alcaloïdes	mescaline de peyotl	

Le diagramme (Figure 1) expliquant les types d'alcaloïdes.

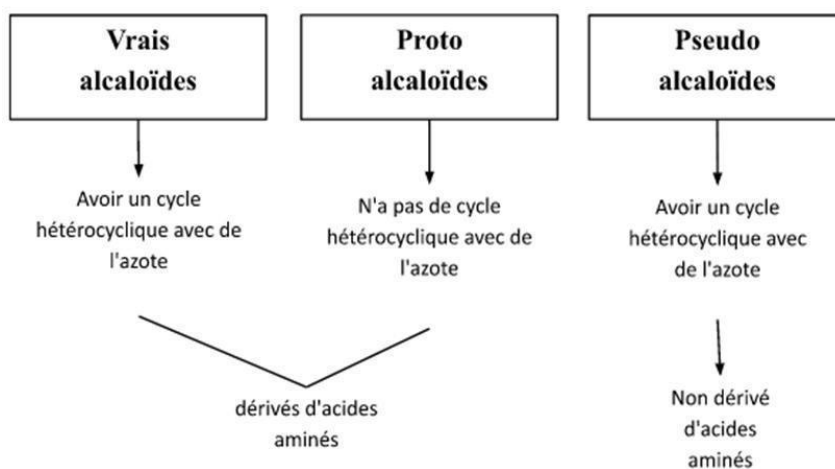


Figure 1: Classification des alcaloïdes sur la base de cycle hétérocyclique et aminoacide (Srivastava et Srivastava., 2013))

### I.3. Propriétés pharmacologique

- Au niveau du système nerveux central, qu'ils soient déprimeurs (morphine, scopolamine) ou stimulants (strychnine, caféine) (**Bouchehou *et al.*, 2005**).
- Au niveau du système nerveux autonome: sympathomimétique (éphédrine) ou sympatholytique (yohimbine, certains alcaloïdes de l'ergot de seigle) anticholinergiques (atropine, hyosyamine) ganglioplégiques (spartine, nicotine) (**Bouchehou *et al.*, 2005**).
- Les alcaloïdes sont, la plupart du temps, des substances d'une énergie puissante et peuvent devenir, dans certaines circonstances, des poisons redoutables (**Dupuy, 1889**).
- Des tests sur des animaux ont montré que les alcaloïdes exerçaient des effets analgésiques et anti-inflammatoires. A dose létale, les alcaloïdes provoquaient de violentes convulsions cloniques entraînant une insuffisance respiratoire (**Rujjinawate *et al.*, 2003**).
- L'évaluation de l'activité antipaludique a montré que certains types d'alcaloïdes ont une activité antipaludique légère contre *Plasmodium falciparum*. Une bis-indole alcaloïde (fascaplysine) dérivée d'une éponge a présenté un large éventail de bioactivités, notamment une activité antibactérienne, antifongique, antivirale, antiVIH-1-RTase, une inhibition de la tyrosine kinase p56, une activité antipaludique, anti-angiogénique et antiproliférative contre de nombreuses lignées cellulaires cancéreuses, inhibition spécifique de la kinase 4 cyclindépendante et action comme intercalateur d'ADN (**Khan *et al.*, 2013**).

### I.4. Localisation et distribution les alcaloïdes

Dans le passé, la principale source d'alcaloïdes était les plantes à fleurs, les angiospermes, dont environ 20 % contenaient ces constituants.

Ces dernières années, un nombre croissant d'exemples d'alcaloïdes proviennent d'animaux, d'insectes, d'organismes marins, de micro-organismes et de plantes inférieures. Des alcaloïdes d'animaux terrestres tels que (la mus copyridine et la castoramine.....etc ) ont été enregistrés. Les amphibiens présentent un intérêt particulier car une diversité remarquable d'alcaloïdes toxiques ou nocifs se trouve dans la peau ou dans les exsudats cutanés. Les arthropodes, en particulier les insectes, sont une autre source d'alcaloïdes intéressants qui agissent comme attractifs ou phéromones et agents défensifs. Les organismes marins (algues et invertébrés marins) ont produit une grande diversité d'alcaloïdes; Il a également été

découvert que des micro-organismes contiennent des alcaloïdes, par exemple les alcaloïdes (la pyocyanine et la chanoclavine-I.....etc).

Les alcaloïdes ont une distribution restreinte dans les plantes, les espèces microbiennes et animales et là où ces constituants sont présents, chaque organisme a sa propre génétique **(Roberts, 2013)**.

Les alcaloïdes chez les végétaux sont souvent localisés dans les tissus périphériques (assises externes des écorces de tiges et de racines, téguments des racines...etc.). Ils sont stockés dans des vacuoles cellulaires, Leurs synthèse se fait souvent dans des sites précis : racines en croissance, cellules spécialisées de laticifères, chloroplastes, avant d'être transportés dans leurs sites de stockage **(Singla et al., 2010)**.

### **1.5. Rôle des alcaloïdes dans les plantes**

- Les alcaloïdes sont apparemment importants pour le bien-être de l'organisme qui les produit. L'une des principales fonctions est celle de la défense chimique contre les herbivores ou les prédateurs. Certains alcaloïdes sont antibactériens, antifongiques et antiviraux ; et ces propriétés peuvent s'étendre à la toxicité envers les animaux **(Fattorusso et Tagliatela, 2008)**.
- Les alcaloïdes peuvent également être utilisés par les plantes comme herbicides contre les plantes concurrentes **(Fattorusso et Tagliatela, 2008)**.
- Les alcaloïdes renforcent la compétitivité des espèces végétales envahissantes en inhibant la croissance des plantes voisines (ce phénomène est connu sous le nom d'allélopathie). L'allélopathie des plantes cultivées peut aider à éloigner les mauvaises herbes. Certains auteurs suggèrent que les effets allélopathiques peuvent également contribuer à promouvoir des changements dans la densité, la dominance et les modèles spatiaux des populations végétales. Ainsi, les plantes allélopathiques peuvent avoir un rôle différentiel dans la coexistence des espèces et dans la succession forestière **(Goyal, 2013)**.
- Certains d'entre eux confèrent une protection contre les herbivores et inhibent la multiplication des bactéries, des champignons et des virus **(Goyal, 2013)**.
- Les alcaloïdes jouent les rôles les plus importants : produit d'excrétion du métabolisme azoté, substance de réserve, régulateurs de croissance. Ils ont des effets bénéfiques sur la plante synthétisante dont ils régulent la croissance et le métabolisme

interne végétaux, ils désintoxiquent et transforment les substances nocives au végétal, ils protègent la plante contre les rayons UV (Tlili, 2021).

### I.6. Méthodes d'extraction des alcaloïdes

En raison de la valeur élevée des alcaloïdes, des recherches mondiales ont tenté de trouver de nouvelles méthodes d'extraction et d'estimation de ces composés (Roy, 2017).

L'extraction des alcaloïdes dans la présente enquête commence par la collecte et une série d'opérations de conditionnement de la drogue végétale telles que : lavage, séchage, broyage ; puis nous procédons à l'obtention de l'extrait alcaloïde brut par trois procédés d'extraction différents:

- Extraction avec des solvants non miscibles à l'eau (Insoluble).
- Extraction avec des solvants miscibles à l'eau (soluble).
- Extraction à l'eau acidifiée (Rivas, 2006).
- Extraction par substance tensioactif (Djilani *et al.*, 2006).

Une fois que nous avons suffisamment d'échantillons de plantes sèches et broyées (feuilles), nous procédons à l'extraction des alcaloïdes dans la partie de la plante étudiée (Rivas, 2006).

#### I.6.1. L'extraction en milieu alcalin

Pour extraire les alcaloïdes des feuilles d'une plante, la matière doit être dégraissée et pulvérisée pour avoir une plus grande surface de contact. La matière dégraissée et pulvérisée est mélangée avec une solution à 5% de  $\text{NH}_4\text{OH}$  à parts égales, laissée au repos pendant 4 heures et la première fraction d'alcaloïdes est libérée avec un solvant organique apolaire ou de polarité moyenne. Cette première fraction contiendra des impuretés telles que des pigments, stérols, acides gras, entre autres composés, donc les alcaloïdes sont séparés des impuretés en ajoutant un acide minéral dilué, formant deux couches qui peuvent être décantées : la solution organique exempte d'alcaloïdes et la solution aqueuse, qui contient des alcaloïdes. La solution est de nouveau rendue alcaline et extraite avec un solvant non polaire ; la phase organique est séparée par décantation et l'on obtient les alcaloïdes totaux qui peuvent être concentrés sous pression réduite (Arturo, 2017).

### **I.6.2. L'extraction en milieu acide**

Comme l'extraction en milieu alcalin, dans cette extraction il faut dégraisser les feuilles et les pulvériser au préalable. Les alcaloïdes à l'état naturel étant sous forme de sels, leur extraction dans de l'eau acidifiée, de l'alcool ou des solutions hydroalcooliques acidifiées est utile. Le matériel végétal est mélangé avec une quantité égale en volume d'éthanol à 70% et une macération chimique est effectuée à 40°C. Après concentration de l'extrait, il est rendu alcalin avec 5% d'ammoniac et extrait avec un solvant organique de polarité moyenne, où l'on distingue deux phases : la phase aqueuse contient les alcaloïdes sous forme de sels solubles, la phase organique contient des impuretés telles que stéroïdes ou acides gras. La phase aqueuse est à nouveau alcalinisée avec une deuxième portion d'ammoniaque à 5% et un solvant organique apolaire est ajouté. Les impuretés se retrouvent dans la phase alcaline tandis que les alcaloïdes de base sont présents dans la phase organique (**Arturo, 2017**).

Les procédés qui aboutissent à une concentration à l'équilibre sont la macération et les procédés qui épuisent complètement la drogue végétale est l'extraction continue. Ci-dessous, nous décrirons brièvement de ces processus:

### **I.6.3. Macération**

C'est une technique d'extraction dans laquelle le matériel végétal est mis en contact avec le solvant d'extraction, à température ambiante et pendant une longue durée. Les substances solubles passent par simple diffusion et l'extraction est réalisée jusqu'au moment où la concentration des substances solubles est la même dans le solvant d'extraction que dans la matière végétale. La macération est le moyen le plus simple de préparer des extraits et peut être effectuée à plusieurs reprises pour obtenir un meilleur épuisement des substances solubles contenues dans la matière végétale. Son inconvénient est la longue durée, parfois des jours ou des semaines (**Zirena, 2014**).

### **I.6.4. Extraction continue**

Dans ce procédé le solvant circule constamment au contact de la drogue, seul le solvant est en mouvement, tandis que la drogue végétale reste statique. L'équipement utilisé pour ce type d'extraction est le Soxhlet.

### **I.6.5. Extraction à l'eau acidifiée.**

Dans ce procédé, des solutions aqueuses d'acides inorganiques, tels que sulfurique, phosphorique, chlorhydrique, sont utilisées comme solvants. En utilisant des solutions

aqueuses d'acides inorganiques dans l'extraction, ils extraient de la plante toutes les substances solubles dans l'eau, telles que : l'amidon, les saponines et les protéines. Dans la présente étude, la solution d'acide chlorhydrique à 1 % est choisie comme solvant dans ce procédé, car cet acide est plus accessible à l'acquisition que les autres acides mentionnés. L'échantillon végétal sec et broyé est macéré dans la solution aqueuse acide et ensuite porté à ébullition pendant une courte période, puis il est filtré à l'aide d'un filtre lent, obtenant ainsi l'extrait végétal. Cet extrait végétal obtenu est ensuite alcalinisé à l'hydroxyde d'ammonium jusqu'à un PH de 9,5, puis procède à l'extraction liquide-liquide au chloroforme à l'aide d'une poire brome pour la séparation des phases. La phase organique obtenue lors de la séparation (chloroforme) est appelée extrait alcaloïdale brut.

D'autres méthodes importantes utilisées pour l'extraction des alcaloïdes sont la méthode assistée par ultrasons, la méthode assistée par micro-ondes, la méthode d'extraction du dioxyde de carbone supercritique pour l'extraction des alcaloïdes (Roy, 2017).

Cet extrait alcaloïde brut obtenu doit ensuite être analysé pour vérifier la présence d'alcaloïdes (Rivas, 2006).

#### **I.6.6. Extraction assistée par ultrasons**

a été recommandé comme l'un des systèmes d'extraction existants les moins chers, les plus efficaces et les plus simples et pourrait être utilisé de manière appropriée et rapide pour les préparations à grande échelle. L'application des ultrasons aide à développer des méthodologies intéressantes et nouvelles qui peuvent accélérer le transfert de chaleur et de masse (Ilghami *et al.*, 2015).

Les ondes ultrasonores interagissent avec le matériel végétal et modifient ses propriétés physiques et chimiques. Les E.A.U pourraient également fonctionner à température modérée, ce qui convient aux composés thermosensibles. De plus, leur effet cavitationnel facilite la libération des composés extractibles et améliore le transport de masse en perturbant les parois cellulaires végétales (Ilghami *et al.*, 2015).

#### **I.7. Purification et l'isolement des alcaloïdes**

La purification principes actifs peuvent être réalisés par des méthodes physico-chimiques non chromatographiques ou par des méthodes chromatographiques.

- a. Méthodes physico-chimiques non chromatographiques : elles comprennent toute une série d'opérations telles que la sédimentation, la décantation, la centrifugation, la filtration, la précipitation sélective, la cristallisation, la séparation, etc.
- b. Méthodes chromatographiques : consistent en la séparation des composants d'un mélange en raison de la vitesse différente d'élucidation à travers une phase stationnaire (un solide poreux ou un liquide retenu sur un support solide) (**Avendaño et Sangama, 2017**).

**Chapitre II : Généralité**  
**sur *Astragalus gombo***  
**Bunge**

## II. Généralité sur *Astragalus gombo* Bunge

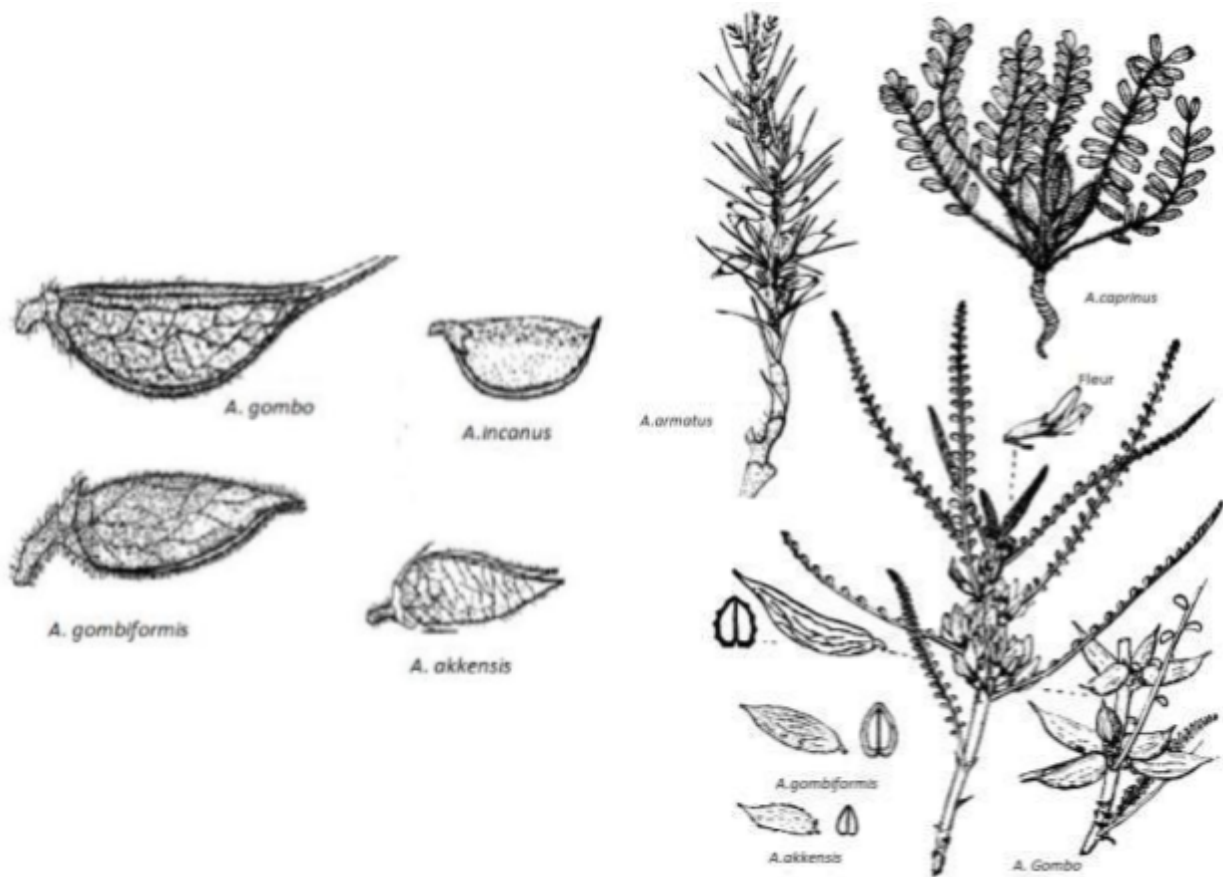
Le genre *Astragalus* est le genre le plus important chez les plantes à fleurs (**Watrous et Cane, 2011**). Le plus grand genre de la famille des Fabaceae (les légumineuses) et probablement le plus grand genre de plantes à fleurs avec plus de 3000 espèces, comprend plus de 1500 espèces réparties en Orient et en Afrique du Nord (**Ozenda, 1991**). Ce sont des herbes annuelles et vivaces ou de petits arbustes. Plusieurs espèces d'*Astragalus* sont connues pour leurs propriétés biologiques et sont utilisées comme médicament à base de plantes en médecine traditionnelle. D'un point de vue chimique, les principes biologiquement actifs des espèces d'astragale sont constitués de saponines, de polysaccharides et de composés phénoliques, tandis que les composés toxiques comprennent des alcaloïdes imidazolines, des nitrotoxines et dérivés du sélénium (**Montoro et al., 2013**). Il est caractérisé par son fort taux de diversification morphologique et sa large répartition géographique (**Zarre et Azani, 2013**).

### II.1. Présentation du genre *Astragalus*

Selon **Quezel et Santa (1962)**, les plantes de ce genre présentent en général les caractéristiques suivantes: un calice tubuleux en cloche, à 5 dents subégales ou très inégales. Pétales généralement longuement onguiculés. Étendard dressé. Carène égalant environ les ailes. Etamines diadelphes, à gaine fendue au sommet. Ovaire pluriovulé à ovules sur 2 rangs. Gousse de forme variée, rarement uniloculaire, généralement à 2 loges plus ou moins complètes par introflexion de l'une des sutures, déhiscente ou indéhiscente. Feuilles imparipennées en général, stipulées.

### II.2. Description morphologique d'espèce

L'espèce *Astragalus gombo* est une plante vigoureuse et basse à port chamaephytique dont les bourgeons se situent près du sol, de 10 à 50 cm de haut, aux tiges dressées, tomenteuses (cotonneuses) recouvertes de poils épais blancs. Elles sont du couleur claire, pourvues de très longues feuilles aux nombreuses petites folioles (Figure 2). Les pétioles, deviennent coriaces et piquant à l'extrémité en perdant leur foliole. Fleur petite jaunes, de 12 à 15 mm ;en grappe axillaires denses; gousse à bec court, et ne portant pas de fortes nervures à sa surface. Gousse à parois épaisses, spongieuses, à consistance de moelle de sureau, couverte de poils courts et laineux (**Ozenda, 2004**). Elle est très résistante à la sécheresse (**Chehema, 2006**).



**Figure 2 : Quelques espèces et quelques gousses de plantes du genre *Astragalus* présentes en Algérie (Ozenda, 2004).**

### II.3. Position systématique

La classification phylogénétique, établi par (The Legume Phylogeny Working Group) définit la position systématique d'*Astragalus gombo* Bunge (Hughes et LPWG, 2017).

- **Règne:** Plantae
- **Embranchement:** Spermatophyta
- **Sous embranchement:** Angiospermae
- **Classe:** Eudicotyledonae
- **Sous-classe:** Rosidae
- **Ordre:** Fabidées
- **Sous-ordre:** Fabales
- **Famille:** Fabaceae (Leguminosae)
- **Genre:** *Astragalus*
- **Espèce:** *Astragalus gombo*

#### II.4. Répartition géographique

Le genre *Astragalus* est réparti partout dans le monde mais majoritairement dans l'hémisphère Nord du globe terrestre (James *et al.*, 1980), surtout dans les pays du bassin méditerranéen ont été décrites en Afrique du Nord et aussi dans Sahara Algéro-Marocain (Ozenda, 1958).

S'étend le désert du Sahara, qui occupe plus de 2 millions de km<sup>2</sup>, ou près de 85 % de la superficie de l'Algérie (Chehema, 2011). Le Sahara compte environ 500 espèces de plantes spontanées, dont une partie reste utilisée par la population comme plantes d'intérêts médicinales (Bouallala *et al.*, 2014). La Figure 3 montre la zone d'où la plante a été prise.



Figure 3: La situation géographique de la zone d'étude (El Oued) (DPAT, 2007).

#### II.5. Utilisation générale des Astragales

- Certaines espèces d'*astragale* sont utilisées comme fourrage pour le bétail et les animaux sauvages (Rios et Waterman, 1997).
- Au Tunisie, certaines espèces sont traditionnellement utilisées pour soigner les morsures de serpents et de scorpions (Neffati *et al.*, 2017).
- Possèdent des activités antioxydantes et antibactériennes intéressantes, pourrait être un candidat comme source de composés antibactériens et antioxydants (Teyeb *et al.*, 2011).

- En médecine traditionnelle chinoise, l'Astragale est considérée comme l'une des herbes les plus importantes pour le traitement des néphrites, du diabète, du cancer de l'utérus et de la leucémie. En outre, il est fréquemment utilisé comme aide culinaire (soupes, thés). Les études d'extraits de différentes espèces d'*Astragalus* ont montré une large variété d'activités biologiques permettant de les qualifier d'agents anti-inflammatoires diurétique, antidiabétique, hépatoprotecteur, neuroprotecteur, analgésique, un immunomodulateur, expectorant et protecteur du tractus gastro-intestinal (**Chouana, 2017**), et utilisées comme plantes médicinales dans la médecine populaire comme cardiovasculaire, antihypertenseur, cholérétique (**Lysiuk et Darmohray, 2016**). Tandis que d'autres sont toxiques et, dans de nombreux cas, les principes toxiques peuvent être transmis à l'homme par le lait et la viande (**Rios et al., 1997**).
- La médecine traditionnelle africaine est probablement la plus ancienne et la plus diversifiée de tous les systèmes de médecine connus. Dans le désert Algérien cette plante est utilisée traditionnellement pour le traitement de blessures et de problèmes d'estomac, de la fièvre et de la constipation (**Chouana et al., 2017**).
- Dans la médecine traditionnelle chinoise est souvent utilisé comme herbe revigorante pour le qi. On pense qu'il exerce une fonction en revigorant la rate et les poumons, en améliorant la fonction de la rate avec une application clinique étendue et de longue date (**Chen et al., 2022**).

#### II.6. Composition de l'*Astragalus gombo* dans des études précédentes

Le genre *Astragalus* apparaît très homogène d'un point de vue chimique, avec deux types de principes pharmacologiquement actifs et trois types différents de composés toxiques. Dans le premier groupe se distinguent les polysaccharides et les saponines, et dans le second, les alcaloïdes indolizidiniques (swainsonine et son dérivé N-oxyde, et lentiginosine), les composés nitrés endécaphyllines (dérivés de l'acide nitropropionique-glucose) et les 3nitropropylglucosides et les dérivés sélénifères (sélénocystéine, -cystathionine, -cystine et méthionine). Il existe d'autres composés intéressants, tels que les flavonoïdes (flavonols, flavones, isoflavones et flavylions) sous formes libres et glycosidiques ; ptérocarpanes libres et sous forme de glucosides ; et les dérivés d'acides organiques (acides homopilosinique et phaseique) (**Rios et Waterman, 1997**).

Spécifiquement, Les constituants actifs d'espèce *A. gombo* déclarés comprennent les polysaccharides (et notamment les galactomannanes), les saponines, les acides aminés, les flavonoïdes, les isoflavonoïdes, les alcaloïdes, les oligo-éléments, les astragalosides et les terpènes (Chouana, 2017), et l'étude réalisée par Benferdia *et al.*, (2021) a permis d'isoler les Glycosides, Quinones, Coumarins, Polyphénols.

## II.7. Toxicité d'Astragalus

Les espèces du genre *Astragalus* sont partagées entre espèces toxiques et espèces non toxiques (Bourezane, 2018).

### II.7.1. Astragalus toxiques

Les espèces vénéneuses d'astragale peuvent être classées en trois groupes généraux, selon les toxines et leurs effets sur les animaux :

- a. Espèces qui synthétisent des composés nitrés aliphatiques
- b. Espèces causant l'empoisonnement des loco weeds
- c. Espèces qui peuvent accumuler du sélénium (Rios et Waterman, 1997).

Sur la base des troubles neurologiques qu'ils provoquent chez les animaux. Deux types différents de composés azotés toxiques ont été décrits dans le genre *Astragalus* : les alcaloïdes indolizidine tels que la swainsonine et les composés nitrés tels que les dérivés acide nitropropionique-glucose; les plantes qui causent l'empoisonnement aux locoweeds contiennent de la swainsonine. Parmi les effets toxicologiques décrits pour la swainsonine figurent l'induction de la maladie de haute montagne chez les animaux qui paissent à haute altitude. Autant que nous le sachions, la plupart des études phytochimiques qui ont isolé des alcaloïdes ont été réalisées sur des espèces d'astragale récoltées à des altitudes relativement basses (Echeverría *et al.*, 2017).

### II.7.2. Astragalus non toxiques

*Astragale sp.* attirent beaucoup l'attention de la communauté scientifique sur leur capacité cytotoxique. Des études récentes sur différentes espèces ont révélé que le genre possède une puissante activité antitumorale pertinente au potentiel cytotoxique. Une telle activité élevée d'*Astragalus sp.* sont généralement attribués à leur riche teneur en saponines,

puisque les saponines ou les extraits riches en saponines se sont avérés posséder une activité cytotoxique élevée.

Étant donné que le genre *Astragalus* est connu pour contenir de tels composés au potentiel cytotoxique, des études concernant leur effet possible sur les lignées cancéreuses sont vraiment nécessaires.

- Un extrait de saponine purifiée d'*A. gombo* a montré un potentiel antiprolifératif contre une variété de lignées cellulaires cancéreuses humaines, tandis qu'une autre étude a souligné qu' *A. glycyphyllos* diminuait la viabilité cellulaire des cellules tumorales de Graff.
- *A. angustifolious*, *A. compylosema* et '*A. hirsutus* s'est avéré induire un effet cytotoxique sur les lignées cellulaires HeLa. Alors que l'extrait de fleur d'*A. compylosema* avait l'effet cytotoxique le plus élevé (**Kurt-Celep *et al.*, 2021**).

**Partie Pratique**  
**Chapitre I :**

*Matériel et Méthodes*

## I.1. Matériel

Nous avons utilisé deux types de Matériels : matériel non biologiques et matériel biologiques

### I.1.1. Matériel non Biologiques

Les matériels sont présentés dans le tableau suivant :

*Tableau 2: Les matériels non biologiques utilisées*

Verreries et appareillage	Milieux et culture	Produits chimiques
<ul style="list-style-type: none"> <li>● Entonnoir</li> <li>● Erlenmeyer</li> <li>● Béchers</li> <li>● Fiole</li> <li>● Flacons</li> <li>● Papiers filtre</li> <li>● Spatul</li> <li>● Ampoule à décantation</li> <li>● Boîtes de pétri</li> <li>● Les disk stériles</li> <li>● Micropipettes</li> <li>● Spectrométrie UV-Visible</li> <li>● Soxhlet</li> <li>● Bain marie</li> <li>● Plaque chauffante</li> <li>● Etuve 37°C-25°C</li> <li>● Pipettes gradué</li> <li>● Pipettes pasteur</li> <li>● Tubes à essai</li> <li>● PH mètre</li> <li>● Rotavapeur</li> <li>● Bain ultrasons</li> <li>● Autoclave</li> <li>● Seringue</li> <li>● Balances électroniques (mg.g)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Gélose nutritive</li> <li>● Gélose (MH) Mueller Hinton.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Eau distillée</li> <li>● Chloroforme</li> <li>● Acide sulfurique</li> <li>● Réactif de Mayer</li> <li>● Carbonate de Sodium</li> <li>● SDS</li> <li>● Acétate d'éthyle</li> <li>● DMSO</li> <li>● Acide ascorbique</li> <li>● DPPH</li> <li>● Méthanol</li> </ul>

### I.1.2. Matériel Biologique

Dans notre étude, nous avons utilisé deux types de matériel : végétale et bactérienne

### I.1.2.1. Matériel végétale

La plante que nous avons sélectionnée pour ce travail est l'*Astragalus gombo* (fabaceae), la partie végétale choisie est les feuilles, a été récolté de la région d'El Oued (sud de l'Algérie) exactement Hassi khalifa (Sahn barri). Les feuilles sont séchées à température ambiante puis finement broyées à l'aide d'un moulin à café. Cette plante est représentée traditionnellement un remède de plusieurs affections dans la région susmentionnée, nous avons donc décidé d'étudier ses propriétés chimiques (Figure 4)



*Figure 4: Photo originale de la plante Astragalus gombo 31/1/2023.*

### I.1.2.2. Matériels bactérienne

Les bactéries utilisées dans notre étude Constitué de trois souches sont fournies par l'Institut Pasteur et sont présentées dans le tableau N° 3

*Tableau 3: Profil des bactéries testées.*

Souches	Références	Gram
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	+

## II.2. Méthodes

### II.2.1. Extraction des alcaloïdes

On a utilisé deux méthodes d'extraction : extraction par ultrason (E.A.U.) et par Soxhlet.

#### II.2.1.1. Extraction des alcaloïdes par ultrason

Nous avons choisi la méthode de **Djilani *et al.*, (2006)**. Cette méthode d'extraction de produits naturels par des substances tensioactives, cette technique est la plus développée par rapport aux méthodes existantes, rapide, plus efficace et consomme moins de solvant.

##### a. Principe d'extraction des alcaloïdes par l'E.A.U.

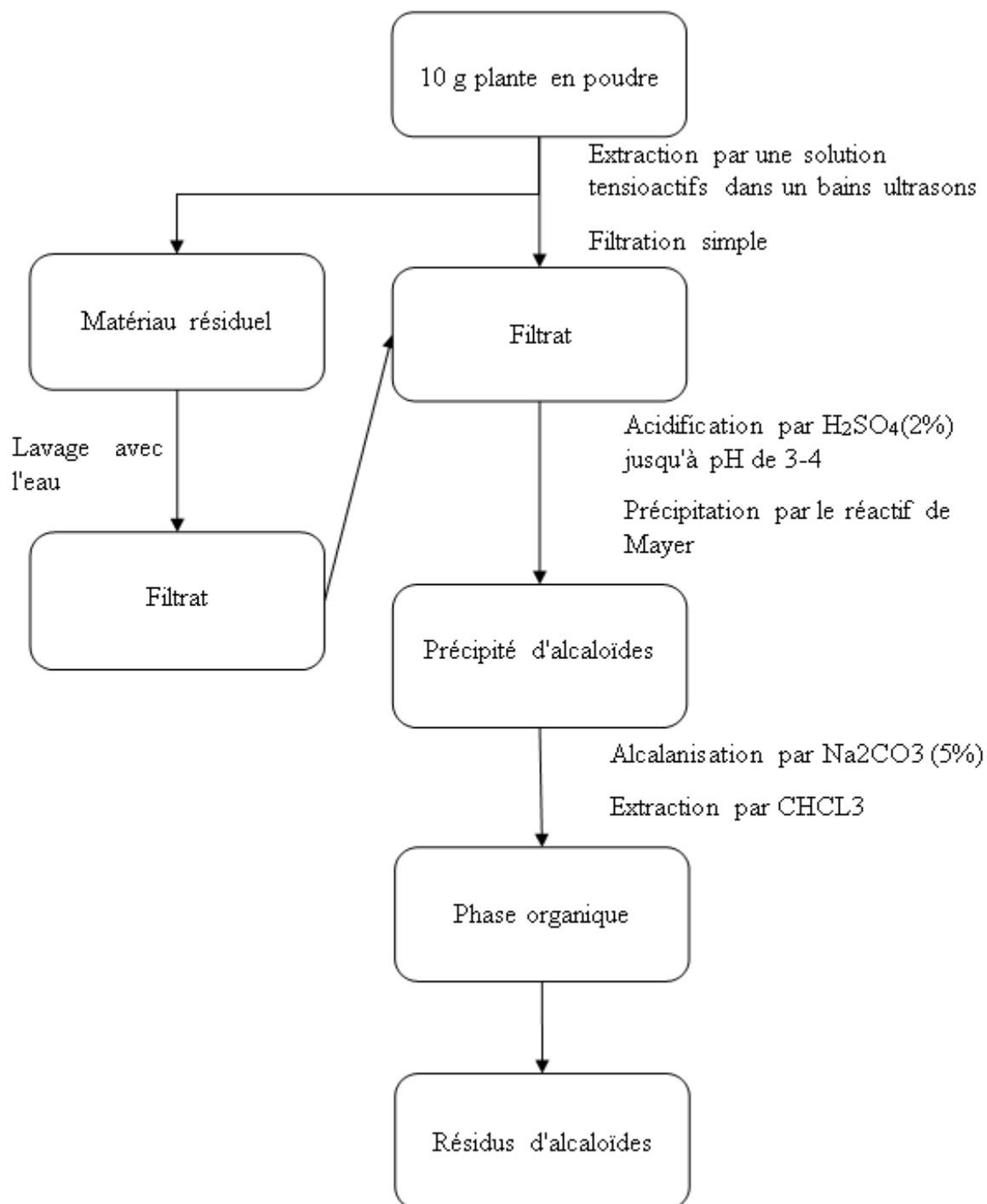
Cette méthode basée sur la combinant des ultrasons avec des solvants tensioactifs, où les propriétés de mouillage, de dispersions, de solubilisation et d'émulsification réduisent le solvant et le temps nécessaire à l'extraction des alcaloïdes provenant de produits naturels (**Djilani *et al.*, 2006**).

##### b. Protocol d'extraction des alcaloïdes par l'E.A.U.

Un échantillon de 10 g de matériau de plante en poudre a été mis en suspension dans 400 ml de solution de tensioactifs [l'agent tensioactif peut être anionique (SDS: dodécylsulfate de sodium)] dans un bécher à verre et sonorisée de 2,5 h dans un bain à ultrasons à une température constante de 25°C.

L'extrait a été séparé par une simple filtration et le matériau résiduel lavé avec 20 ml d'eau pure. La solution de filtrats combinés a été acidifiée avec une solution d'acide sulfurique (2%, m/m) à pH 3-4 et les alcaloïdes ont été précipités avec 15 ml de réactif de Mayer.

Le précipité a été dissous dans une solution alcaline de carbonate de sodium (5%, m/m) et extrait avec CHCl<sub>3</sub> dans l'ampoule à décantation. La couche organique a été séché (Figure 5) (**Djilani *et al.*, 2006**).



*Figure 5 : Diagramme d'E.A.U des alcaloïdes par solution tensioactifs (Djilani et al., 2006).*

### II.2.1.2. Extraction des alcaloïdes par Soxhlet

Cette méthode est très appréciée car elle permet de faire des extractions en continu et d'obtenir un bon rendement, tout en restant simple et relativement peu coûteuse. Cependant,

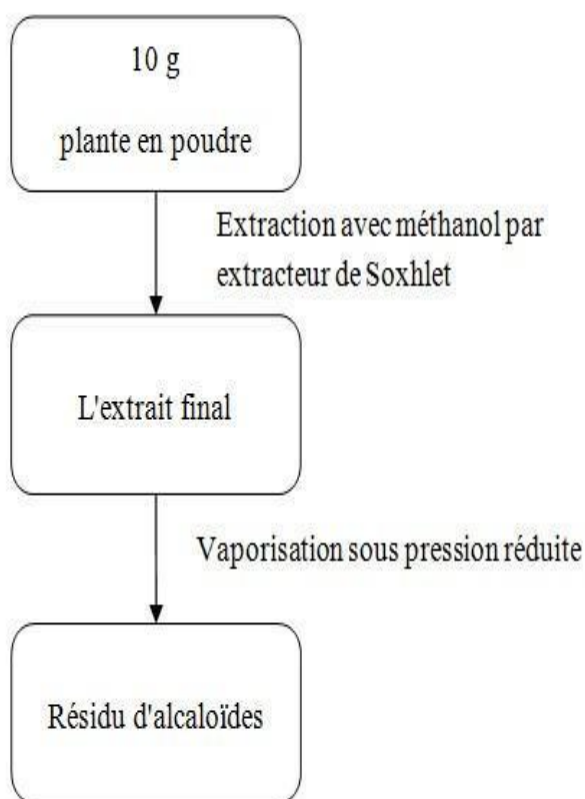
les manipulations séquentielles, les longs temps d'extraction et le travail à des températures d'ébullition peuvent constituer des inconvénients (**Al-Bandak et Oreopoulou., 2007**).

a. Principe d'extraction des alcaloïdes par Soxhlet

L'extracteur est placé au-dessus d'un ballon contenant le solvant d'extraction. Le solvant est chauffé à ébullition. Les vapeurs ainsi produites passent par la cartouche contenant le matériel végétal à extraire. Le réfrigérant placé au-dessus du dispositif servira à condenser les vapeurs du solvant. Au fin des cycles, le solvant s'enrichit en substances extraites jusqu'à épuisement de l'échantillon en substance active (**Grigonis et al., 2005**).

b. Protocole d'extraction des alcaloïdes par Soxhlet

L'extraction a été entreprise avec 10 g de plante en poudre et 300 ml d'acétate d'éthyle dans un appareil de Soxhlet pendant 5 h (**Djilani et al., 2006**). L'extrait final a été évaporé sous pression réduite (Figure 6)



**Figure 6: Diagramme d'extraction des alcaloïdes par Soxhlet.**

## II.2.2. Evaluation des activités biologiques

Nous l'avons utilisées pour étudier l'activité de notre plante les trois tests suivants: Antioxydant et Antibactérienne.

### II.2.2.1. Activité antioxydante

Pour mesurer la capacité antioxydante, on a deux méthodes DPPH, FRAP.

#### II.2.2.1.1. Teste de piégeage de radical DPPH

Le pouvoir antioxydante peut être mesurée en utilisant des radicaux libres plus stables. Le radical 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) est un radical libre très stable à l'état cristallin et en solution, de coloration violette. Par cette méthode, on considère que l'activité antioxydante n'est autre que la capacité des antioxydants d'agir comme piégeur des radicaux libres. Ils agissent en transférant un atome d'hydrogène ce qui conduit à la disparition du DPPH au cours de la réaction et à un changement de coloration dans la solution initiale (**Hellah, 2011**). Son activité est mesurée à l'aide d'un appareil de spectrométrie UV-Visible à 517 nm.

##### a. Préparation de déluions d'extrait

Des dilutions dans méthanol va préparer à partir de l'extrait brute (solution mère 10 mg/ml) pour différentes concentrations de 10 mg/ml, 7.5 mg/ml, 5 mg/ml, 2.5 mg/ml et 1 mg/ml.

##### b. Protocol de teste de DPPH

Le protocole utilisé au laboratoire est basé sur celui décrit par **Bouhamdi, (2012)**. Nous avons préparé une solution de DPPH (0.024 mg/ml) par solubilisation de 2.4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol.

Les concentrations des extraits dans le milieu réactionnel sont comprises entre 0 et 12,5 mg/ml. Alors que pour l'antioxydant standard (Acide ascorbique) est comprises entre 0 et 0,1 mg/ml.

50µl de différentes concentrations de l'extrait ou de Acide ascorbique, mélangé avec 1.950 ml de solution de DPPH. Les tubes control contiennent à la place de l'extrait 50µl de méthanol et 1.950 ml de la solution méthanolique du DPPH fraîchement préparée. Le mélange est laissé à l'obscurité à la température ambiante pendant 30 minutes et mesurée à 517 nm.

## c. Expression des résultats

L'activité antiradicalaire est estimée selon l'équation suivante :

$$\text{Activité antiradicalaire \%} = [(\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}) / \text{Abs contrôle}] \times 100$$

Les résultats de test de piégeage de radical DPPH est exprimé en terme  $IC_{50}$  (Concentration de l'extrait nécessaire pour réduire 50% la concentration initiale du radical DPPH).

### II.2.2.1.2. Pouvoir réducteur du fer (FRAP)

Le pouvoir réducteur d'un composé est lié à sa capacité de transfert d'électrons et peut servir d'indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle. Dans ce test, la couleur jaune de la solution d'essai passe au vert et au bleu en fonction du pouvoir réducteur de l'échantillon d'essai. Une plus grande absorbance à 700 nm, indique un plus grand pouvoir réducteur (**Končić et al., 2010**).

## a. Préparation de dilutions d'extrait

Des dilutions dans méthanol va préparer à partir de l'extrait brute (solution mère 10 mg/ml) pour différentes concentrations de 10 mg/ml, 7.5 mg/ml, 5 mg/ml, 2.5 mg/ml, 1 mg/ml.

## b. Protocol de teste de FRAP

Le pouvoir réducteur ferrique des extraits d'*Astragalus gombo* a été dosé selon la méthode d'**Oyaizu (1986)**. 500µl des extraits ont été ajoutés à 1,25 ml de phosphate tampon (0,2 M, pH 6,6) et 1,25 ml de ferricyanure de potassium (1%). Les mélanges ont été incubés à 50 °C pendant 20 min, et puis 1,25 ml d'une solution d'acide trichloracétique (10 %) ont été ajoutés. Le mélange (1,25 ml) a été combiné avec 1,25 ml d'eau distillée eau et 0,25 ml de  $FeCl_3$  (1%). L'absorbance a été enregistrée à 700 nm (**Benmeddour et al., 2013**).

$A_{0,5}$ : Concentration de l'extrait nécessaire pour obtenir absorbance 0.5.

### II.2.2.2. Evaluation des activités antibactériennes

Nous avons fait ce test dans le laboratoire microbiologique de l'Université Echahid Hamma Lakhdar El Oued. L'évaluation des activités antibactérienne a été réalisée par la méthode de diffusion en gélose dite méthode de diffusion sur disques (**Ben abdallah et al., 2019**).

### a. Préparation de milieu de culture

Dans notre travail nous avons utilisé comme milieux de culture les suivants :

- Pour le développement et la croissance des bactéries, nous avons utilisé le milieu gélose nutritive en surfusion dans des boîtes de Pétri à raison de 15 ml par boîte de 90 mm de diamètre. On laisse refroidir et solidifier sur la paillasse.
- Pour l'étude de la sensibilité et de l'activité biologique, nous avons utilisé le milieu gélose Muller Hinton en surfusion dans des boîtes de Pétri à raison de 15 ml par boîte de 90 mm de diamètre. On laisse refroidir et solidifier sur la paillasse (Hellah, 2011).

### b. Préparation des disques

Nous avons utilisé des papiers Wattman leur diamètre est 6 mm, Nous l'avons stérilisé (dans l'autoclave pendant 30 min à 120 °C) (Rahim *et al.*, 2015 avec de légères modifications).

### c. Préparation les culture et l'ensemencement

- **Gel nutritif** : On prélève une quantité de bactéries en grattant à l'aide d'une anse stérile, après On le dissout dans 2 ml d'eau physiologique jusqu'à ce que la couleur de la suspension change. Bien mélanger le contenu du tube (bouillon ou culture en suspension), en suite placer une anse de bouillon de culture sur la surface d'une boîte de gélose (rayez légèrement l'inoculum, ne pas déterrer la gélose) sous forme de lignes convergeant dans la première partie de la boîte, puis les lignes divergent dans la deuxième partie. Laisser sécher les boîtes pendant 15 à 20 min. Après nous l'avons incubé pendant 24 h à 37°C.
- **Gel Muller Hinton** : Nous répétons le processus de préparation de la suspension comme mentionné précédemment. Par contre dans l'ensemencement on a appliqué le contenu du tube uniformément dans le surface de gélose

### d. Dépôt des disque et incubation

2 disques imbibés de 10 µl de les extraits, 1 disque imbibés de 10 µl de DMSO, 2 disques d'antibiotique de référence (pénicilline, ciprofloxacine).

Ces derniers sont déposés à la surface de la gélose Muller Hinton.

Après incuber pendant 24 h à 37°C.

### e. Lecture des résultats

L'effet du produit antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'une règle en (mm) et en fonction du diamètre d'inhibition. La souche sera qualifiée de sensible, très sensible, extrêmement sensible ou résistante.

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8mm.
- Sensible (+) : diamètre compris entre 9 à 14 mm.
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm.
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20 mm (**Hellah, 2011**).

### II.3. Analyse statistique

La représentation graphique des données a été réalisée grâce au logiciel Excel 2007. Le résultat obtenu est la moyenne de trois répétitions dans tous les tests, les résultats ont été présentés par la moyenne avec son écart type.

#### Le Rendement d'extraction

Le Rendement d'extraction des alcaloïdes d'*A. gombo*, est calculé selon l'équation suivante:

$$\text{Rendement d'extraction \%} = [\text{m de l'extrait (g)} / \text{m de la poudre sèche de la plante (g)}] \times 100$$

# **Conclusion générale**

## Conclusion

Aujourd'hui, les scientifiques ont prouvé qu'il existe un grand nombre de plantes médicinales qui ont des propriétés biologiques très importantes et qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines, à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et l'agriculture.

Certains médicaments chimiques provoquent des symptômes ou des effets secondaires pour leurs utilisateurs, qui se tournent vers des traitements moins agressifs pour l'organisme.

L'objectif de ce travail est l'extraction des alcaloïdes de d'espèce végétale (*Astragalus gombo*: feuilles), par deux méthodes différentes (par soxhlet et par E.A.U), et étudié l'activité antioxydante in vitro par la méthode de DPPH et par la méthode de FRAP et l'activité antibactérienne vis-à-vis trois souches bactériennes.

L'extraction des alcaloïdes par soxhlet a donné un rendement plus important que l'extraction par E.A.U.

L'évaluation de pouvoir antioxydant qui a été réalisée en utilisant la méthode de DPPH et la méthode de réduction du fer FRAP, a montré que les extraits des alcaloïdes ont un pouvoir antioxydant relativement modéré.

L'évaluation de l'activité antibactérienne a été effectuée sur trois souches bactériennes par la méthode de diffusion sur disque. Les résultats obtenus indiquent que l'extrait d'alcaloïdes des feuilles d'*Astragalus gombo* par E.A.U, ayant une bonne et fort pouvoir inhibitrices vis à vis les souches testées, contrairement à l'extrait par soxhlet qui était nul.

Ces résultats nous sont confirmés que *Astragalus gombo* est une plante médicinale qui élabore une importance non négligeable en médecine. En effet, elle possède de nombreuses propriétés thérapeutiques. Aussi on peut dire que cette plante possède une activité antioxydant modéré, et peut être utilisée comme une source d'agents antibactérienne qui ouvre des perspectives intéressantes.

## Références

### A

**Al-Bandak, G., & Oreopoulou, V. (2007).** Antioxidant properties and composition of Majorana syriaca extracts. *European Journal of Lipid science and technology*, 109(3), 247-255.

**Allouni, R. (2018).** *Etude de la toxicité des alcaloïdes totaux des graines de Datura stramonium L. sur les animaux de laboratoire* (Doctoral dissertation).

**Aniszewski, T. (2007).** *Alkaloids-Secrets of Life:: Alkaloid Chemistry, Biological Significance, Applications and Ecological Role*. Elsevier.

**Arturo, L. (2017).** *Estudio químico de los alcaloides presentes en las hojas de yerbamora (Solanum nigrum L.), originaria de los municipios de Pasto y Chachagüi* (Doctoral dissertation, Universidad de Nariño).

**Avendaño Pezo, O. O., & Sangama Córdova, M.** Aislamiento e identificación de alcaloides de la corteza del tronco y corteza de la raíz de remo caspi *Aspidosperma camporum* (Müll. Arg.) utilizado como antiparasitario.

### B

**Badiaga, M. (2011).** *Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de Nauclea latifolia Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali* (Doctoral dissertation, Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II).

**Bellebcir, L., Abidli, N., Nasri, M., Khorchani, T., Mabrouk, M., Zouari, N., & Hajji, M. (2022).** Phytochemical, Biological and Pharmacological Investigation in Various Extracts from *Astragalus gombo* Coss & Dur L. Ex-Bunge. *South Asian Journal of Experimental Biology*, 12(1), 94-107.

**Ben Abdallah, R., Frikha, D., Maalej S. et Sassi S. (2019)** Evaluation in vitro de l'activité antibactérienne et antifongique de quatre espèces algales marines J.I. M. Sfax, N°31; Février ; 38 – 44

**Benchaita, H. (2014).** *Etude de l'activité biologique des extraits polysaccharidiques issus l'Astragalus gombo récoltée au Sahara septentrional Est algérien* (Doctoral dissertation, UNIVERSITE KASDI MERBAH-OUARGLA-).

**Benferdia, S., Rahmani, Z., Belfar, A., Cherbi, R., Messaoudi, A., & Saïdi, M. (2021).** Phytochemical composition and antioxidant activity of Algerian *Astragalus gombo* stems. *Bulgarian Chemical Communications*, 307.

**Benmeddour, Z., Mehinagic, E., Le Meurlay, D., & Louaileche, H. (2013).** Phenolic composition and antioxidant capacities of ten Algerian date (*Phoenix dactylifera* L.) cultivars: a comparative study. *Journal of Functional Foods*, 5(1), 346-354.: A comparative study. *Journal of functional foods*, pp 1- 9.

**Bouallala, M., Bradai, L., & Abid, M. (2014).** Diversité et utilisation des plantes spontanées du Sahara septentrional algérien dans la pharmacopée saharienne. Cas de la région du Souf. *Revue ElWahat pour les Recherches et les Etudes*, 7(2), 18-26.

**Bouchehou, L., Hafsi, L., Bousba, F., & Boudjerda, D. E. (2005).** *Etude de l'activité antibactérienne des alcaloïdes extraits de la plante Hyoscyamus albus* (Doctoral dissertation, Université de Jijel).

**Bouhamdi, A. (2012).** *Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des feuilles de Pergularia tomentosa L. de la région d'Adrar* (Doctoral dissertation).

**Bourezane, M. (2018).** Beam and Truss Element for Non-Linear Geometric Analysis. In *International Journal of Engineering Research in Africa* (Vol. 35, pp. 145-161). Trans Tech Publications Ltd.

**Bruneton, J. (1999):** "Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales", 3ème Edition, Lavoisier, Paris, Care, 1988, 11, 63-66. chemistry, technology, and uses. *Mol. Nutr. Food Res*, 2005, 49, 175-194.

## C

**Chehma, A. (2011).** Le Sahara en Algérie, situation et défis. Séminaire L effet du Changement Climatique sur l'élevage et la gestion durable des parcours dans les zones arides et semi-arides du Maghreb. Du 21 au 24 Novembre 2011.

**Chehma, A. 2006** Catalogue des plantes spontanées du Sahara septentrional algérien.

**Chen, X., Liang, X., Kong, X., Ji, M., Naeem, A., Li, C., ... & Liao, Z. (2022).** Effect and molecular mechanism research of *Astragalus membranaceus* on inhibiting intestinal absorption of six alkaloids of *Aconitum carmichaelii* in spleen deficiency rats. *Chinese Herbal Medicines*, 14(1), 117-124.

**Chouana, T. (2017).** *Caractérisation structurale et activités biologiques des polysaccharides d'Astragalus gombo bunge* (Doctoral dissertation, Université Clermont Auvergne(2017 -2020)).

**Chouana, T., Pierre, G., Vial, C., Gardarin, C., Wadouachi, A., Cailleu, D., ... & Delattre, C. (2017).** Structural characterization and rheological properties of a galactomannan from *Astragalus gombo* Bunge seeds harvested in Algerian Sahara. *Carbohydrate polymers*, 175, 387-394.

## D

**Delattre, C., Pierre, G., Petera, B., Chouana, T., Boual, Z., Gardarin, C., ... & Michaud, P. (2017, November).** De l'histoire de l'ethnobotanique en Afrique vers la découverte de nouvelles sources de polysaccharides actifs. In Séminaire International POLYSAC 2017.

**Djilani, A., Legseir, B., Soulimani, R., Dicko, A., & Younos, C. (2006).** New extraction technique for alkaloids. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 17, 518-520.

**Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., & Ju, Y. H. (2014).** Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of food and drug analysis*, 22(3), 296-302.

**DPAT. (2007).** Direction de la planification et de l'aménagement du territoire d'El Oued. Annuaire Statistique de la Wilaya d'El Oued, p:119.

**Dupuy, B. G. (1889).** *Alcaloïdes: histoire, propriétés chimiques et physiques, extraction, action physiologiques, effets thérapeutiques, toxicologie, observations, usages en médecine, formules, etc* (Vol. 1). Rongier.

## E

**Echeverría, J., Espinoza, S. M., & Niemeyer, H. M. (2017).** Unusual alkaloids of the highland species *Astragalus cryptanthus* Wedd.(Fabaceae). *Natural Product Research*, 31(1), 89-92.

## F

**Fattorusso, E., & Taglialatela-Scafati, O. (Eds.). (2007).** *Modern alkaloids: structure, isolation, synthesis, and biology*. John Wiley & Sons.

## G

**Goyal, S. (2013).** Ecological role of alkaloids. *Natural products: phytochemistry, botany and metabolism of alkaloids, phenolics and terpenes*, 149-171.

**Grigonis, D., Venskutonis, P. R., Sivik, B., Sandahl, M., & Eskilsson, C. S. (2005).** Comparison of different extraction techniques for isolation of antioxidants from sweet grass (*Hierochloa odorata*). *The Journal of supercritical fluids*, 33(3), 223-233.

**Guignard J. L., Cosson L., Henry M., (1985)** Abrégé de phyto-chimie. Masson, Paris, pp 175-191.

## H

**Haida, S., Kribii, A., Daoud, N. A., Belakhmima, R. A., & Kribii, A. (2022).** Antioxidant activity of *Haloxylon scoparium* alkaloid extracts from Figuig region (southeastern of Morocco). *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 58.

**Hanson, J. R. (2003).** Natural products: the secondary metabolites (Vol. 17). Royal Society of Chemistry.

**Hassen T , Milena M, Angela M , Wahiba D , Sonia P, Paola M (2013)** LC–ESI-MS qualiquantitative determination of phenolic constituents in different parts of wild and cultivated *Astragalus gombiformis*. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 72 , pp 89-98.

**Hegnauer, R. (1988).** Biochemistry, distribution and taxonomic relevance of higher plant alkaloids. *Phytochemistry*, 27(8), 2423-2427.

**Hellah, (2011).** Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus. Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*) (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).

**Hughes, C. E., & Legume Phylogeny Working Group. (2017).** A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny. *Taxon*, 66(1), 44-77.

## I

**Ilghami, A., Ghanbarzadeh, S., & Hamishehkar, H. (2015).** Optimization of the ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds, ferric reducing activity and antioxidant activity of the *Beta vulgaris* using response surface methodology. *Pharmaceutical Sciences*, 21(1), 46-50.

## J

**Jaber, A. (2017).** *Matrices MALDI bithiophéniques spécifiques aux alcaloïdes: étude des mécanismes fondamentaux et applications* (Doctoral dissertation, Université d'Angers).

**James, L. F., Hartley, W. J., Williams, M. C., & Van Kampen, K. R. (1980).** Field and experimental studies in cattle and sheep poisoned by nitro-bearing *Astragalus* or their toxins. *American journal of veterinary research*, 41(3), 377-382.

**Jörg Ziegler et Peter J. Facchini. (2 juin 2008).** Biosynthèse des alcaloïdes : métabolisme et trafic. *Revue annuelle de biologie végétale* , pp 735-769.

## K

**Khademi Pour, N., Sharifan, A., & Bakhoda, H. (2022).** Phenolic, flavonoid contents and antioxidant activity of methanolic and aqueous extracts of different parts of *Astragalus fasciculifolius* and evaluation antibacterial activity of methanolic gum extract. *Research and Innovation in Food Science and Technology*, 11(3), 291-302.

**Khan, F., Qidwai, T., Shukla, R. K., & Gupta, V. (2013).** Alkaloids derived from tyrosine: modified benzyltetrahydroisoquinoline alkaloids. *Natural Products*. Springer, 405-460.

**Končić, M. Z., Kremer, D., Karlović, K., & Kosalec, I. (2010).** Evaluation of antioxidant activities and phenolic content of *Berberis vulgaris* L. and *Berberis croatica* Horvat. *Food and chemical toxicology*, 48(8-9), 2176-2180.

**Kurt-Celep, İ., Zengin, G., Sinan, K. I., Ak, G., Elbasan, F., Yıldızıtugay, E., ... & Mahomoodally, M. F. (2021).** Comprehensive evaluation of two *Astragalus* species (*A. campylosema* and *A. hirsutus*) based on biological, toxicological properties and chemical profiling. *Food and Chemical Toxicology*, 154, 112330.

## L

**Lekmine, S., Boussekine, S., Kadi, K., Martín-García, A. I., Kheddouma, A., Nagaz, K., & Bensouici, C. (2020).** A comparative study on chemical profile and biological activities of aerial parts (stems, flowers, leaves, pods and seeds) of *Astragalus gombiformis*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 27, 101668.

**Lysiuk, R., & Darmohray, R. (2016).** Pharmacology and ethnomedicine of the genus *Astragalus*. *International Journal of Pharmacology, Phytochemistry and Ethnomedicine*, 3, 46-53.

## M

**Maamria, L. (2015).** *Etude phytochimique de deux plantes Leguminosae: Astragalus depressus L. et Astragalus gombo Coss. et Dur* (Doctoral dissertation, UB1).

**Marinho, F. F., Simões, A. O., Barcellos, T., & Moura, S. (2016).** Brazilian *Tabernaemontana* genus: Indole alkaloids and phytochemical activities. *Fitoterapia*, 114, 127-137.

**Medareg Narou, B. H., & Farhi, A. (2009).** Le rôle des services et des investissements dans l'hypertrophie de la ville d'El Oued au bas Sahara algérien. *Environnement Urbain*, 3, c-1.

**Meriane, D. (2019).** Etude biologique et phytochimique de *Calobota saharae* (Coss. & Dur.) Boatwr. & BE van Wyk (Doctoral dissertation).

**Mezouar, D., Lahfa, F. B., Abdelouahid, D. E., Adida, H., Rahmoun, N. M., & Boucherit-Otmani, Z. (2014).** Activité antimicrobienne d'extraits d'écorce de racines de *Berberis vulgaris*. *Phytothérapie*, 6(12), 380-385.

**Michaud, P. (2017, November).** De l'histoire de l'ethnobotanique en Afrique vers la découverte de nouvelles sources de polysaccharides actifs. In *Séminaire International POLYSAC 2017*.

**Milcent, R. (2022).** Chimie organique hétérocyclique. In *Chimie organique hétérocyclique*. EDP sciences.

**Montoro, P., Teyeb, H., Masullo, M., Mari, A., Douki, W., & Piacente, S. (2013).** LC-ESI-MS quali-quantitative determination of phenolic constituents in different parts of wild and cultivated *Astragalus gombiformis*. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 72, 89-98.

## N

**Neffati, M., Najjaa, H., & Máthé, Á. (Eds.). (2017).** *Medicinal and Aromatic Plants of the World-Africa Volume 3* (Vol. 3). Springer.

**Nyamai, D. W., Arika, W., Ogola, P. E., Njagi, E. N. M., & Ngugi, M. P. (2016).** Medicinally important phytochemicals: an untapped research avenue. *Journal of pharmacognosy and phytochemistry*, 4(4), 35-49.

## O

**Oyaizu, M. (1986).** Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese journal of nutrition and dietetics*, 44(6), 307-315.

**Ozenda P. (1991).** flore et végétation du Sahara. Ed, CNRS (3ème édition augmentée), Paris,662P.

**Ozenda, P. (1958).** Flore du Sahara septentrional et central.

**Ozenda, P. (2004).** Flore et végétation du Sahara (Vol. 3' édition). 15, rue Malebranche - 75005 PARIS.

## Q

**Quezel P. et Santa S. (1962)** Nouvelle flore de l'Algérie et des Régions désertiques méridionales, Centre Nationale de la recherche scientifique, paris, 7, 545p.

## R

**Rahim, O., Hamra, H., Guerrah, S., & Allaou, M. (2015).** CONTRIBUTION A L'ETUDE DES EXTRAITS DE GRAINES DE *Gossypium arboreum* ET LEUR EFFET ANTIMICROBIEN SUR CERTAINES BACTERIES PATHOGENES. *Revue de Bioressources*, 5(1).

**Ramawat, K. G., & Mérillon, J. M. (2013).** *Natural products* (pp. 3497-3514). Springer Verlag Berlin Heidelberg.

**Rios, J. L., & Waterman, P. G. (1997).** A review of the pharmacology and toxicology of Astragalus. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Medical and Scientific Research on Plants and Plant Products*, 11(6), 411-418.

**Rivas Cacsire, V. D. (2006).** Extracción de alcaloides a partir de la corteza y hojas de la guanábana.

**Roberts, M. F. (Ed.). (2013).** *Alkaloids: biochemistry, ecology, and medicinal applications*. Springer Science & Business Media.

**Roy, A. (2017).** A review on the alkaloids an important therapeutic compound from plants. *IJPB*, 3(2), 1-9.

**Rujjanawate, C., Kanjanapothi, D., & Panthong, A. (2003).** Pharmacological effect and toxicity of alkaloids from *Gelsemium elegans* Benth. *Journal of Ethnopharmacology*, 89(1), 91-95.

## S

**Shinde, A. B., & Mulay, Y. R. (2015).** Phytochemical analysis and antibacterial properties of some selected Indian medicinal plants. *International Journal of current Microbiology and Applied sciences*, 4(3), 228-235.

**Singla, D., Sharma, A., Kaur, J., Panwar, B., & Raghava, G. P. (2010).** BIADB: a curated database of benzyloisoquinoline alkaloids. *BMC pharmacology*, 10, 1-8.

**Srivastava, S., & Srivastava, A. K. (2013).** Biotechnology and genetic engineering for alkaloid production. *Natural Products: Phytochemistry, Botany and Metabolism of Alkaloids, Phenolics and Terpenes; Ramawat, GK, Mérillon, J.-M., Eds*, 213-250.

## T

**Teyeb, H., Houta, O., Douki, W., & NEFFATI, M. (2012).** Composition chimique et activité antioxydante de l'huile essentielle d'*Astragalus gombo* collectée à partir de deux sites de la Tunisie. *Journal de la Société Chimique de Tunisie*, 14, 63-67.

**Teyeb, H., Mabrouk, H., Neffati, M., Douki, W., & Najjar, M. F. (2011).** Anticholinesterase activity of *Astragalus gombiformis* extracts. *Journal of Biologically Active Products from Nature*, 1(5-6), 344-348.

**Tlili, M. L. (2021).** Contribution à la caractérisation structurale et biologique de quelques principes actifs extraits de deux plantes médicinales du Sahara Algérien *Salviachudaei* (Lamiaceae) et *Pergularia tomentosa* (Asclepiadeceae) (Doctoral dissertation, Université Kasdi Merbah Ouargla).

## W

**Watrous, K. M., & Cane, J. H. (2011).** Breeding biology of the threadstalk milkvetch, *Astragalus filipes* (Fabaceae), with a review of the genus. *The American Midland Naturalist*, 165(2), 225-240.

## Y

**Yadav, R. N. S., & Agarwala, M. (2011).** Phytochemical analysis of some medicinal plants. *Journal of phytology*, 3(12).

## Z

**Zarre, S., & Azani, N. (2013).** Perspectives in taxonomy and phylogeny of the genus *Astragalus* (Fabaceae): a review. *Progress in biological sciences*, 3(1), 1-6.

**Ziegler, J., & Facchini, P. J. (2008).** Alkaloid biosynthesis: metabolism and trafficking. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 59, 735-769.

**Zirena Marca, D. S. (2015).** EVALUACIÓN DEL EFECTO ESCABICIDA DEL EXTRACTO LUPINUS MUTABILIS SWEET (TARWI), PARA EL TRATAMIENTO DE LA ESCABIOSIS, “SARNA HUMANA”, EN PACIENTES DEL “HOSPITAL REGIONAL HONORIO DELGADO”.