

ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DES EXTRAITS PHENOLIQUES DE LA PLANTE *Teucrium polium geyrii*

HAMMOUDI Roukia¹, HADJ MAHAMMED Mahfoud¹, RAMDANE Farah¹ et
KHODIR Abed Allah²

¹Université Kasdi Merbah-Ouargla, laboratoire de biogéochimie des milieux désertiques
30000 Ouargla, Algérie

²Laboratoire régional de contrôle de qualité (CAQE)
30000 Ouargla, Algérie

E-mail : rokia1811@yahoo.fr

Résumé- Ce travail présente une contribution à la valorisation de l'une des plantes de la famille Lamiacées issue de la région de Tamanrasset (Sahara méridional Algérien), en l'occurrence *Teucrium polium geyrii*. Il s'agit d'une mise en évidence de l'activité biologique de certains de ses métabolites secondaires. La plante a été soumise à deux types d'extraction des composés phénoliques, par macération et au Soxhlet. L'analyse semi-quantitative des phénols totaux et des flavonoïdes des extraits phénoliques, réalisée par colorimétrie, a montré que l'extrait d'acétate d'éthyle obtenu par macération renferme plus de phénols totaux soit 89.05 ± 0.50 mg/g en équivalent d'acide gallique, au même titre que le taux des flavonoïdes avec 0.45 ± 0.001 mg/g en équivalent de vitexine. L'activité antibactérienne réalisée sur des souches bactériennes pathogènes et d'altération dont *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus cremoris*, *Clostridium perfringens*, *Klebsilla pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, par la méthode d'aromatogramme, a montré que les extraits testés sont doués d'activité antibactérienne appréciable avec des zones d'inhibition pouvant atteindre 3.4 ± 0.3 cm de diamètre sur *Proteus mirabilis*.

Mots clés : *Teucrium polium*, plante médicinale, polyphénols, activité antibactérienne, aromatoigramme.

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF PHENOLIC EXTRACT FROM *Teucrium polium geyrii* PLANT

Abstract- This work presents a contribution to the detection of biological activity of some secondary metabolites of *Teucrium polium geyrii*, which is a Lamiaceae plant family of Tamanrasset (southern Algeria). The plant was subjected to two types of phenolic compounds extraction, maceration and Soxhlet apparatus. The semi-quantitative analysis of total phenols and flavonoids (phenolic extracts), was performed by colorimetry. It showed that the ethyl acetate extract obtained by maceration contains the largest amount of total phenols, 89.05 ± 0.50 mg/g equivalent of gallic acid, as well as the rate of flavonoids with 0.45 ± 0.001 mg/g equivalent of vitexin. The antibacterial activity carried on bacterial strains pathogenic and alterations, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus cremoris*, *Clostridium perfringens*, *Klebsilla pneumoniae*, *Escherichia coli* and *Proteus mirabilis*, by Aromatogram method, showed that the extracts tested are endowed interesting antibacterial activity with inhibition zones can reach 3.4 ± 0.3 cm in diameter on *Proteus mirabilis*.

Keywords: *Teucrium polium geyrii*, medicinal plant, polyphenols, antibacterial activity, aromatogram.

Introduction

Les métabolites secondaires dont font partie les composés phénoliques contiennent des substances très recherchées par les industries des cosmétiques, de la pharmacie et de la phytothérapie [1]. *Teucrium polium geyrii* de la famille Lamiaceae, nommée Takmazzut par les Touareg, est une plante vivace souvent pérenne, recouverte de poils laineux qui lui donnent une couleur grise bleutée et sa taille varie entre 20 et 30 cm [2, 3, 4]. C'est une plante méditerranéenne, commune à l'Atlas saharien. Elle pousse surtout dans les lits pierreux des oueds et dans les roches, en altitude entre 1200 et 2600 m [3, 5]. En médecine traditionnelle africaine, cette espèce est utilisée en périodes de stress. Elle possède également une action bénéfique sur la

digestion. Ses propriétés anti-stress et anti-oxydantes permettent de lutter contre le vieillissement de la peau [6]. Elle est utilisée pour parfumer le thé. C'est l'aspirine des touaregs. En médecine traditionnelle, elle a une place importante en raison de ses indications thérapeutiques. Toutefois, elle semble n'avoir pas été suffisamment étudiée chimiquement, contrairement à d'autres sous espèces du même genre [2].

Cette étude s'intègre dans le contexte plus global de la mise en valeur de la biodiversité des plantes aromatiques algériennes pour leurs propriétés tant médicinales qu'alimentaires.

1.- Matériel et méthodes

1.1.- Récolte du matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de la partie aérienne de la plante *Teucrium polium geyrii*, récoltée à Tamanrasset (Hoggar centre) en Novembre 2007. Les échantillons sont séchés à l'abri de la lumière et de l'humidité, à température ambiante et stockés soigneusement dans un endroit sec en vue de leur analyse.

La plante est été identifiée par S. BENHOUHOU, botaniste à l'institut national agronomique (INA) à El-Harrach-Alger (Algérie).

1.2.- Etude des composés phénoliques de *Teucrium polium geyrii*

1.2.1.- Extraction par macération

Un échantillon de 5 g de poudre végétale est soumise à macération dans un mélange hydroalcoolique (méthanol/eau 80/20: v/v) durant 36 heures à température ambiante et à l'obscurité, avec renouvellement du solvant toutes les 24 heures. Les extraits hydro-alcooliques sont évaporés sous vide à une température de 40°C. Après traitement à l'éther de pétrole pour éliminer les pigments [7], la phase aqueuse est extraite à l'acétate d'éthyle. L'addition de 4 ml du mélange: sulfate d'ammonium (NH₄)₂SO₄ à 20% (m/v) et l'acide orthophosphorique (H₃PO₄ à 2%) facilite le passage des composés phénoliques de la phase aqueuse vers le solvant organique. La phase organique obtenue est séchée sur sulfate de sodium anhydre (Na₂SO₄) suivie d'une évaporation sous vide à 40°C [8,9].

1.2.2.- Extraction au Soxhlet

Un échantillon de 50 g de la partie aérienne de *Teucrium polium geyrii* est soumis à l'extraction par le méthanol au Soxhlet, pendant 7 heures. Après évaporation totale du solvant, 100 ml d'eau chaude sont additionnées au résidu sec puis conservé durant une nuit. L'extraction liquide-liquide a été ensuite réalisée avec un système de solvants de polarité croissante: éther de pétrole, l'hexane et le chloroforme, l'acétate d'éthyle et enfin le n-butanol [10].

1.3.- Quantification des composés phénoliques

Le dosage des phénols totaux a été effectué par une méthode adaptée de SINGLETON *et al.* avec le réactif de Folin-Ciocalteu, tandis que les flavonoïdes sont quantifiés par dosage direct par le trichlorure d'aluminium [11,12].

1.3.1.- Dosage des phénols totaux

A partir d'une solution mère aqueuse préparée de l'acide gallique de concentration

massique 10mmol/l, des solutions filles sont préparées à des concentrations allant de 0.2 mmol/l jusqu'à 1.2 mmol/l. 50 µl de chaque solution, ou de l'extrait des polyphénols, sont introduits dans des tubes à essais. 100 µl de réactif de Folin-Ciocalteu et 1 ml d'eau bidistillée est ajoutée. Après 10 minutes, on ajoute 500 µl de carbonate de sodium Na₂CO₃ à 20% (m/v). Les solutions sont maintenues à l'obscurité pendant 2 heures à température ambiante. Les concentrations sont déterminées à l'aide d'un spectrophotomètre UV/Visible type LNICAM-DISCPD2000-1, à une longueur d'onde de 765 nm.

1.3.2.- Dosage des flavonoïdes

L'analyse quantitative des flavonoïdes est effectuée par la méthode de VENSKUTONIS *et al.* (2003). A partir de la solution mère de la vitexine (utilisée comme étalon) préparée dans le méthanol à une concentration de 1 mmol/l, des solutions filles de concentrations allant de 0.01 à 0.06 mmol/l sont préparées. 1 ml de chaque solution fille de la vitexine ou de l'extrait, est ajouté à 1 ml de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) à 20 % (m/v) dans l'eau. Après incubation à l'obscurité pendant 40 minutes à température ambiante, le dosage s'effectue par spectrophotométrie UV/Visible à 415 nm.

1.4.- Activité antibactérienne des extraits

La méthode des aromagrammes est utilisée pour rechercher l'activité antibactérienne au laboratoire de bactériologie de l'hôpital Mohamed Boudiaf et au laboratoire de contrôle de qualité de la localité de Ouargla. Le milieu de culture utilisé est la gélose Mueller-Hinton (4mm d'épaisseur). Les souches bactériennes choisies sont: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus cremoris*, *Clostridium perfringens*, *Klebsilla pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*.

L'ensemencement de l'inoculum de 1 ml est réalisé en surface. Les disques pour aromagrammes des extraits dissous dans le DMSO (Ø 0.5 cm), sont déposés à la surface de la boîte. Chaque disque est imprégné d'une quantité variable (entre 1 et 10 µl) de l'extrait sélectionné. La boîte est incubée à l'étuve à 37° durant 12 à 18 heures. A la sortie de l'étuve, l'absence de la croissance microbienne se traduit par un halotranslucide autour du disque, identique à de la gélose stérile, dont le diamètre est mesuré et exprimé en centimètre. Le témoin est une boîte de Pétri ensemencée dans les conditions de l'expérience, sans disque.

2.- Résultats et discussion

Une investigation phytochimique préliminaire a été entreprise et a permis de mettre en évidence divers métabolites secondaires. Le Tableau I, regroupe les résultats des tests chimiques réalisés, après broyage de la plante *Teucrium polium geyrii*. Au vu des résultats, on déduit que la plante étudiée, comme d'autres espèces de la famille des Lamiacées, est riche en divers métabolites secondaires, ce qui explique l'intérêt et l'attention particulière portée à cette plante par plusieurs chercheurs [13]

Tableau I.- Tests chimiques préliminaires de la plante *Teucrium polium geyrii*

Test chimique	Présence
Tanins	+
Saponosides	+
Huiles essentielles	+
Cardénolides	+

Alcaloïdes	+
Anthraquinones libres	+
Stéroïdes et dérivés de stéroïdes	+
Flavonoïdes	+
Polyphénols	+

2.2.- Étude des composés phénoliques de *Teucrium polium geyrii*

2.2.1.- Extraction des flavonoïdes

Le tableau II est noté l'aspect, la couleur et le rendement de chaque extrait phénolique. Les résultats montrent un rendement élevé pour l'extraction réalisée par l'hexane au Soxhlet (7.50%) et le moins important est obtenu avec celle pour le chloroforme (2.66%). Cette différence peut être attribuée à la présence de composés lipophiles (acides gras, caroténoïdes, chlorophylles) de poids moléculaire élevé, plus solubles dans l'hexane. Toutefois, ces extractions peuvent être considérées comme complémentaires dans la mesure où les produits naturels présentent des polarités assez différentes.

Tableau II.- Caractéristiques des extraits phénoliques obtenus par macération et au Soxhlet de la plante *Teucrium polium geyrii*

Extraits	Couleur	Aspects	Rendement (%)
Hexane (soxhlet).	Vert foncé	Visqueux	7.50
Chloroforme (soxhlet)	Vert Jaune	visqueux	2.66
Acétate d'éthyle (soxhlet)	Jaune	poudre	5.31
n-butanol (soxhlet)	Jaune marron	poudre	5.58
Acétate d'éthyle (macération)	Jaune vert	poudre	3.70

2.2.2.- Analyse quantitative des polyphénols

La teneur en composés phénoliques de chaque extrait de plante est exprimée en milligrammes équivalents en acide gallique par gramme de la matière sèche. La quantification des flavonoïdes est exprimée en milligrammes équivalents en vitexine par gramme de la matière sèche. Les résultats sont regroupés dans le tableau III.

Tableau III.- Phénols totaux et flavonoïdes des extraits de la plante *Teucrium polium geyrii*

Extrait	Phénols Totaux (mg/g) équivalent en acide gallique	Flavonoïdes (mg/g) équivalent en vitexine
Acétate d'éthyle (macération)	89.05±0.50	0.45±0.001
Acétate d'éthyle (soxhlet)	1.81±0.05	0.06±0.097
n-butanol (soxhlet)	49.87±0.004	0.16±0.001
Chloroforme (soxhlet)	8.48±0.07	0.16±0.035
Hexane (soxhlet)	7.52±0.02	0.12±0.008

La teneur en polyphénols dans la plante *Teucrium polium geyrii* étudiée varie d'un extrait à un autre. L'extrait à l'acétate d'éthyle obtenu par macération renferme la plus grande quantité de phénols totaux (89.05±0.50 mg/g) au même titre que le taux des flavonoïdes (0.45±0.001 mg/g). La plus faible teneur en phénols totaux avec 1.81±0.05 mg/g est observée dans le cas d'extrait à l'acétate d'éthyle au Soxhlet. DJERIDANE *et al.* (2006) et PROESTOS *et al.* (2006), rapportent que la plante *Teucrium polium geyrii* provenant de Tamanrasset, est riche en

composés phénoliques.

2.3- Activité antibactérienne des extraits

La figure 1 indique les résultats des tests d'activité antimicrobienne des extraits issus de la plante *Teucrium polium geyrii* sur les souches bactériennes suivantes : *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus cremoris*, *Clostridium perfringens*, *Klebsilla pneumoniae*, *Escherichia coli* et *Proteus mirabilis*.

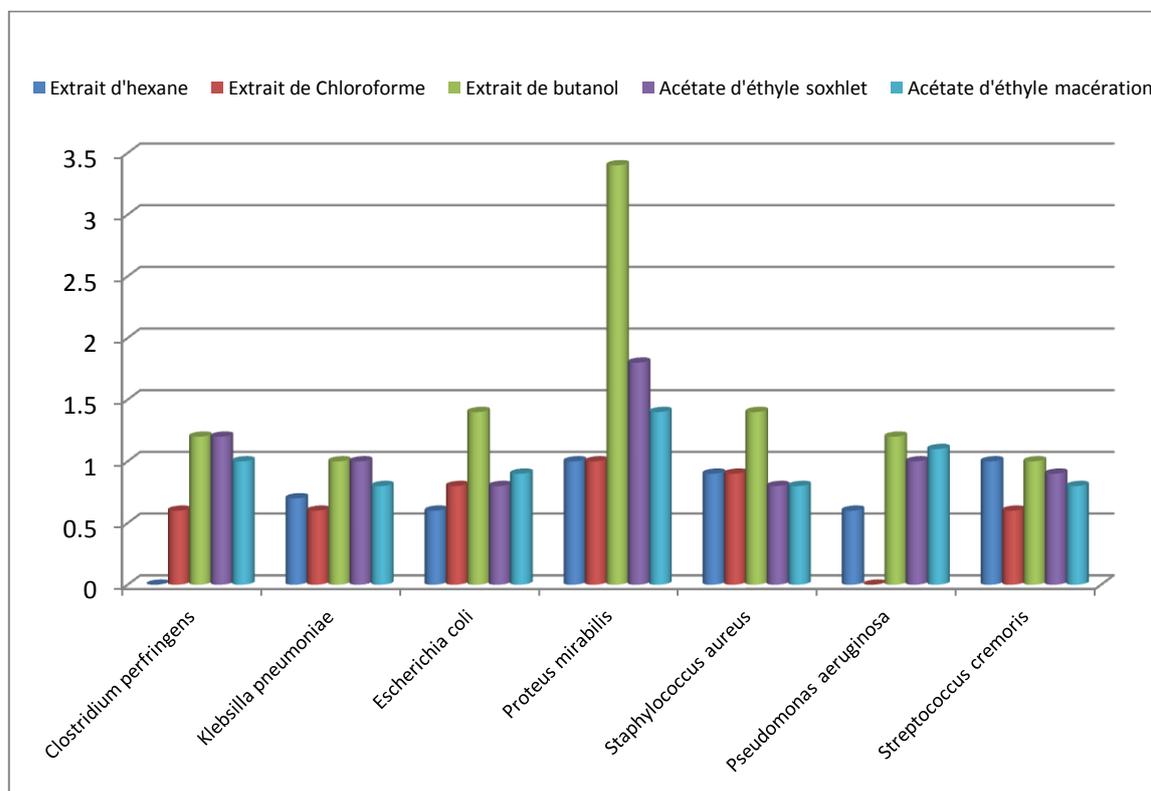


Figure 1.- Effet des extraits de *Teucrium polium geyrii* sur les différentes souches bactériennes

Il apparaît un effet antibactérien de la plante *Teucrium polium geyrii* sur différentes souches bactériennes Gram positif ou négatif. Cette efficacité est due à la présence des flavonoïdes qui sont des métabolites secondaires réputés pour leurs effets antibactériens [14,15].

De même, il est remarqué l'effet significatif de l'extrait butanolique de *Teucrium polium* sur les souches étudiées. L'effet de cet extrait est notable par rapport aux autres extraits testés, avec un maximum d'inhibition de 3.4 ± 0.3 cm de diamètre chez *Proteus mirabilis* (fig. 2).

L'extrait à l'acétate d'éthyle possède un large spectre d'action couvrant les bactéries Gram positifs et négatifs, de la présente étude. Les extraits au chloroforme et à l'hexane, exercent des effets similaires mais avec des zones d'inhibitions différentes (fig. 2 et 3).

Les essais sur *Proteus mirabilis* montrent que les extraits présentent des diamètres d'inhibition supérieurs à 1 cm. Tous les extraits étudiés inhibent la croissance des souches de *S. aureus* en milieu gélosé. Une étude de OGANESYAN *et al.* a noté l'effet antimicrobien de l'extrait méthanolique de *Teucrium polium* sur *Klebsilla pneumoniae* et *Escherichia coli* [15].



Figure 2.- Activité des extraits du *Teucrium polium geyrii* sur *Proteus mirabilis*



Figure 3.- Activité des extraits du *Teucrium polium geyrii* sur *Klebsilla pneumoniae*

Conclusion

Afin d'isoler de nouvelles substances naturelles permettant de mettre au point de nouvelles voies d'applications tant dans les domaines de la pharmacie, de la cosmétique, ce travail est une contribution à l'étude d'activités biologiques de certains métabolites secondaires de la plante *Teucrium polium geyrii* issue de la région de Tamanrasset (Algérie). La plante étant soumise à deux types d'extraction, la macération et au Soxhlet, l'analyse quantitative réalisée par spectrophotométrie a révélé des teneurs appréciables en polyphénols avec des quantités notables en flavonoïdes.

Le test de l'activité antibactérienne des différents extraits a montré que toutes les souches microbiennes testées sont inhibées par les extraits, dont l'extrait butanolique présente un effet plus marqué par rapport aux autres extraits testés, avec un maximum de zone d'inhibition de 3.4 ± 0.3 cm de diamètre sur *Proteus mirabilis*.

Références bibliographiques

- [1].- Gurib-Fakim A., 2006.- Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. Molecular Aspects of Medicine, vol. 27: 1-93.
- [2].- Benchelah A C., Bouzian H., Maka M., 2004.- Fleurs du Sahara, arbres et arbustes, voyage au coeur de leurs usages avec les Touaregs du Tassili. Phytothérapie, vol. 6: 191-197.
- [3].- Abdallah H. et Sahki R., 2004.- Le Hoggar promenade botanique. Espèces herbacées. Edition Ésope, 311 p.
- [4].- Ashnagar A., Gharib N., et Foroozanfar S., 2007.- Isolation and identification of the major chemical components found in the upper parts of *Teucrium polium* plants grown in Khuzestan province of Iran. Chinese Journal of Chemistry, vol. 25:1171-1173.
- [5].- Ozenda P., 1979.- Flore du Sahara. CNRS, Paris, 423 p.
- [6].- Panovska T. K., Kulevanova S., Gjorgoski I., Bogdanova M., et Petrushevska G., 2007.- Hepatoprotective effect of the ethyl acetate extract of *Teucrium polium* L. against carbontetrachloride-induced hepatic injury in rats. Acta Pharm, vol. 57: 241-248.

- [7].- Torck M. et Pinkas M., 1992.- Les Flavonoides du Genre *Vicia*. *Biochemical Systematics and Ecology*, vol. 20, No. 5: 453-457.
- [8].- Stocker P., Yousfi M., Djerridane O., Perrier J., Amziani R., El Boustani S., Moulin A., 2004.- Effect of flavonoids from various Mediterranean plants on enzymatic activity of intestinal carboxylesterase. *Biochimie* 86: 919-925.
- [9].- Djeridane A., Yousfi M., Vidal N., Lesgards J. F., Stocker P., 2007.- Screening of some Algerian medicinal plants for the phenolic compounds and their antioxidant activity. *Food Chemistry*, vol. 97: 654-660
- [10].- Dastmalchi K., Damien Dorman H. J., Laakso I., et Hiltunen R., 2007.- Chemical composition and antioxidative activity of Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.) extracts. *LWT*, vol. 40: 1655-1663.
- [11].- Singleton V. L., Ortofer R., Lamuela-Raventos R. M., 1999.- Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*. Orlando. Academic Press: 152-178.
- [12].- Özkan G, Kuleaoan H, Çelik S, Gokturk R. S. et Ünal O., 2007.- Screening of Turkish endemic *Teucrium montbretii* subsp. *pamphylicum* extracts for antioxidant and antibacterial activities. *Food Control*, vol. 18: 509-512
- [13].- Naghibi F., Mosddegh M., Mohammadi M. S. et Ghorbani A., 2005.- Labiatae Family in folk Medicine in Iran: from Ethnobotany to Pharmacology Iranian. *Journal of Pharmaceutical Research*, vol. 2: 63-79.
- [14].- Havsteen B. H., 2002.- The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology et Therapeutics*, vol. 96: 67-202
- [15].- Sosa M. E. et Tonn C. E., 2006.- Plant secondary metabolites from Argentinean semiarid lands: bioactivity against insects. *Phytochem Rev*, DOI 10.1007/s11101-006-9056-7.