



République Algérienne Démocratique et Populaire Ministère de l'Enseignement
Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Larbi Tébessi – Tébessa –
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Appliquée



MEMOIRE DE MASTER

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences Biologiques

Option: Biochimie et Biologie Moléculaire

Thème

Contribution à l'étude du potentiel biologique d'une plante médicinale du genre *Pituranthos*

Par

FRADJ Khouloud

ABADA Fairouz

Devant le jury

Dr. DJABRI Belgacem

MCA Université de Tébessa

Président

Dr. ZEGHIB Assia

MCB Université de Tébessa

Encadratrice

Dr. HAMMOUM Zakia

MAA Université de Tébessa

Examinatrice

Date de soutenance: 29/05/2016



République Algérienne Démocratique et Populaire Ministère de l'Enseignement
Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Larbi Tébessi – Tébessa –
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Appliquée



MEMOIRE DE MASTER

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences Biologiques

Option: Biochimie et Biologie Moléculaire

Thème

Contribution à l'étude du potentiel biologique d'une plante médicinale du genre *Pituranthos*

Par

FRADJ Khouloud

ABADA Fairouz

Devant le jury

Dr. DJABRI Belgacem

MCA Université de Tébessa

Président

Dr. ZEGHIB Assia

MCB Université de Tébessa

Encadratrice

Dr. HAMMOUM Zakia

MAA Université de Tébessa

Examinatrice

Date de soutenance: 29/05/2016

ملخص

الهدف من هذا العمل هو تقييم النشاط المضاد للأكسدة والمضاد للبكتيريا لمستخلصات *Pituranthos scoparius* ، وكذلك الدراسة الكمية للمركبات البوليفينولية. ويدعم هذا الهدف من خلال البحث عن مختلف المكونات النشطة والمركبات الثانوية لهذا النبات عن طريق الفحص الكيميائي النباتي. مردود المستخلصات أثير البترول ، ثنائي كلورو ميثان، خلات الإيثيل والميثانول هي حوالي 1.2٪، 1.4٪، 0.3٪ و 5.2٪ على التوالي. كشف الفحص الكيميائي النباتي وجود الصابونين، قلويدات، الفلافونويد، تربين، التانا وكردينوليدات . المحتوى الكلي للبوليفينول الأكثر ارتفاعا موجود في مستخلصات ثنائي كلوروميثان و الميثانول. النشاط المضاد للأكسدة ضد DPPH يظهر أن المستخلص الميثانولي يمثل نسبة التثبيط الأكثر أهمية (63.8٪). التأثير المضاد للبكتيريا لمستخلصات الميثانول و أثير البترول لـ *P.scoparius* سجل شديد الفعالية تجاه *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ، في حين الحساسية متوسطة بالنسبة للمستخلصين الآخرين . *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 لديها حساسية محدودة تجاه المستخلصات الأربعة لـ *P.scoparius* .

الكلمات المفتاحية : *Pituranthos scoparius* ، مستخلصات، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للبكتيريا، إجمالي البوليفينول، فحص الكيميائي النباتي.

ABSTRACT

The objective of this work is the evaluation of the antioxidant and antibacterial activity of the extracts of *Pituranthos scoparius* , as well as the quantitative study of polyphenols. This objective is supported by a research of different active ingredients and secondary metabolites of this plant by phytochemical screening. The Yields obtained of extracts petroleum ether, dichloromethane, ethyl acetate and methanolic are in the order of 1.2%, 1.4%, 0.3% and 5.2% respectively. The phytochemical screening revealed the presence of saponins, alkaloids, flavonoids, terepoids, tannins and cardinolids. The most polyphenol contents are found in the dichloromethane and methanol extracts. The antioxidant activity against DPPH shows that methanolic extract present the highest inhibition percentage (63.8%). The antibacterial effect of methanol extract and petroleum ether of *P.scoparius* is reported hyper active towards *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, while the sensitivity is average for the two other extracts. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 has a limited sensitivity towards the four extracts of *P.scoparius*.

Keywords: *Pituranthos scoparius*, extracts, antioxidant activity, antibacterial activity, total polyphenols, phytochemical screening.

RESUME

L'objectif de ce travail est l'évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits de *Pituranthos scoparius*, ainsi que l'étude quantitative des polyphénols. Cet objectif est secondé par une recherche des différents principes actifs et métabolites secondaires de cette plante par screening phytochimique. Les rendements obtenus des extraits éther de pétrole, dichlorométhane, acétate d'éthyle et méthanolique sont de l'ordre de 1,2 %, 1,4 %, 0,3 % et 5,2 %, respectivement. Le screening phytochimique a révélé la présence de saponines, alcaloïdes, flavonoïdes, térepoïdes, tannins et cardinolides. Les teneurs les plus élevés en polyphénols sont trouvés dans les extraits dichlorométhane et méthanol. L'activité antioxydante contre le DPPH montre que l'extrait méthanolique présente le pourcentage d'inhibition le plus important (63,8 %). L'effet antibactérien des extraits méthanolique et éther de pétrole de *P.scoparius* est signalé hyper actif vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, alors que cette activité est moyenne pour les deux autres extraits. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 présente une sensibilité limitée vis-à-vis des quatre extraits de *P.scoparius*.

Mots clés : *Pituranthos scoparius*, extraits, activité antioxydante, activité antibactérienne, polyphénols totaux, screening phytochimique.

Remerciements

Ce mémoire n'aurait pas pu être ce qu'il est, sans l'aide d'ALLAH qui nous a donné la force afin de l'accomplir.

Nous adressons nos remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire.

Nous tenons à exprimer nos très grands remerciements à **Dr. ZEGHIB Assia**, Maître de Conférence B à l'Université de LARBI TEBESSI –TEBESSA-, Département de Biologie Appliquée, pour avoir encadré et dirigé ce travail, tout au long de sa réalisation, pour ses précieux conseils et qu'elle puisse voir en ce travail l'expression de notre profonde gratitude.

Nous tenons tout particulièrement à remercier le directeur de laboratoire des molécules bioactives et applications **Dr. DJABRI Belgacem**, Maître de Conférence A à l'Université de LARBI TEBESSI –TEBESSA-, Département de Biologie Appliquée, pour son intérêt à notre étude, pour nous avoir permis de réaliser ce travail au sein du laboratoire et pour nous avoir fait l'honneur d'accepté la présidence de notre mémoire.

Nous exprimons nos vifs remerciements à **Dr. HAMMOUM Zakia**, Maître Assistante A à l'Université de LARBI TEBESSI –TEBESSA-, Département de Biologie Appliquée, d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous remercions **Mr MENASRIA Taha**, Maître Assistant A à l'Université de LARBI TEBESSI –TEBESSA-, Département de Biologie Appliquée, pour la fourniture de la souche bactérienne *Staphylococcus aureus*.

Nous n'oublions pas de remercier vivement les membres de l'équipe des laboratoires de département de biologie appliquée, en particulier : **Karima, Souad et Linda** pour leur aides et soutien moral.

Merci à tous les membres de l'équipe du laboratoire des Sciences de la Terre, **Hacène et Ilham** pour leurs aides.

Nos sentiments de reconnaissance et nos remerciements vont également à nos collègues de travail dans le laboratoire : Amel, Amina, Chahra, Ghazala, Khadidja, Linda, Saliha et Sara.

A toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste mémoire.

Fradj Khouloud et Abada Fairouz

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01 : Quelques classes des flavonoïdes.	08
Tableau 02 : liste d'appareils utilisés pour l'extraction.	16
Tableau 03 : liste d'appareils utilisés pour le screening phytochimique.	17
Tableau 04 : liste d'appareils utilisés pour le dosage de polyphénols totaux.	19
Tableau 05 : liste d'appareils utilisés pour l'étude de l'activité antioxydante.	20
Tableau 06 : liste d'appareils utilisés pour l'étude de l'activité antimicrobienne.	22
Tableau 07 : Sensibilité et degré d'activité selon le diamètre d'inhibition.	40
Tableau 08 : Couleur et aspect des extraits d'étude.	43
Tableau 09 : Résultats de screening phytochimique des parties aériennes de <i>p.scoparius</i> .	45
Tableau 10 : Caractères morphologiques des bactéries utilisées comme germes-tests.	50
Tableau 11 : Détermination du diamètre de la zone d'inhibition (mm) des quatre extraits de <i>P.scoparius</i> .	50
Tableau 12 : Antibiogramme de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853.	53
Tableau 13 : Antibiogramme de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.	53

LISTE DES FIGURES

Figure 01 : Structure de base des flavonoïdes.	08
Figure 02 : Exemple d'un tanin hydrolysable (pentagalloylglucose).	10
Figure 03 : Exemple d'un tanin condensé (polymère de procyanidine).	10
Figure 04 : Structure de base de coumarine.	11
Figure 05 : Structure de base des quinones.	12
Figure 06 : Structure de base la molécule isoprène.	13
Figure 07 : <i>Pituranthos scoparius</i> .	15
Figure 08 : Extraction de <i>P.scoparius</i> par des solvants de polarité croissante.	24
Figure 09 : Recherche des stérols et terpènes.	25
Figure 10 : Recherche des alcaloïdes.	26
Figure 11 : Recherche des cardinolides.	27
Figure 12 : Recherche des saponines.	28
Figure 13 : Recherche des leucoanthocyanes.	29
Figure 14 : Recherche des flavonoïdes.	30
Figure 15 : Recherche des quinones.	31
Figure 16 : Recherche des tannins.	32
Figure 17 : Forme libre et réduite du DPPH.	34
Figure 18 : <i>Pseudomonas aeruginosa</i> au microscope électronique à balayage.	36
Figure 19 : <i>Staphylococcus aureus</i> au microscope électronique à balayage.	37
Figure 20 : Rendements en extraits des parties aériennes de la plante.	44
Figure 21 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	46
Figure 22 : Teneur en polyphénols totaux des quatre extraits issus de <i>Pituranthos scoparius</i> (en µg EAG/mg d'extrait).	
Figure 23 : Résultats de CCM-DPPH.	48
Figure 24 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH par les extraits EP et ME de <i>P.scoparius</i> .	48
Figure 25 : <i>Pseudomonas aeruginosa</i> au microscope optique.	50
Figure 26 : Effet inhibiteur des extraits de <i>P.scoparius</i> sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853.	51

Figure 27 : Effet inhibiteur des extraits de <i>P.scoparius</i> sur <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.	51
Figure 28 : Effet inhibiteur des antibiotiques sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853.	52
Figure 29 : Effet inhibiteur des antibiotiques sur <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.	52

LISTE DES ABREVEATIONS ET SYMBOLES

Abs : Absorbance.

AE : Acétate d'éthyle.

ATCC : American type culture collection.

BN : Bouillon nutritif.

CCM : Chromatographie sur Couche Mince.

C₂H₄O₂ : Acide acétique.

DM: Dichlorométhane.

DPPH : 2,2 diphényl-1 picryl hydrazyl.

EAG : Equivalent acide gallique.

E : Extrait

EP: Ether de pétrole.

FeCl₃ : Chlorure ferrique.

GN : gélose nutritive

HCl : Acide chlorhydrique.

HgCl₂ : Chlorure de mercure.

H₂SO₄ : Acide sulfurique.

KI : Iodure de potassium.

ME : Méthanol.

MH : Mueller-Hinton.

NaOH : Hydroxyde de sodium.

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium.

P.scoparius : *Pituranthos Scoparius*.

UV-VIS : Ultraviolet-Visible.

(+) : Sensibilité limitée.

(++) : Sensibilité moyenne.

(+++): Très sensible.

ملخص

ABSTRACT

RESUME

REMERCIEMENTS

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

LISTE DES ABREVIATIONS ET SYMBOLES

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Présentation de l'espèce <i>Pituranthos scoparius</i>	04
I.1. Description botanique	04
I.2. Nomenclature	04
I.3. Classification botanique	05
I.4. Répartition géographique	05
I.5. Propriétés thérapeutiques et emplois	05
II. Les métabolites secondaires	06
II.1. Les composés phénoliques	06
II.1.1. Les flavonoïdes	07
II.1.2. Les tannins	09
II.1.2.1. Les tannins hydrolysables	09
II.1.2.2. Les tannins condensés	10
II.1.3. Les coumarines	11
II.1.4. Les quinones	12
II.2. Les alcaloïdes	12
II.3. Les terpénoïdes	13

MATERIELS ET METHODE

I. Matériels	15
I.1. Matériel végétal	15
I.1.1. Récolte de la plante d'étude	15
I.1.2. Conservation des échantillons d'étude	16
I.1.3. Identification de la plante	16
I.2. Matériels destiné à la réalisation de l'extraction	16
I.2.1. Appareillage	16
I.2.2. Verrerie et autres	16
I.2.3. Solvants et solutés	17
I.3. Matériels destiné à la réalisation de screening phytochimique	17
I.3.1. Appareillage	17
I.3.2. Verrerie et autres	18
I.3.3. Réactifs et autres	18
I.3.4. Solvants et solutés	18
I.4. Matériels destiné à la réalisation du dosage de polyphénols totaux	19
I.4.1. Appareillage	19
I.4.2. Verrerie et autres	19
I.4.3. Réactifs et autres	20
I.4.4. Solvants et solutés	20
I.5. Matériels destiné à la réalisation de l'étude de l'activité anti oxydante	20
I.5.1. Appareillage	20
I.5.2. Verrerie et autres	21
I.5.3. Réactifs	21
I.5.4. Solvants et solutés	21
I.6. Matériels destiné à la réalisation de l'étude de l'activité antibactérienne	22
I.6.1. Appareillage	22
I.6.2. Verrerie et autres	22
I.6.3. Réactifs et autres	23
I.6.4. Solvants et solutés	23
II. Méthodes	23
II.1. Extraction des composés phénoliques par les solvants organiques	23
II.2. Screening phytochimique	24

II.2.1. Recherche des Stérols et terpène	25
II.2.2. Recherche des alcaloïdes	26
II.2.3. Recherche des cardinolides	27
II.2.4. Recherche des saponines	28
II.2.5. Recherche des leucoanthocyanes	29
II.2.6. Recherche des flavonoïdes	30
II.2.7. Recherche des quinones	31
II.2.8. Recherche des tannins	32
II.3. Détermination du taux des composés phénoliques totaux	32
II.3.1. Principe	32
II.3.2. Mode opératoire	32
II.3.3. Méthode de calcul	33
II.4. Tests d'activités biologiques	33
II.4.1. Détermination de l'activité antioxydante (Test d'activité anti DPPH)	33
II.4.1.1. Tests par CCM (Chromatographie sur couche mince)	33
II.4.1.2. Test antiradicalaire contre le DPPH mesuré au spectrophotomètre	34
II.4.1.2.1. Principe	34
II.4.1.2.2. Mode opératoire	35
II.4.1.2.3. Méthode de calcul	35
II.4.2. Détermination de l'activité antibactérienne (diffusion en milieu gélosé)	35
II.4.2.1. Principe	35
II.4.2.2. Bactéries d'étude	36
II.4.2.2.1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	36
II.4.2.2.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	37
II.4.2.3. Coloration de Gram	37
II.4.2.3.1. Principe	37
II.4.2.3.2. Mode opératoire	38
II.4.2.3.2.1. Préparation et fixation du frottis bactérien	38
II.4.2.3.2.2. Coloration	38
II.4.2.4. Préparation des inoculums	38
II.4.2.4.1. Enrichissement	38
II.4.2.4.2. Préparation de la suspension bactérienne	39
II.4.2.5. Ensemencement / Test antibactérien	39
II.4.2.6. Lecture	40

II.4.2.7. Test de sensibilité aux antibiotiques : antibiogramme	40
II.4.2.7.1. Principe	40
II.4.2.7.2. Mode opératoire	41

RESULTATS ET DISCUSSION

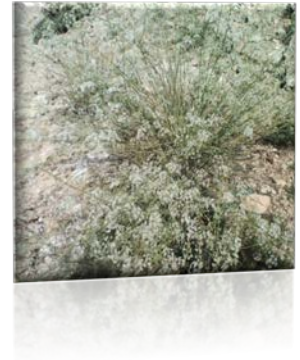
I. Teneur en eau de la plante d'étude	43
II. Obtention des extraits d'étude	43
III. Rendements des extraits d'étude	43
IV. Screening phytochimiques	45
V. Teneur des polyphénols totaux	45
VI. Détermination de l'activité antioxydante	47
VI.1. Tests par CCM (Chromatographie sur couche mince)	47
VI.2. Test antiradicalaire contre le DPPH mesuré au spectrophotomètre	48
VII. Détermination de l'activité antibactérienne	49
VII.1. Coloration de Gram	49
VII.2. Test de sensibilité aux extraits d'étude	50
IV.3. Test de sensibilité aux antibiotiques : antibiogramme	52

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE



INTRODUCTION



INTRODUCTION

Les dernières décennies sont marquées par l'intérêt particulier porté sur la mise en valeur des plantes à intérêt médicinal, comme source de substances bioactives naturelles. De ce fait, de nombreuses études s'intéressent, de plus en plus, aux effets thérapeutiques des molécules d'origine naturelle. Parmi ces molécules potentiellement intéressantes, les antioxydants et les antibactériens, tels que les polyphénols, ont été particulièrement étudiés en raison de leur utilisation dans les domaines pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires pour leurs effets bénéfiques pour la santé (**El-Haci et al. 2012**).

L'Algérie possède une flore extrêmement riche et variée. Cette richesse spécifique est associée à une originalité sur le plan systématique (nombreuses plantes endémiques), sur le plan phytochimique (spécificité des substances biosynthétisées) et sur le plan pharmacologique. Cette richesse et cette originalité font que l'étude de la flore d'Algérie, présente un intérêt scientifique « fondamental » pour la connaissance et le savoir dans le domaine de l'ethnobotanique, de la pharmacopée traditionnelle mais, également, un intérêt scientifique « appliqué » dans le domaine de la valorisation des substances naturelles (**Nouioua, 2012**). Partant de ces constats, nous avons envisagé d'analyser le potentiel biologique d'une plante médicinale *Pituranthos scoparius*.

Pituranthos scoparius est parmi les plantes médicinales qui sont les moins fréquemment employées dans notre pays à cause de la méconnaissance de sa valeur thérapeutique, bien que les extraits de cette plante médicinale sont utilisés traditionnellement pour le traitement des diarrhées et de l'eczéma (**Boutaghane et al, 2004**).

Dans cette présente étude, nous avons fixé les objectifs suivants :

- ✓ Evaluation du potentiel antioxydant et antibactérien des extraits organiques de la plante.
- ✓ Analyse quantitative des polyphénols totaux.
- ✓ Screening phytochimique de la plante.

Notre travail sera structuré en trois parties : synthèse bibliographique, matériels et méthodes, résultats et discussion et se termine par conclusion et perspectives.

L'étude bibliographique est consacrée à la description botanique de la plante d'étude et aux composés phénoliques.

Dans la partie Matériels et Méthodes, nous décrivons en détail les méthodes utilisées lors de la réalisation du travail expérimental.

Dans la troisième partie, nous traitons et discutons les résultats obtenus lors de cette étude et nous terminons par conclusion et perspectives.



SYNTHESE

BIBLIOGRAPHIQUE



I. Présentation de l'espèce *Pituranthos scoparius*

I.1. Description botanique

Pituranthos fait partie des ombellifères sahariennes qui diffèrent les unes des autres et leur détermination n'offre pas de grandes difficultés (**Ozenda, 1958**).

Le genre *Pituranthos* possède plus de vingt espèces, dont certaines sont spécifiques à l'Afrique du nord (**Quezel et Santa, 1963; Kaabeche, 1990**) et sont souvent rencontrées dans les régions arides ou désertiques. Le potentiel floristique Algérien de ce genre comporte les espèces suivantes :

- *Pituranthos chloranthus*, espèce particulièrement moins présente ;
- *Pituranthos scoparius*, l'objet de notre travail, espèce abondante dans les Aurès ;
- *Pituranthos battandieri* (Mair), endémique au Sahara marocain et l'Oranie (**Bellakhdar, 1997**).

Exclusivement, la distinction entre les espèces de *Pituranthos* est souvent difficile (**Ozenda, 1958**). En effet, elles ne se distinguent les unes des autres que par la couleur des fleurs et la taille de leur pédoncule (**Haba, 2002**).

Pituranthos scoparius appartient à la famille des Apiacées. C'est une plante vivace, aphyllé, éphédroïde, à tiges souvent très ramifiées, feuilles caulinaires, larges de 2-3 cm. Ses fruits sont plus longs que larges, hérissés de poils dressés. Les fleurs blanches, avec des pétales blancs et des veines étroites, groupées en ombelles latérales. La floraison commence à partir du mois de Février jusqu'à Octobre (**Quezel et Santa, 1963**).

I.2. Nomenclature

Nom botanique : *Pituranthos scoparius* (Coss et Dur) Benth. Hook.

Nom français : Pituranthos à balai.

Nom vernaculaire : Gozzih, Gouzzih, gouzzah

(<http://www.atlasbota.com/wpcontent/uploads/2013/10/pituranthos.pdf>)

I.3. Classification botanique

D'après **Quezel et Santa (1963)**, *Pituranthos scoparius* (Coss. & Dur.) Benth. & Hook est classé comme suit :

Règne : Plantae (végétal)

Embranchement : Spermaphytes

S/embranchement : Angiosperme

Classe : Magnoliopsida (Eudicote)

Ordre : Apiales

Famille : Apiacées

Genre : *Pituranthos*

Espèce : *scoparius*

Nom binomiale : *Pituranthos scoparius*.

I.4. Répartition géographique

Pituranthos scoparius est une espèce endémique qui se trouve dans le nord de l'Afrique, moins fréquente au Sahara Central, et fréquente sur le plateau du Tassili des Ajers et dans le Hoggar (**Ozenda ,1991**).

I.5. Propriétés thérapeutiques et emplois

En médecine traditionnelle, les tiges et les feuilles de *P. scoparius* sont utilisées pour le traitement de la rougeole, le rhumatisme, l'asthme, l'ictère, les troubles digestifs et les soins post-partum : spasmes des douleurs. Le décocté et l'infusion des feuilles et des fleurs sont utilisés dans le traitement de l'indigestion, maux de l'estomac et de l'abdomen. Elle est utilisée aussi contre les morsures de vipères et les piqûres de scorpions, certains recommandent l'application locale de la poudre des feuilles en cataplasme, qui soulagerait également les douleurs rhumatismales (**Boukef, 1986 ; Didiet et al., 2003**).

Les huiles obtenues des tiges et des graines du *P. scoparius* sont largement utilisées comme remède contre le rhumatisme et la fièvre (**Al kadi, 1989**).

Selon les botanistes de notre région, cette espèce est utilisée pour abaisser le taux de triglycérides et de cholestérol. L'espèce *P. chloranthus* est employée en cataplasmes sur la tête et contre les céphalées (Bellakhdar, 1997). Les espèces *triradiatus* et *tartuosus*, sont utilisées par la population bédouine contre les douleurs d'estomac, les parasites intestinaux ou comme agent régulateur de la menstruation chez les femmes (Novak *et al.*, 1966).

II. Les métabolites secondaires

Tous les êtres vivants ont un métabolisme primaire qui fournit les molécules de base (acides nucléiques, lipides, protéines, acides aminés et glucides) (Ferrari, 2002). Les plantes produisent, en plus, un grand nombre de composés qui ne sont pas issus directement lors de la photosynthèse, mais résultent des réactions chimiques ultérieures. Ces composés sont appelés **métabolites secondaires**. Ils constituent un groupe de produits naturels qui sont exploré pour des propriétés très diverses : antioxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires, anticancéreuses etc... (Epifano *et al.*, 2007).

Les produits du métabolisme secondaire sont en très grand nombre, plus de 200.000 structures définies et sont d'une variété structurale extraordinaire mais sont produits en faible quantité (Hartmann, 2007). Ils sont classés en plusieurs composants chimiques dont les plus répandus sont : les polyphénols, les alcaloïdes, les terpènes (Cuendet, 1999 ; Vermerris, 2006).

II.1. Les composés phénoliques

Ce sont des dérivés non azotés dont le ou les cycles aromatiques sont issus de deux grandes voies métaboliques : la voie du shikimate et celle de l'acétate (Hennebelle., 2006). Plusieurs milliers ont été caractérisés jusqu'à aujourd'hui. Bien qu'étant très diversifiés, ils ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques, portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles, auxquelles est directement lié, au moins, un groupe hydroxyle libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside (Bruneton, 1999 ; Macheix *et al.*, 2005).

Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) à des proportions variables. Les plus représentés sont les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tannins (**Lugasi et al., 2003**).

Les composés phénoliques font l'objet de nombreuses recherches en générale et les flavonoïdes en particulier, sont très poussés en raison de leurs diverses propriétés et rôles biologiques.

- **Chez les végétaux** : Les composés phénoliques participent à deux principaux processus de l'activité des plantes : la photosynthèse et la respiration. De plus, ils interviennent dans d'autres processus tels que : la croissance, la germination, la morphogénèse des tiges et dans le processus de lignification (**Merghem, 2009**). Ils jouent un rôle important dans l'interaction de la plante avec son environnement, en particulier contre les radiations UV, les attaques microbiennes, lutte contre les prédateurs (**Moheb et al, 2011**).

- **Chez l'Homme** Les polyphénols présents dans les aliments consommés sont, en effet, capables d'abaisser la pression artérielle, d'empêcher l'oxydation des LDL (lipoprotéines de faible densité), d'inhiber la prolifération des cellules musculaires lisses vasculaires, d'empêcher l'agrégation plaquettaire et de stabiliser les cellules immunitaires (**Martin et Andrantsitohaina, 2002**). Ils ont été décrits comme étant des antioxydants, des anti-agrégants plaquettaires, des anti-inflammatoires, des anti-allergènes, des anti-thrombotiques et des antitumoraux (**Hanhineva, 2010**).

II.1.1. Les flavonoïdes

Ce sont des métabolites secondaires ubiquitaires des plantes. Plus de 4000 flavonoïdes naturels ont été identifiés à ce jour. Ce sont des pigments responsables de la coloration jaune, orange et rouge de différents organes végétaux (**Milane, 2004 ; Lhuilier, 2007**). Tel est le cas des flavonoïdes jaunes (chalcones, auronnes, flavonols), des anthocyanosides rouges, bleus ou violets. On distingue 5 groupes majeurs de flavonoïdes chez les plantes (**Larkins et Wynn, 2004**) :

- les flavones,
- les flavonols (réputés les plus antioxydants) et les procyanidines,
- les anthocyanines,
- les hydroxycinnamates (abondants dans les fruits),

- les flavanones.

Ils ont tous le même squelette de base à quinze atomes de carbones qui sont arrangés à une configuration C6-C3-C6 de type phényl-2-benzopyrane (Yao *et al.*, 2004).

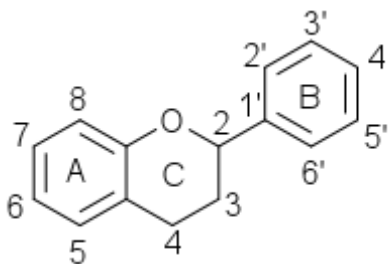
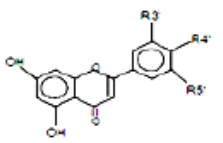
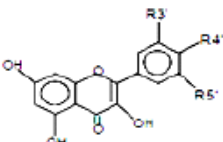
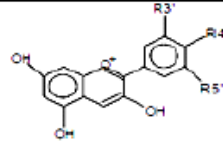
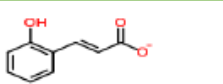
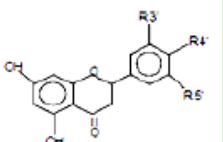


Figure 01 : Structure de base des flavonoïdes (Lhuilier, 2007).

Tableau 01: Quelques classes des flavonoïdes (Narayana *et al.*, 2001; Erdman *et al.*, 2007).

Groupe de Flavonoïde	Structure	Caractéristiques
Les flavones		Le groupe le plus abondant des composés phénoliques. Ils se diffèrent des flavonols seulement par le manque d'un OH libre en C3. Ce qui affecte ainsi leur absorption aux UV, mobilité chromatographique et les réactions de coloration.
Les flavonols		Le groupe le plus abondant des composés phénoliques.
Les anthocyanines		Représentent le groupe le plus important des substances colorées. Ces pigments hydrolysables contribuent à la coloration des angiospermes.
Les hydroxycinnamates		Sont de puissants antioxydants, mais n'ont pas d'impact sensoriel sauf lorsque oxydés, ils peuvent former des pigments bruns qui ont finalement précipité.
Les flavanones		Sont caractérisés par l'absence de la double liaison C2-C3. Le flavanone le plus abondant est la naringénine, isolée pour la première fois à partir des écorces de citrus.

Ces composés sont connus pour être de puissants antioxydants, leurs mécanismes d'action peut être directe ou indirecte : piégeant les radicaux libres réactifs et les chélateurs d'ions métalliques, sont les effets directs les plus importants, réduction de la production de radicaux libres par inhibition d'enzymes et la régénération d'antioxydants liés à la membrane tels que l' α tocophérol sont des exemples de mécanismes indirects (**Rita et Farit, 2009**).

Ils ont un rôle très important dans le traitement du diabète (inhibant l'aldose réductase), de la goutte (inhibant la xanthine oxydase), des inflammations (inhibant la phospholipase etc...), des hépatites, des tumeurs, de l'hypertension, des thromboses (flavonols), des allergies et des affections bactériennes et viraux (anti-HIV) (**Anderson et al, 1996 ; Cowan, 1999 ; Yao et al, 2004**).

Une recherche bibliographique faite sur les espèces du genre *Pituranthos*, nous a permis de constater que ces plantes sont peu étudiées.

Quatre composés flavoniques : isorhamnétine, chrysoériol, isorhamnétine3-O-glucoside et isorhamnétine3-O-rutinoside avec un nouveau flavonoïde glucoside, le glucopyranosyloxy-3 trihydroxy-4', 5,7 méthoxy-3`flavone, 2"-O- α -Dapiofuranosyl 6"-O- β -L- rhamnopyranosyl, ont été isolés et identifiés dans l'espèce *Pituranthos tortuosus* (**Singab et al., 1998**).

II.1.2. Les tannins

Ils sont des composés polyphénoliques, solubles dans l'eau. Ils présentent les réactions caractéristiques des phénols en général, ils sont capables de précipiter les alcaloïdes, la gélatine, et les autres protéines (**Stevanovic, 2005 ; Merghem, 2009**).

D'après leurs structures et leurs propriétés, deux types de tannins sont distingués: les tannins hydrolysables et les tannins condensés.

II.1.2.1. Les tannins hydrolysables

Sont des dérivés de l'acide gallique ; ils sont des oligo ou des polyesters d'un sucre et d'un nombre variable d'acide phénol (**Figure 02**). Le sucre est généralement le D-glucose,

l'acide phénol et soit l'acide gallique dans le cas des gallotannins soit l'acide ellagique dans le cas des tannins classiquement dénommés ellagitannins (Bruneton, 1993 ; Cowan, 1999).

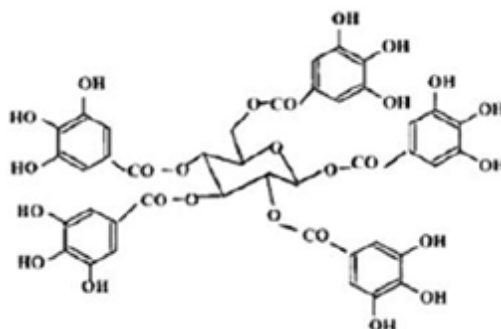


Figure 02 : Exemple d'un tannin hydrolysable (pentagalloylglucose) (Ignat *et al*, 2011).

II.1.2.2. Les tannins condensés

Sont distingués en procyanidine (dérivé de catéchine, épicatechine et leurs esters galliques) et en prodelphinidines (dérivés de gallocatéchine, épigallocatéchine et leurs esters galliques) (Valls *et al*, 2009 ; Ignat *et al*, 2011).

Les tannins sont impliqués dans la protection contre les infections fongiques et bactériennes. Ils favorisent la régénération des tissus et la régulation de la circulation veineuse, tonifient la peau dans le cas des rides (Kansole, 2009).

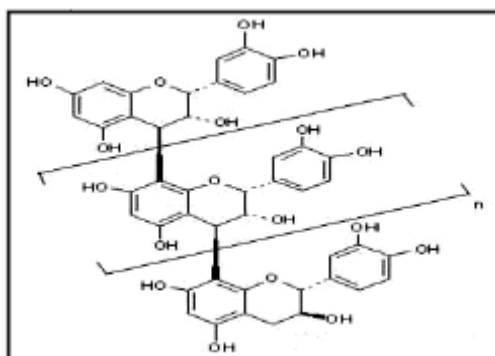


Figure 03 : Exemple d'un tannin condensé (polymère de procyanidine) (Ignat *et al*, 2011).

II.1.3. Les coumarines

Les coumarines sont des substances naturelles connues. Il s'agit de composés à neuf atomes de carbone possédant le noyau benzo pyranone-2 (**Figure 04**). Certaines familles d'Angiospermes élaborent des structures très variées : Fabaceae, Asteraceae et surtout Apiaceae et Rutaceae chez lesquelles sont rencontrées les plus complexes (**Brenrton, 1993**).

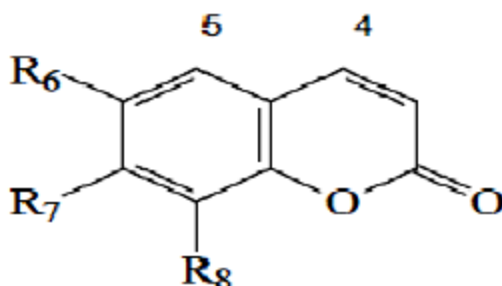


Figure 04 : Structure de base de coumarine (**Igor, 2002**).

Les coumarines sont parmi les composés phénoliques les plus connus ; se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses. Ils sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes (**Igor, 2002**). Ils sont connues par leurs activités cytotoxiques, antivirales, immunostimulantes, tranquillisantes, vasodilatatrices, hypotensives ; ils sont également bénéfiques en cas d'affections cutanées (**Gonzalez et Estevez, 1997**), se sont des toniques veineux aux propriétés anticoagulantes (au niveau du coeur) (**Lucienne, 2010**).

Les travaux réalisés par **Haba et al., (2004)** sur les racines de l'espèce *P. scoparius*, ont permis d'isoler deux nouveaux composés isocoumariniques : hydroxy-6 méthoxy-5 propyl-3. isocoumarine et diméthoxy-5,7 hydroxy-6 propyl-3 isocoumarine. (**Vernin et al., 1999 ; Vérité, 2004**).

II.1.4. Les quinones

Les quinones ou la benzoquinone ($C_6H_4O_2$), C'est l'un des deux isomères de la cyclohexadienedione. L'orthobenzoquinone est la 1,2-dione, alors que la parabenzoquinone, est la 1,4-dione.



Figure 05 : Structure de base des quinones (**Peter et al., 2003**).

Ce sont des substances colorées et brillantes, en général rouges, jaunes ou orange et possédant deux fonctions cétones. On trouve les quinones dans les végétaux, les champignons, les bactéries. Les organismes animaux contiennent également des quinones, comme par exemple la vitamine K, qui est impliquée dans la coagulation du sang. Les quinones sont utilisées dans les colorants, dans les médicaments et dans les fongicides (**Kansole, 2009**). Elles assurent souvent des fonctions biologiques essentielles chez les être vivants, en particulier, le transfert des électrons dans les mitochondries et les chloroplastes (**Macheix et al., 2005**).

II.2. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont un groupe de composés azotés et faiblement basiques issus, principalement, des végétaux. Ils présentent des réactions communes de précipitation. Après extraction, ils sont détectés par des réactions générales de précipitation fondées sur leur capacité de se combiner avec des métaux. La caractérisation de la présence d'alcaloïde peut se faire par précipitation à l'aide de plusieurs réactifs (**Kansole, 2009**).

Les propriétés toxiques ou médicamenteuses des alcaloïdes font, de ce groupe de métabolites secondaires un intérêt particulier. Au niveau du système nerveux central, ils

agissent comme dépresseurs (morphine, scopolamine) ou comme stimulants (caféine, etc...). Certains jouent le rôle d'anesthésiques locaux (cocaïne) (**Kansole, 2009**).

II.3. Les terpénoïdes

Les isoprénoïdes sont des composés issus de la condensation d'unités de base à 5 carbones de type isoprène. On parle également de composés terpéniques ou terpenoïdes, l'unité monoterpène correspondant à des molécules à 10 carbones formées à partir de deux unités isoprènes (**Figure 06**) (**Bruneton, 1999 ; Harbone, 1998**).

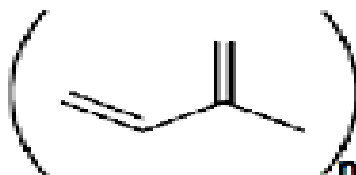


Figure 06 : Structure de base de la molécule isoprène (**Malecky, 2006**).

Ils existent chez toutes les plantes et représentent, de loin, la plus vaste catégorie de métabolites secondaires, avec plus de 22.000 composés décrits. Le terpénoïde le plus simple est un hydrocarbure, l'isoprène. Ils sont classés en fonction de leurs unités isoprène (**Peter et al, 2003**). On dénombre aujourd'hui 600 classes utilisées de nos jours en aromathérapie dont l'essor s'étend dans le domaine médical et cosmétique (**Lucienne, 2010**).



MATERIELS
ET
METHODES



I. Matériels

I.1. Matériel végétal

I.1.1. Récolte de la plante d'étude

La récolte de la plante *Pituranthos scoparius* (**Figure 07**) a eu lieu en pleine floraison au mois d'Octobre, dans la région de kissa, à 10 km de la wilaya de Tébessa.



Figure 07 : *Pituranthos scoparius*.

I.1.2. Conservation des échantillons d'étude

Après la récolte, la partie aérienne de la plante d'étude est nettoyée, étalée et séchée à l'abri de la lumière et de l'humidité. Après le séchage, le matériel végétal est broyé et conservé dans des sacs en papier.

I.1.3. Identification de la plante

L'espèce de la plante d'étude a été identifiée par M^{me} Hayoun Soraya, MAA au département des êtres vivants, faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie, université Larbi Tebessi, TEBESSA. (Quézel P., Santa S. 1962-1963)

I.2. Matériels destiné à la réalisation de l'extraction

I.2.1. Appareillage

Le tableau ci-après présente l'appareillage destiné pour l'extraction.

Tableau 02 : Liste d'appareils utilisés pour l'extraction.

Appareil	Références
Rotavapeur	BUCHI R 210
Balance de précision	ALS 286 4N
Etuve	Memmert
Balance analytique	DHAUS Scout SE

I.2.2. Verrerie et autres

- Ampoule à décanter de 1 L.
- Béchers.
- Eprouvettes graduées.

- Entonnoirs.
- Flacons en verre.
- Ecouvillons.
- Coton.
- Papier aluminium.
- Papier absorbant.
- Pissettes.

I.2.3. Solvants et solutés

- Ethanol.
- Méthanol.
- Ether de pétrole
- Dichlorométhane.
- Acétate d'éthyle.
- Eau distillée.

I.3. Matériels destiné à la réalisation de screening phytochimique

I.3.1. Appareillage

Ci-après la liste d'appareils destinés pour le screening phytochimique.

Tableau 03 : Liste d'appareils utilisés pour le screening phytochimique.

Appareil	Références
Balance analytique	DHAUS Scout SE
Bain-marie agitatif	GFL 1083
Plaque chauffante agitative	IKA RH basic 2
Bain de sable	WITEG CAT D 7813 staufen

I.3.2. Verrerie et autres

- Tubes à vis 16x160mm.
- Fioles jaugées.
- Béchers.
- Eprouvettes graduées.
- Entonnoirs.
- Erlen Meyers.
- Flacons en verre.
- Pipettes en verre de 1 mL.
- Pipettes en plastique de 5 mL.
- Cristallisoirs.
- Coton.
- Papier aluminium.
- Papier absorbant.
- Pissettes.

I.3.3. Réactifs et autres

- Réactif de Mayer.
- Acide chlorhydrique HCl.
- Acide acétique C₂H₄O₂.
- Acide acétique glacial.
- Acide sulfurique H₂SO₄.
- Chlorure ferrique FeCl₃.
- Chlorure de mercure HgCl₂.
- Iodure de potassium KI.
- Hydroxyde de sodium NaOH.

I.3.4. Solvants et solutés

- Ethanol.

- Méthanol.
- Ether de pétrole.
- Chloroforme
- Eau distillée stérile.

I.4. Matériels destiné à la réalisation du dosage de polyphénols totaux

I.4.1. Appareillage

Le dosage des polyphénols totaux nécessite l'appareillage ci-après.

Tableau 04 : Liste d'appareils utilisés pour le dosage de polyphénols totaux.

Appareil	Références
Spectrophotomètre UV-VISIBLE 1700	PharmaSpec SHIMADZU
Balance de précision	ALS 286 4N
Plaque chauffante agitative	IKA RH basic 2
Etuve	Memmert
Micropipettes 100- 1000µL	Laborgerate GmbH
Vortex	VWR VV3

I.4.2. Verrerie et autres

- Tubes à hémolyse de 5 mL.
- Embouts jaunes et bleus.
- Epprouvettes graduées.
- Entonnoirs.
- Flacons en verre de 50 et 200 mL.
- Spatules.
- Portoirs.
- Pissettes.

I.4.3. Réactifs et autres

- Réactif de Folin-Ciocalteu.
- Carbonate de sodium Na₂CO₃.
- Acide gallique.

I.4.4. Solvants et solutés

- Ethanol.
- Méthanol.
- Eau distillée stérile.
- Diméthyle sulfoxyde.

I.5. Matériels destiné à la réalisation de l'étude de l'activité anti oxydante**I.5.1. Appareillage**

Ci-après la liste d'appareils nécessaire pour l'étude de l'activité antioxydante.

Tableau 05 : Liste d'appareils utilisés pour l'étude de l'activité antioxydante.

Appareil	Références
Spectrophotomètre UV-VISIBLE 1700	PharmaSpec SHIMADZU
Balance de précision	ALS 286 4N
Plaque chauffante agitative	IKA RH basic 2
Etuve	Heraeus Typ 5042
Micropipettes 100- 1000µL	Laborgerate GmbH
Vortex	VWR VV3
Lampe UV	

I.5.2. Verrerie et autres

- Tubes à hémolyse de 5 mL.
- Embouts jaunes et bleus.
- Bêchers.
- Epprouvettes graduées.
- Entonnoirs.
- Verre à montre.
- Flacons en verre de 200 mL.
- Portoirs.
- Spatules.
- Vaporisateur.
- Plaques CCM.
- Papier absorbant.
- Papier aluminium.

I.5.3. Réactifs

- 2,2 diphényl-1 picryl hydrazyl (DPPH).

I.5.4. Solvants et solutés

- Ethanol.
- Méthanol.
- Eau distillée.
- Diméthyle sulfoxyde DMSO.
- Ether de pétrole.
- Dichlorométhane.
- Ethyle acétate.

I.6. Matériels destiné à la réalisation de l'étude de l'activité antibactérienne

I.6.1. Appareillage

L'étude de l'activité antibactérienne nécessite l'appareillage listé ci-après.

Tableau 06 : Liste d'appareils utilisés pour l'étude de l'activité antibactérienne.

Appareil	Références
Balance de précision	ALS 286 4N
Plaque chauffante agitative	IKA RH basic 2
Microscope optique	OPTICA AXIOM 2000
Etuve	DLAB TECH DAI HAN co LTD
Etuve	Heraeus Typ 5042
Bec bunzen	
Micropipettes 100- 1000 μ L	Laborgerate GmbH
Micropipettes 5-50 μ L	SPINREACT A050804
Vortex	VWR VV3

I.6.2. Verrerie et autres

- Tubes à vis 16x160mm.
- Embouts jaunes et bleus.
- Eprovettes graduées.
- Entonnoirs.
- Ecouvillons.
- Pipettes Pasteur.
- Boîtes de Pétri.
- Cristallisoirs.
- Papier aluminium.

- Papier absorbant.

I.6.3. Réactifs et autres

- Tween 20.
- Milieu solide Mueller-Hinton (MH).
- Gélose nutritive.
- Bouillon nutritif (BN).
- Violet de gentiane.
- Lugol.
- Fushine.

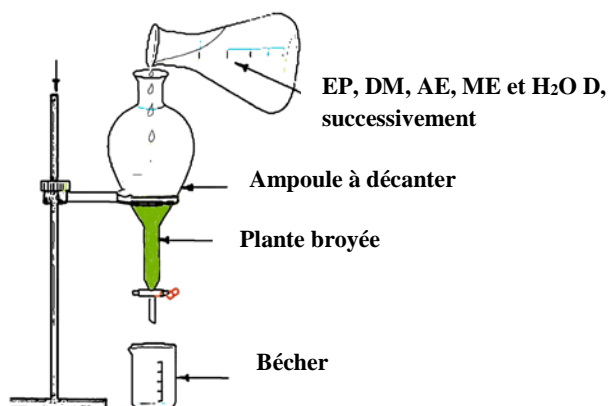
I.6.4. Solvants et solutés

- Ethanol.
- Méthanol.
- Eau distillée stérile.
- Eau physiologique stérile

II. Méthodes

II.1. Extraction des composés phénoliques par les solvants organiques

Le but de cette extraction est de dissoudre sélectivement les composés phénoliques contenus dans la poudre végétale par des solvants de polarité croissante : éther de pétrole (EP), dichlorométhane (DM), acétate d'éthyle (AE), méthanol (ME), et l'eau distillée (H₂O D) (**Figure 08**).



Macération.

Filtration (papier filtre, coton).

Evaporation du macérât (à l'air libre et par rotavapeur)

Figure 08 : Extraction de *P.scoparius* par des solvants de polarité croissante.

EP : Ether de pétrole. **DM** : Dichlorométhane. **AE** : Acétate d'éthyle. **ME** : Méthanol.
H₂O D : Eau distillée

Une fois les extraits sont obtenus, les rendements correspondants sont déterminés selon la formule suivante :

$$\text{Rendement \%} = \frac{M_0}{M_1} \times 100$$

M₀ : Masse en gramme de l'extrait brut sec.

M₁ : Masse en gramme de la matière végétale initiale sèche.

II.2. Screening phytochimique

Le screening phytochimique est un premier pas dans la recherche des principes actifs et de métabolites secondaires d'une plante ou d'un extrait.

II.2.1. Recherche des Stérols et terpènes

En présence de l'acide acétique et de l'acide sulfurique concentré, l'extrait organique étheré contenant les stérols et les terpènes donne une couleur violette ou marron devenant grise (Figure 09) (Bouquet, 1972 ; Solfo, 1973).

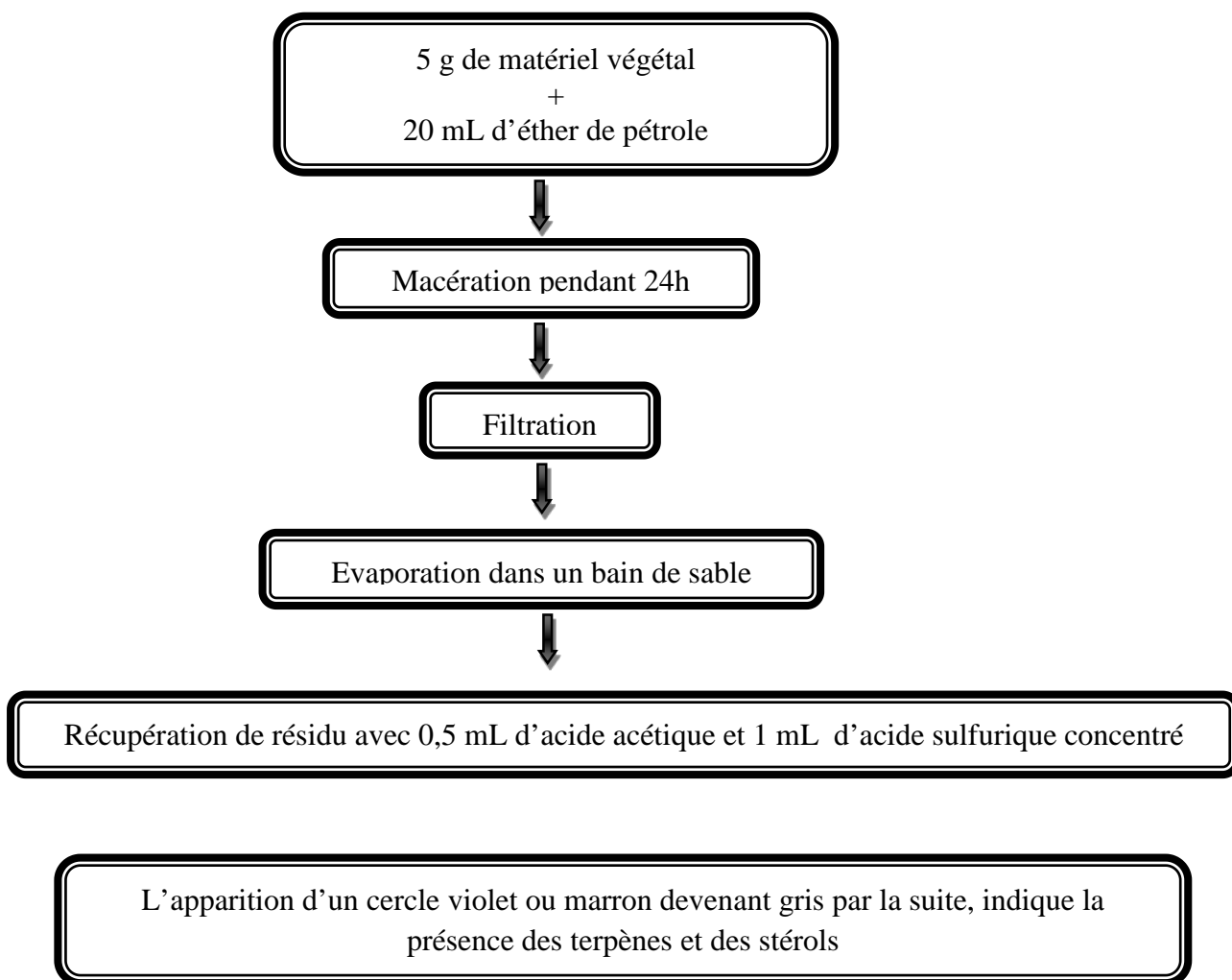


Figure 09 : Recherche des Stérols et terpènes (Bouquet, 1972 ; Solfo, 1973).

II.2.2. Recherche des alcaloïdes

La mise en évidence des alcaloïdes consiste à la précipitation à l'aide de réactif de MAYER (Figure 10) (Bouquet, 1972).

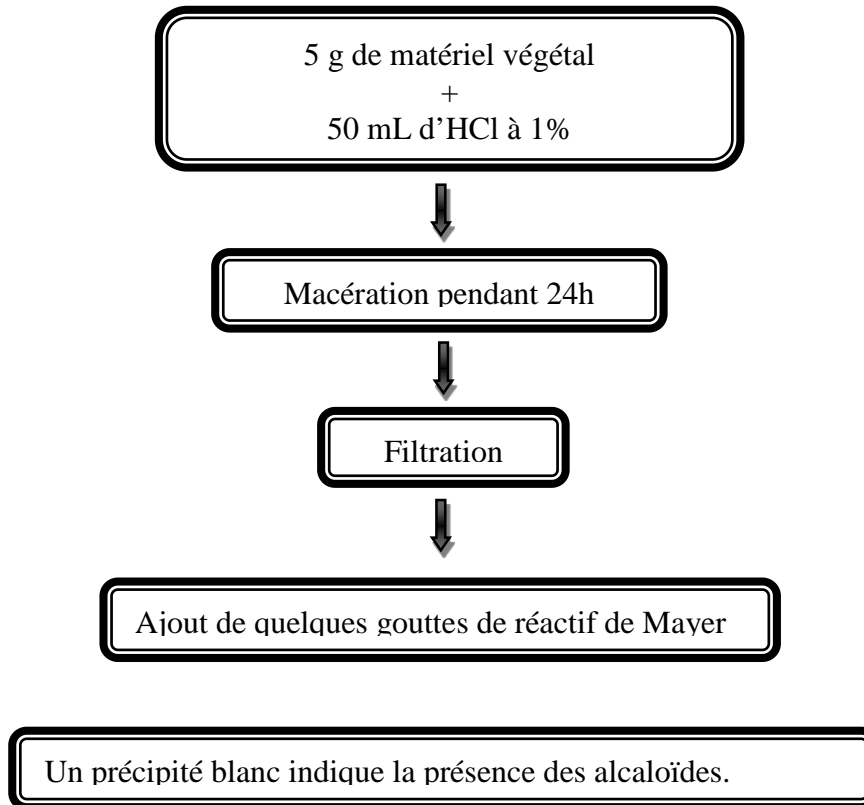


Figure 10 : Recherche des alcaloïdes (Bouquet, 1972).

II.2.3. Recherche des cardinolides

En présence de de l'acide acétique glaciale, le chlorure ferrique et l'acide sulfurique concentré, l'extrait aqueux mélangé avec l'éthanol et le chloroforme, contenant les cardinolides donne une couleur verte bleue (**Figure 11**) (**Bruneton, 1999**).

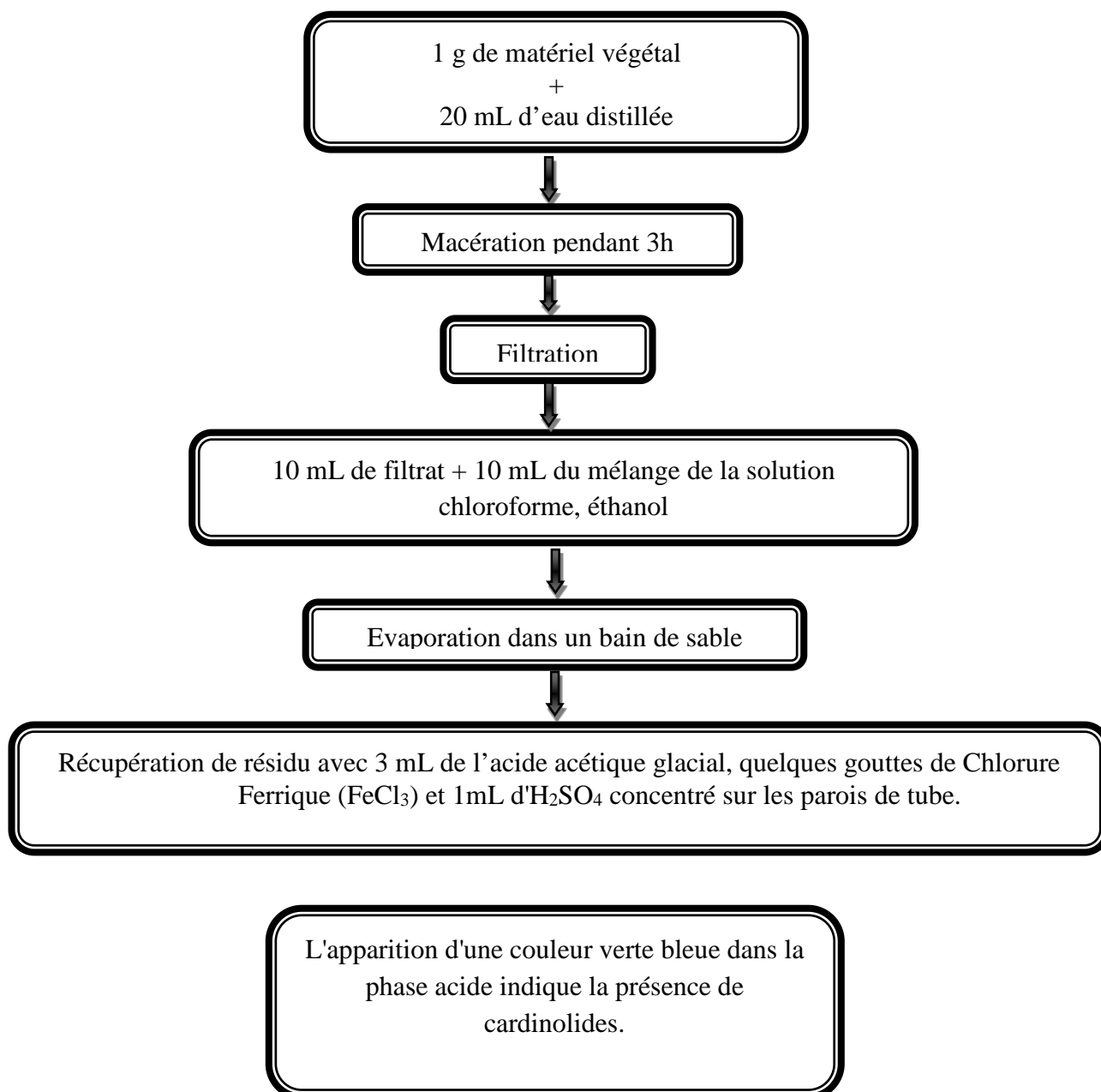


Figure 11 : Recherche des cardinolides (**Bouquet, 1972 ; Solfo, 1973**).

II.2.4. Recherche des saponines

Par agitation, une mousse persistante dont la hauteur est mesurable apparait dans les solutions de saponines (**Figure 12**) (**Dohou et al., 2003**).

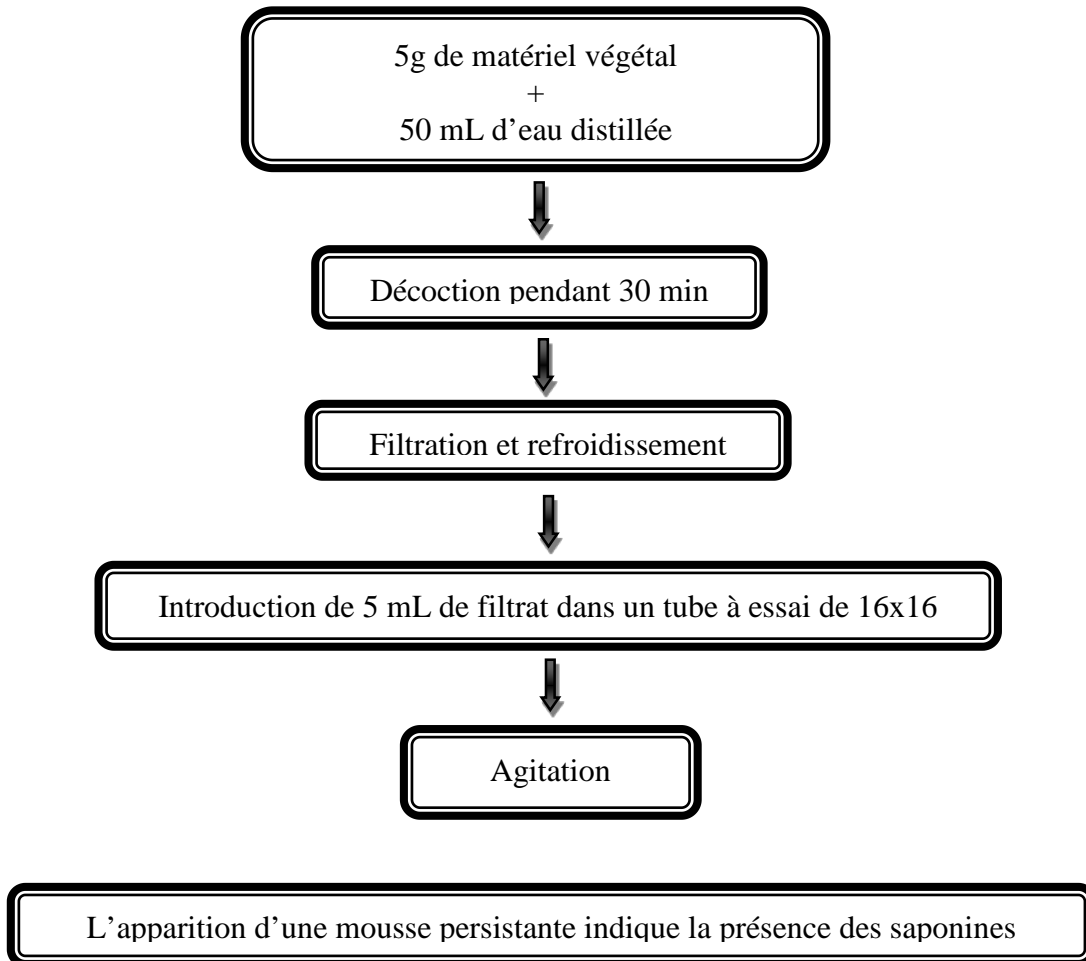


Figure 12 : Recherche des saponines (**Dohou et al., 2003**).

II.2.5. Recherche des leucoanthocyanes

En présence de NaOH 1N et de HCl concentré, l'apparition d'une couleur rouge confirme la présence des leucoanthocyanes (**Figure 13**) (**Dohou et al., 2003**).

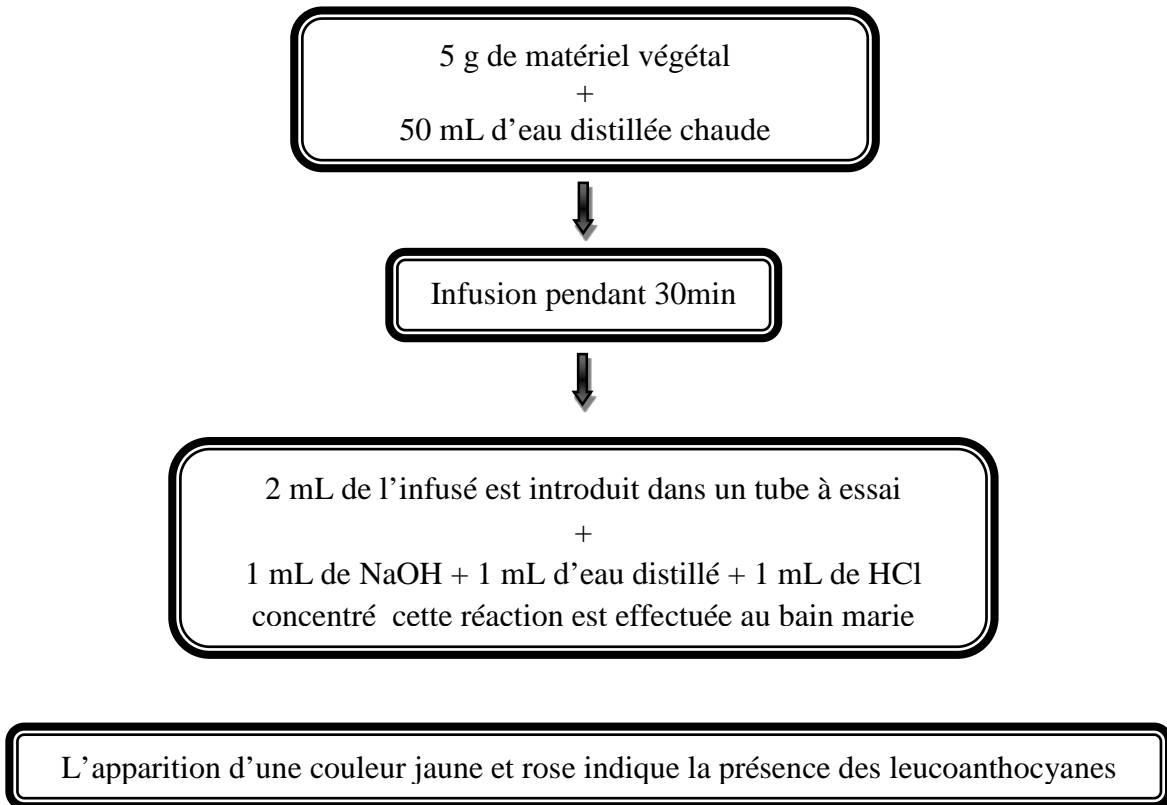


Figure 13 : Recherche des leucoanthocyanes (**Dohou et al., 2003**).

II.2.6. Recherche des flavonoïdes

En présence de NaOH 1N, de HCL concentré et des copeaux de magnésium, les flavonoïdes donnent des réactions de coloration caractéristique (**Figure 14**) (**Dohou et al., 2003**).

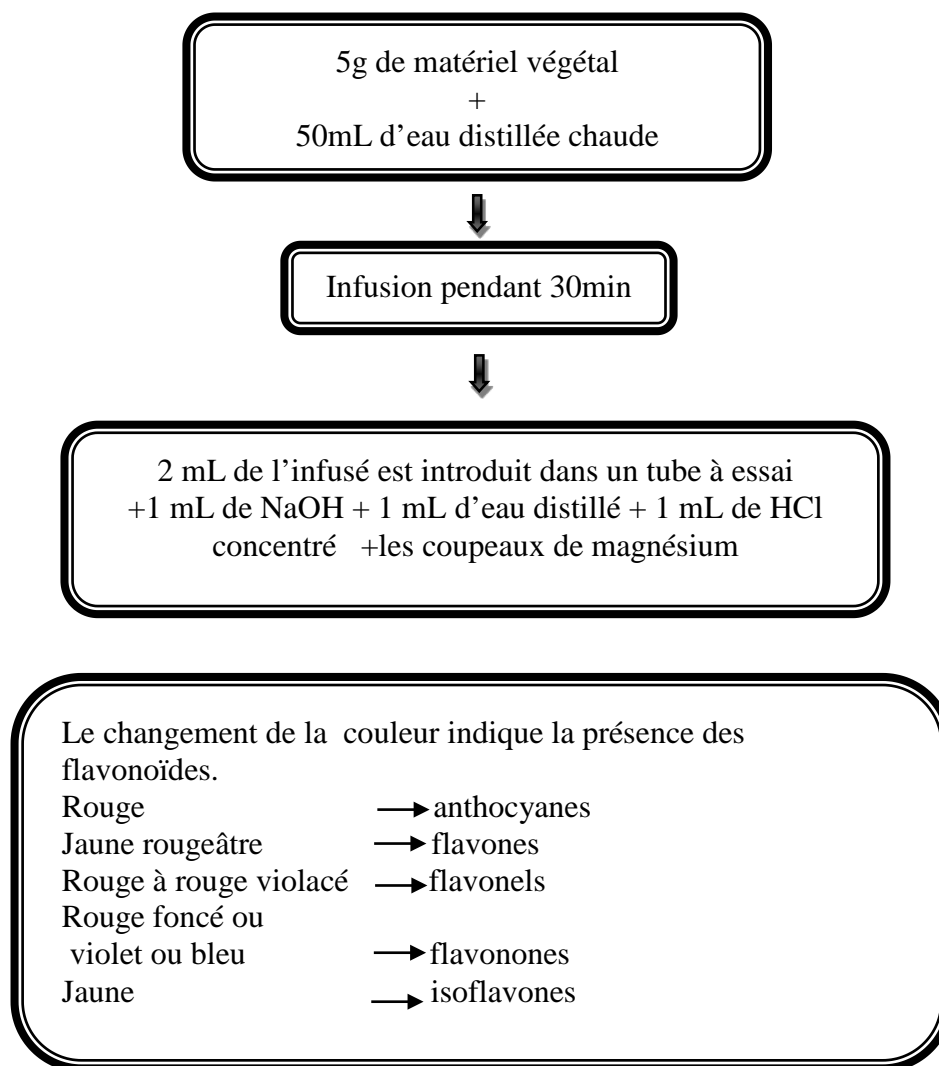


Figure 14 : Recherche des flavonoïdes (**Dohou et al., 2003**).

II.2.7. Recherche des quinones

En présence de NaOH à 10%, les solutions des quinones présentent une coloration caractéristique virant du rouge au violet (**Figure 15**) (**Dohou et al., 2003**).

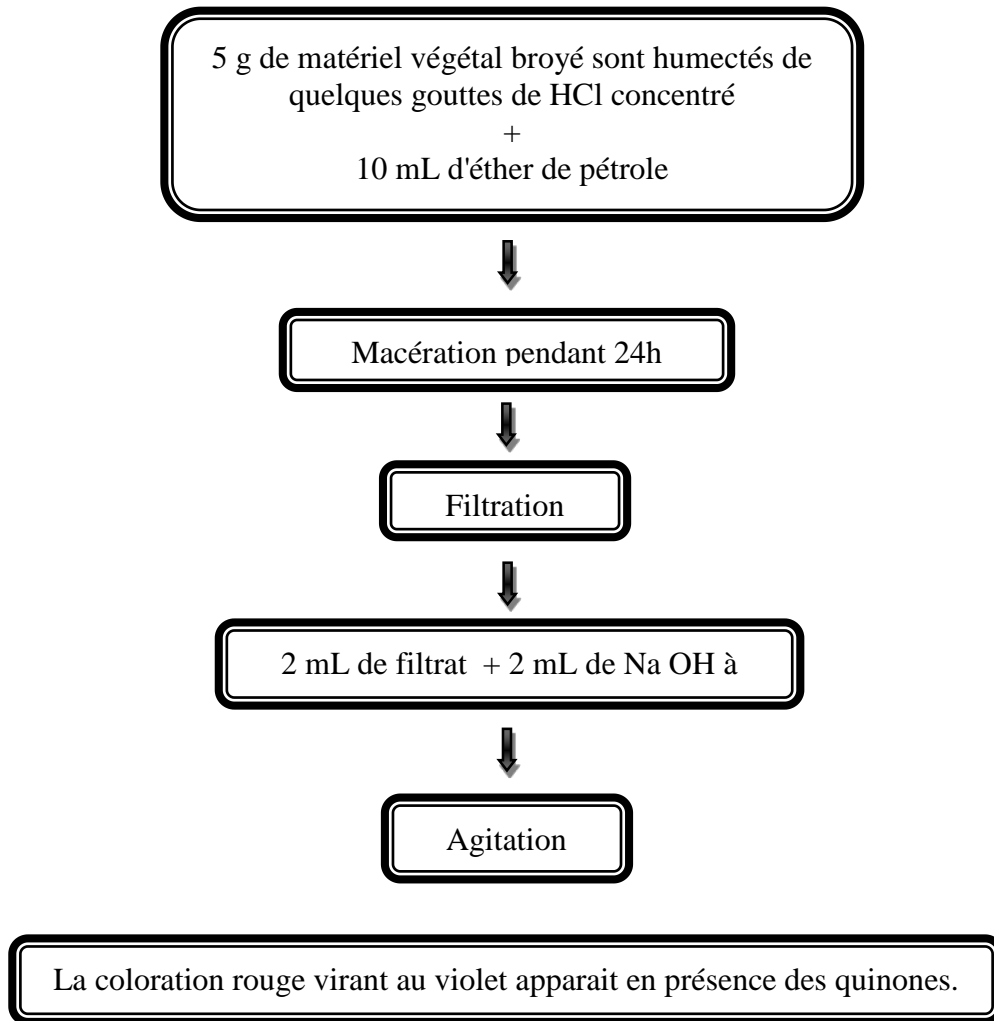


Figure 15 : Recherche des quinones (**Dohou et al., 2003**).

II.2.8. Recherche des tannins

En présence de chlorure ferrique à 1%, les extraits méthanoliques tanniques des colorations bleues noires ou brunes verdâtres (**Figure 16**) (**Rizk, 1982**).

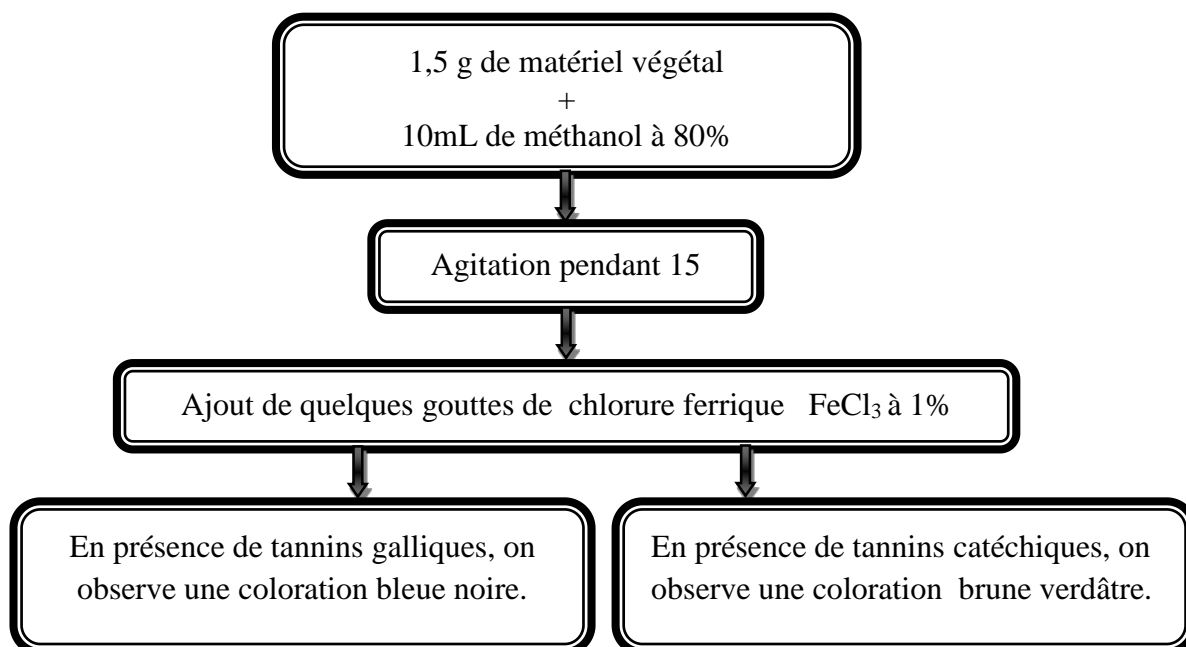


Figure 16 : Recherche des tannins (**Rizk, 1982**).

II.3. Détermination du taux des composés phénoliques totaux

II.3.1. Principe

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par une méthode adaptée par **Singleton et Rossi (1965)** avec le réactif de Folin-Ciocalteu (**Marian et Fereidoon, 2004**).

Le réactif est formé d'acide phosphotungstique $H_3PW_{12}O_{40}$ et d'acide phosphomolybdique $H_3PMo_{12}O_4$ qui sont réduits, lors de l'oxydation des polyphénols, en oxydes bleus de tungstène. (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_3), ce qui nous aide à doser les polyphénols dans le visible, à une longueur d'onde de l'ordre 765 nm.

II.3.2. Mode opératoire

Un volume de 200 μ L des solutions des quatre extraits (0,5 mg/mL) de *Pituranthos scoparius*, est ajouté à 1 mL de réactif de Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois dans l'eau distillée). Après 4 mn, 800 μ L de carbonates de sodium (75 g de Na_2CO_3 dans 1 litre d'eau distillée) sont additionnés. Après agitation, l'ensemble est incubé à l'ombre pendant 2 heures, puis la lecture est faite à 765 nm par un spectrophotomètre UV.

L'acide gallique (00-167 μ g/mL) est le standard utilisé pour établir la courbe d'étalonnage, à partir de laquelle la concentration des polyphénols totaux des extraits est calculée (**Li et al. 2007**). Répéter les opérations en triplicata pour deux expériences.

II.3.3. Méthode de calcul

La concentration en composées phénoliques totaux est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique ($y = 0,0095 x - 0,0103$).

Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait (μ g EAG/mg d'extrait) et selon la moyenne des valeurs obtenues \pm l'écart type (SD).

II.4. Tests d'activités biologiques

II.4.1. Détermination de l'activité antioxydante (Test d'activité anti DPPH)

II.4.1.1. Tests par CCM (Chromatographie sur couche mince)

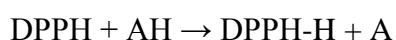
Réduction du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle : DPPH

Il s'agit de déposer des extraits sur des plaques CCM de gel de silice en aluminium sans être développées. Après séchage, les plaques CCM sont giclées avec une solution méthanolique à 2 mg/mL de DPPH. Des activités antiradicalaires apparaissent sous forme de spots de couleur jaune-blanc sur fond violet (**Cavin, 1999**).

II.4.1.2. Test antiradicalaire contre le DPPH mesuré au spectrophotomètre

II.4.1.2.1. Principe

La réduction du radical libre DPPH par un antioxydant, peut être suivie par spectrophotométrie UV-visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm, provoquée par la présence des extraits (Wu, 2007). Le DPPH, initialement violet, se décolore lorsque l'électron célibataire s'apparie :



où AH est un composé capable de céder un H au radical DPPH.

Cette décoloration est représentative de la capacité des extraits à piéger ces radicaux libres, indépendamment de toutes activités enzymatiques.

Dans ce test, le substrat est un radical stable qui, en réagissant avec une molécule antioxydante, se transforme en DPPH-H (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine) avec perte de son absorbance caractéristique à 517 nm. Les réactions ont lieu à température ambiante et en milieu méthanolique, qui permet une bonne solubilisation de la plupart des antioxydants. Ce test est très utilisé car il est rapide, facile et non couteux (Figure 17) (Hadbaoui, 2012).

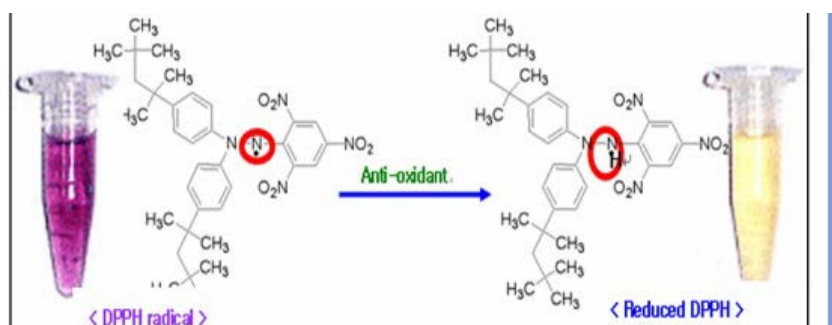


Figure 17 : Forme libre et réduite du DPPH.

(<http://www.naturalsolution.co.kr/tech21e.html>)

II.4.1.2.2. Mode opératoire

La méthode est réalisée par un test antiradicalaire contre le DPPH mesuré au spectrophotomètre selon le protocole de **Loo et al., (2008)**.

Une solution méthanolique de 3 mL de DPPH (0.037 mg/mL) est mise dans un tube à essai sec et stérile. Par la suite, 100 µL de solutions des extraits sont ajoutés. Le mélange est vigoureusement agité pendant 30 secondes à l'aide du vortex. Après une incubation pendant 30 mn à l'abri de la lumière et à température ambiante, les absorbances sont mesurées à 517 nm contre le blanc, qui contient du méthanol, le contrôle contient 100 µL de méthanol et 3 mL de solution DPPH.

Répéter les opérations en duplicata pour deux expériences.

II.4.1.2.3. Méthode de calcul

L'évaluation de l'activité antiradicalaire est exprimée en pourcentage selon la relation suivante :

$$\% d' inhibition = \left(\frac{Abs\ 1 - Abs\ 2}{Abs\ 1} \right) \times 100$$

Abs 1 : Absorbance du contrôle, Abs 2 : Absorbance de l'extrait.

Les résultats expérimentaux sont exprimés selon la moyenne des valeurs obtenues \pm l'écart type (SD).

II.4.2. Détermination de l'activité antibactérienne (diffusion en milieu gélosé)

II.4.2.1. Principe

Les diamètres des zones d'inhibition (DZI) ont été déterminés in vitro sur deux bactéries, selon la méthode de diffusion en milieu solide sur milieu gélose de Mueller-Hinton, telle que décrite par **Kirby-Bauer et al., (1966)** et reprise par **Kechkar (2008)**.

II.4.2.2. Bactéries d'étude

Dans la présente étude, nous avons utilisé deux souches bactériennes fournies par l'American Type Culture Collection (ATCC).

II.4.2.2.1. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 (**Figure 18**) nous a été fournie par le laboratoire de Microbiologie, université Badji Mokhtar, ANNABA. La souche bactérienne conservée à 4 C° dans des tubes à vis contenant de la gélose nutritive inclinée.

P. aeruginosa ne sera souvent sensible qu'à quelques antibiotiques : ticaracilline avec acide clavulanique, gentamycine, ciprofloxacine, ceftazidime, et pipéracilline seule ou avec ajout de tazobactam et acide borique. En 2008, les fluoroquinolones, la gentamycine ou l'imipénem sont encore efficaces, mais uniquement sur quelques souches bactériennes. *P. aeruginosa* est résistant à un grand nombre d'antibiotiques. (**Mann et al., 2000**).

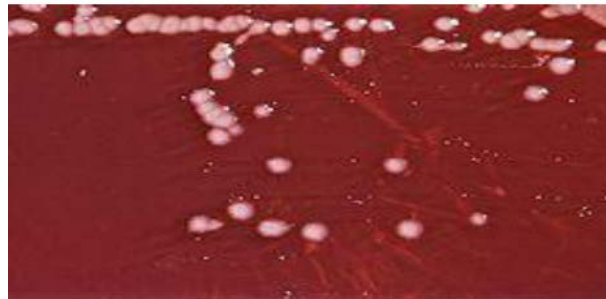


Figure 18 : *Pseudomonas aeruginosa* au microscope électronique à balayage (**Mann et al., 2000**).

II.4.2.2.2. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus ATCC 25923 nous a été fourni par Mr MENASRIA Taha, MAA au département de Biologie Appliquée, Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Larbi Tébessi, TEBESSA.

Staphylococcus aureus est sensible à de nombreux antibiotiques : oxacilline, cloxacilline, cotrimoxazole, amoxicilline- acide clavulanique, certaines cephalosporines de première génération, ciprofloxacine (<http://www.em-consulte.com/rmr/article/143522>).

Staphylococcus aureus est résistant à un grand nombre d'antibiotiques : les glycopeptides, vancomycine, teicoplanine, macrolides, quinolones...etc. (Claire, 2008).

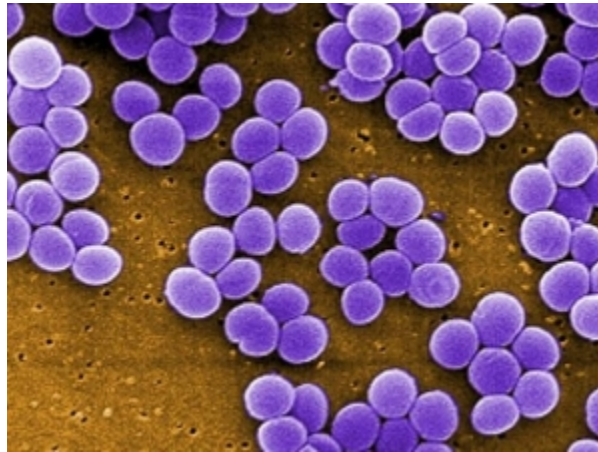


Figure 19 : *Staphylococcus aureus* au microscope électronique à balayage (<https://www.santelog.com/news/infection-plaies-cicatrisation/un-staphylocoque-dore-d-origine-communautaire-hautement-pathogene-7510-lirelasuite.htm>).

II.4.2.3. Coloration de Gram

La pureté des bactéries a été confirmée par la coloration de Gram.

II.4.2.3.1. Principe

La coloration de Gram permet de distinguer les bactéries Gram positif (+) et les bactéries Gram négatif (-). Elle doit son nom au bactériologiste Danois Hans Christian Gram qui a mis au point le protocole en 1884. C'est la méthode de coloration la plus utilisée en bactériologie

médicale. Elle permet de mettre en évidence les propriétés de la paroi bactérienne et d'utiliser ces propriétés pour les distinguer et les classer. Son avantage est de donner une information rapide sur les bactéries présentes dans un produit ou un milieu, tant sur le type que sur la forme (Beveridge, 1990).

II.4.2.3.2. Mode opératoire

II.4.2.3.2.1. Préparation et fixation du frottis bactérien

Un ensemencement d'une colonie de la souche à analyser, est fait par une goutte d'eau physiologique stérile, sur une lame de verre propre. Le frottis obtenu est séché à proximité de la flamme d'un bec Bunsen, puis fixé par des passages rapides de la lame sur la même flamme.

II.4.2.3.2.2. Coloration

La préparation est recouverte de colorant (bleu de gentiane) et laissée en contact avec ce dernier pendant 1 mn. Après rinçage à l'eau de robinet, la lame est recouverte d'une solution de lugol (1 %) pendant 1 mn, puis décolorée avec de l'éthanol durant 1 mn. Après rinçage à l'eau de robinet, la lame est recolorée par la fushine pendant 1 mn. La préparation est de nouveau lavée à l'eau de robinet, puis séchée entre deux couches de papier buvard. Elle est finalement recouverte d'une goutte d'huile d'immersion et observée sous microscope optique au grossissement x 100.

- Les microorganismes Gram (+) apparaissent violets.
- Les microorganismes Gram (-) apparaissent roses.

II.4.2.4. Préparation des inoculums

II.4.2.4.1. Enrichissement

Deux colonies bien séparées et uniformes des espèces bactériennes concernées, ont été prélevées, à l'aide d'une anse de platine, pour être homogénéisées dans 5 mL de bouillon nutritif

(25 g de BN dans un litre d'eau distillée stérile), puis portées à l'incubation pendant 18-24 h à 37°C dans l'étuve.

Pour chaque bactérie préparer trois tubes à vis.

II.4.2.4.2. Préparation de la suspension bactérienne

Pour les souches bactériennes ATCC enrichies dans le BN, dans 5 mL d'eau physiologique stérile, mettre 500 µL de la suspension bactérienne de 18-24 h présentant une turbidité élevée.

II.4.2.5. Ensemencement / Test antibactérien

Mettre 13 mL de la gélose MH dans chaque boîte de pétri (épaisseur de 5 mm) et laisser sécher pendant 15 mn à température ambiante de laboratoire, dans la zone stérile du bec bunsen. A l'aide d'un écouvillon stérile, ensemercer, sous forme de stries serrées, la bactérie d'étude. Dans le cas de l'ensemencement de plusieurs boîtes de pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois. Ensuite, inonder la surface de la gélose avec 1 mL de la suspension bactérienne et laisser pendant 15 mn à température ambiante. Par la suite, éliminer l'excès de la suspension bactérienne. C'est la méthode d'écouvillonnage plus inondation. L'ensemencement peut être réalisé par écouvillonnage seulement.

Creuser trois puits (diamètre 6 mm) dans chaque boîte de pétri, à l'aide d'une pipette pasteur stérile, dans lesquels 15 µL d'extrait d'étude (10 mg/mL) sont introduits. Laisser à température ambiante, pendant 30-120 min, pour la prédiffusion et incuber pendant 24-48 h à 37°C dans l'étuve.

Les essais ont été effectués en triplicata pour chaque extrait, vis-à-vis d'une bactérie donnée, pour deux expériences.

Remarque :

La paillasse de travail ainsi que les mains du manipulateur sont nettoyées préalablement à l'alcool. Quant aux manipulations, elles sont effectuées autour de la flamme de bec Bunsen.

II.4.2.6. Lecture

L'apparition d'une zone claire autour des puits (à l'intérieur de laquelle aucune croissance bactérienne n'est observée), indique l'action antibactérienne de l'extrait de la plante vis-à-vis la souche bactérienne testée. Les diamètres sont mesurés à l'aide d'une règle graduée. Les résultats obtenus sont exprimés en millimètre. Les bactéries seront classées selon le diamètre d'inhibition dans l'une des catégories suivantes : résistance, sensibilité limitée, sensibilité moyenne et très sensible (**Duraffourd et Lapraz, 2002**) comme le montre le **Tableau 07**.

Tableau 07: Sensibilité et degré d'activité selon le diamètre d'inhibition (**Duraffourd et Lapraz, 2002**).

Diamètre du halo d'inhibition (X)	Degré de sensibilité des germes	Résultat
$X \leq 8 \text{ mm}$	Résistante	-
$8 \text{ mm} < X < 14 \text{ mm}$	Sensibilité limitée	+
$14 \text{ mm} < X < 20 \text{ mm}$	Sensibilité moyenne	++
$X \geq 20 \text{ mm}$	Très sensible	+++

II.4.2.7. Test de sensibilité aux antibiotiques : antibiogramme

II.4.2.7.1. Principe

Ce test a été réalisé pour étudier l'antibiogramme standard de souches utilisées et le comparer avec l'effet de nos extraits bruts. Les disques d'antibiotiques sont déposés à la surface d'un milieu gélosé, préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier.

II.4.2.7.2. Mode opératoire

L'antibiogramme est réalisé sur la bactérie sensible à nos extraits d'étude : *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Les antibiotiques utilisés pour *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 sont : Ticarcilline + acide clavulanique 85 µg, Ceftazidime 30 µg, Gentamycine 10 µg, Amikacine 30 µg, Colistine 10 µg, Aztreonam 30 µg, Ampicilline 10 µg et Ceftaxime 30 µg.

Les antibiotiques utilisés pour *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 sont : Amoxiciline 30 µg, Gentamicine 10 µg, Ticarcilline 30 µg, Amikacine 30 µg, Cefotaxine 30 µg et Rifampicine 15 µg.

Déposer les disques d'antibiotiques dans des boîtes de pétri contenant 13 mL de milieu de MH gélifié,ensemencée avec la bactérie d'étude. Incuber pendant 18-24 h à 37°C dans l'étuve. Les résultats obtenus sont exprimés en millimètre (diamètres des zones d'inhibition). Les essais ont été effectués en deux expériences pour chaque antibiotique et pour chaque espèce bactérienne étudiée. Les résultats expérimentaux sont exprimés selon la moyenne des valeurs obtenues ± l'écart type (SD).



RESULTATS
ET
DISCUSSION



I. Teneur en eau de la plante d'étude

Le résultat de la teneur en eau est calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Teneur en eau} = \frac{\text{poids frais} - \text{poids sec}}{\text{poids frais}} \times 100$$

Teneur en eau = 49.88 %

II. Obtention des extraits d'étude

Les parties aériennes de la plante *Pituranthos scoparius* ont été soumises à une extraction des composés phénoliques. Cette méthode est basée sur la macération de la poudre végétale à froid avec des solvants de polarité croissante : éther de pétrole, dichlorométhane, acétate d'éthyle, méthanol et eau distillée.

Les macérâtes obtenus sont récupérés, filtrés et évaporés à l'air libre puis au rotavapeur. Dans l'étape de l'évaporation à l'air libre, l'extrait aqueux a été contaminé. Ainsi, nous obtenons quatre extraits (E) d'étude : E.EP, E.DM, E.AE et E.ME dont la couleur et l'aspect sont présentés dans le **Tableau 08**.

Tableau 08 : Couleur et aspect des extraits d'étude.

Extrait	Couleur	Aspect
Ether de pétrole	Vert foncé	Cire
Dichlorométhane	Vert foncé	Cire
Acétate d'éthyle	Vert claire	Cire
Méthanol	Vert foncé	Cire

III. Rendements des extraits d'étude

D'une manière générale, les rendements des extraits varient en fonction des paramètres de l'extraction solide-liquide des polyphénols : la température, le solvant d'extraction, la taille des particules et le coefficient de diffusion du solvant.

Les rendements des quatre extraits d'étude de *P.scoparius* sont mentionnés dans la **Figure 20**.

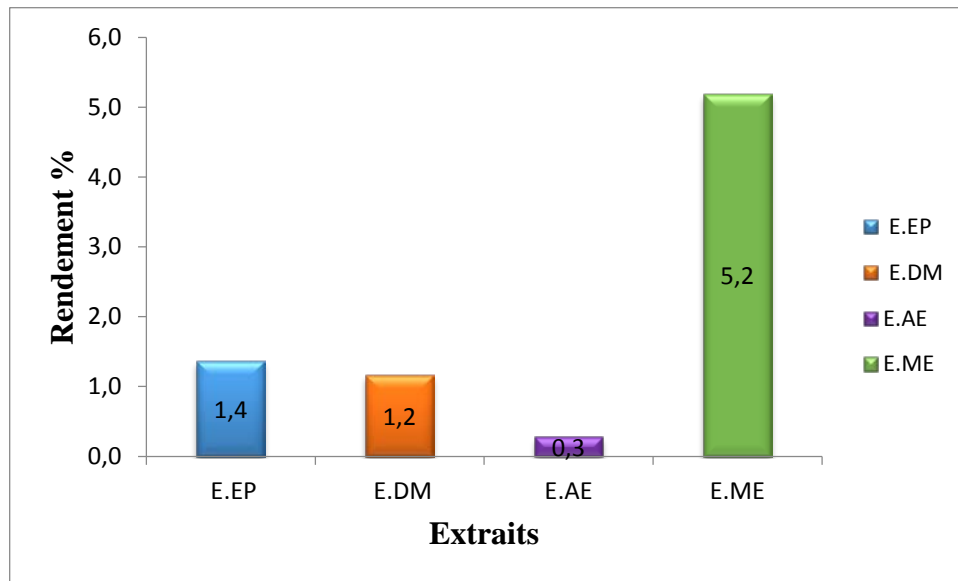


Figure 20 : Rendements en extraits des parties aériennes de *Pituranthos scoparius*.

E.EP : Extrait éther de pétrole ; E.DM : Extrait dichlorométhane ; E.AE : Extrait acétate d'éthyle ; E.ME : Extrait méthanolique.

Les résultats obtenus de l'extraction de la matière végétale, montrent que l'extrait méthanolique de *P. scoparius* présente un fort rendement de l'ordre de 5,2 % suivi par l'extrait éther de pétrole et l'extrait dichlorométhane à raison de 1,4 % et 1,1 %, respectivement et en dernier lieu un faible rendement de l'extrait d'acétate d'éthyle de l'ordre de 0,3 %. Donc, nous pouvons dire que le méthanol est le plus efficace et le plus sélectif pour extraire les polyphénols du *Pituranthos scoparius*. Cela est dû à l'affinité des composés phénoliques aux solvants polaires.

Le rendement de l'extrait méthanolique de la présente étude, est inférieur à celui de *P.chloranthus* 11,07% (Seladji, 2015) d'une part, et il est supérieur à celui de l'extrait hydrométhanolique de *P. scoparius* (3,5%) étudié par Tahraoui (2014), d'autre part. Signalant que leurs méthodes d'extraction sont différentes de la nôtre.

IV. Screening phytochimique

Les tests phytochimiques ont été réalisés sur les parties aériennes de *Pituranthos scoparius*, en utilisant des solvants de polarité différente et des réactifs spécifiques de révélation.

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence de 5 métabolites secondaire : les saponines, les alcaloïdes, les flavonoïdes (flavones), les terpénoïdes, les tannins catéchiques et les cardinolides. En revanche, nous notons une absence des quinones, des tannins galliques et des leucoanthocynes. Les résultats des tests phytochimiques sont résumés dans le **Tableau 09**.

Nos résultats sont similaires à ceux trouvés par **Boussaid (2013)**, **Mellouk (2013)** et **Tahraoui (2014)**, sauf que nous avons trouvé des alcaloïdes en plus des deux premiers travaux sur *P.chlorathus*.

Dans le tableau ci-après nous présentons les résultats du screening phytochimique réalisé sur les parties aériennes de *P.scoparius*.

Tableau 09 : Résultats de screening phytochimique des parties aériennes de *P.scoparius*.

Métabolites secondaires	Résultats
Saponines	++
Alcaloïdes	++
Flavonoïdes	++
Terpénoïdes	+
Carnolides	+
Flavones	+
Tanins catéchiques	+
Tanins gallique	-
Quinones	-
Leucoanthocyanes	-

(+++): Test fortement positif ; (++) : Test moyennement positif ; (+) : Test faiblement positive ; (-) : Test négatif.

V. Teneur des polyphénols totaux

La détermination de la teneur en polyphénols totaux des différents extraits de *P.scoparius*, a été réalisée selon la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. L'acide

gallique a été utilisé comme standard (**Figure 21**). L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 765 nm. La quantité des polyphénols totaux (**Figure 22**) a été rapportée en microgramme d'équivalent de l'acide gallique par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EAG}/\text{mg}$ d'extrait) et déterminée par l'équation de type : $y = a x + b$.

La spectrophotométrie UV/Visible a permis de quantifier le taux des polyphénols présents dans les extraits de notre plante d'étude.

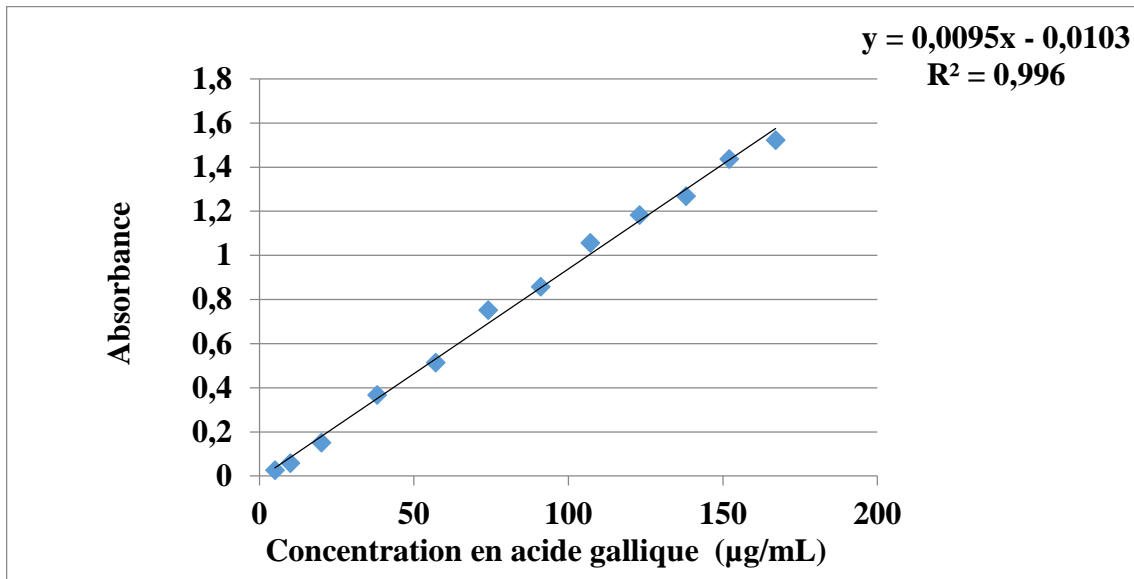


Figure 21: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

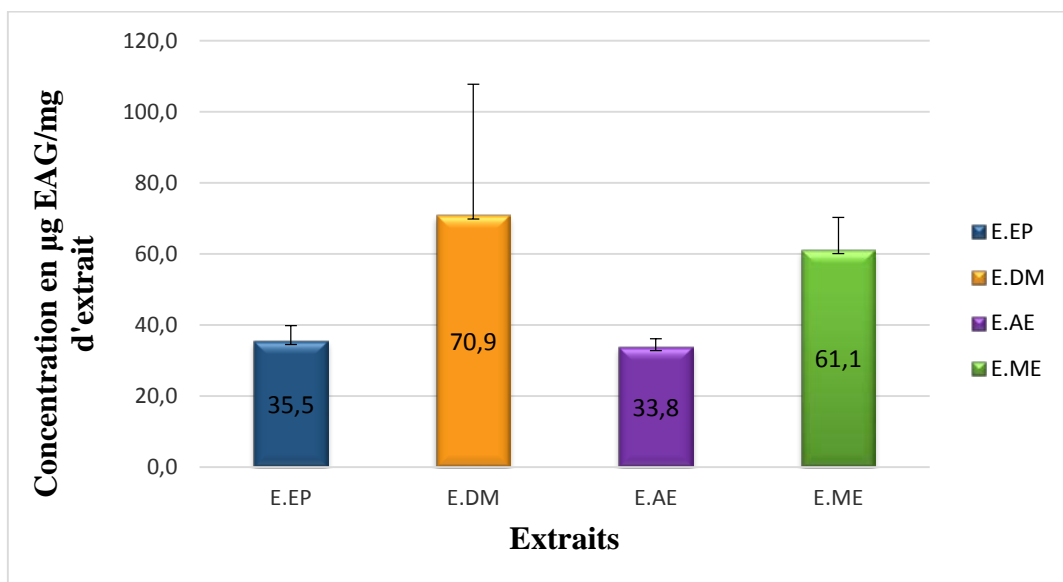


Figure 22 : Teneur des polyphénols totaux des quatre extraits issus de *P.scoparius* (en $\mu\text{g EAG}/\text{mg}$ d'extrait).

E.EP : Extrait éther de pétrole ; E.DM : Extrait dichlorométhane ; E.AE : Extrait acétate d'éthyle ; E.ME : Extrait méthanolique.

Comme le montre le diagramme en barre, la teneur en polyphénols totaux dans les extraits est variable et diffère d'un extrait à un autre. Les extraits DM et ME présentent les teneurs les plus élevées de polyphénols totaux (70,87 et 61,13 µg EAG/mg d'extrait, respectivement) et sont presque deux fois plus supérieures que les extraits EP et AE (35,5 et 33,7 µg EAG/mg d'extrait, respectivement).

Nos valeurs sont plus élevées par rapport aux teneurs de polyphénols totaux déterminées par **Tahraoui (2014)** et **Adida et al. (2015)**.

Cette méthode de dosage des polyphénols n'est pas très spécifique, car elle ne donne pas d'indication sur la nature des composés phénoliques présents dans l'extrait (**Tasioula-Margari et Okogeri, 2001**).

En outre, certaines substances, telles que la vitamine C, les caroténoïdes, les sucres réducteurs et les acides aminés aromatiques peuvent, en réduisant le complexe phosphotungstique-phosphomolybdénique, interférer et conduire à une surestimation de la teneur en composés phénoliques (**Obied et al., 2005**).

VI. Détermination de l'activité antioxydante

La surproduction des radicaux libres dans l'organisme et le déficit du système de défense endogène peuvent engendrer de diverses pathologies ; cancer, vieillissement...etc. Actuellement, la recherche vise à renforcer ces défenses endogènes par des substances naturelles issues de plantes, qui sont douées des propriétés antiradicalaires. L'intérêt croissant des effets bénéfiques de l'antioxydant sur la santé, a mené au développement d'un grand nombre de tests pour déterminer les capacités antioxydantes des extraits naturels. Le test DPPH est parmi les plus utilisés dans la littérature.

L'activité antioxydante des extraits de *Pituranthos scoparius* vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée par CCM et par spectrophotométrie UV-Visible.

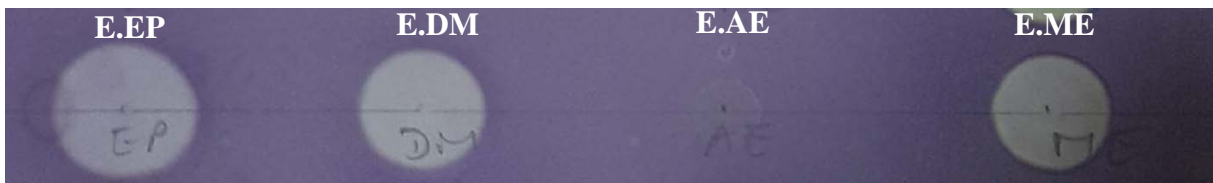
VI.1. Tests par CCM (Chromatographie sur couche mince)

Le test préliminaire de CCM-DPPH a été réalisé sans précision des concentrations des solutions mères des extraits d'étude et la concentration de spots, déposés sur plaque CCM, a été estimée être identique sous lumière du jour et lumière UV. Ce test montre que trois extraits

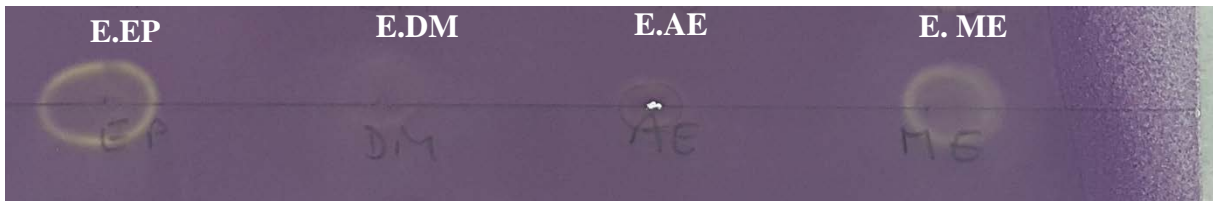
sur quatre, présentent une activité antioxydante : E.ME > E.DM > E.EP (par ordre croissant d'activité) (**Figure 23-A**).

Dans le deuxième test CCM-DPPH, une solution mère de (1 mg/mL) a été préparée pour chaque extrait. 250 µL de solution mère d'extrait ont été déposés sur plaque CCM. Dans ce cas-là, les résultats montrent que seuls les extraits ME et EP présentent une activité antioxydante : EP > ME (**Figure 23-B**).

Donc, le test antiradicalaire contre le DPPH sera réalisé seulement pour les extraits éther de pétrole et méthanol.



A- Premier test (concentrations non déterminées)



B- Deuxième test (concentrations déterminées 1mg/mL dépôt de 250 µl de solutions d'extraits)

Figure 23 : Résultats de CCM-DPPH

VI.2. Test antiradicalaire contre le DPPH mesuré au spectrophotomètre

Dans ce test, les antioxydants réduisent le diphényl picrylhydrazyle ayant une couleur violette en un composé jaune, le diphényl picryl-hydrazine, dont l'intensité de la coloration est inversement proportionnelle à la concentration des antioxydants présents dans le milieu (**Adida, 2015**).

Les résultats de la capacité des extraits ME et EP (5mg/mL) à piéger le radical libre DPPH, sont exprimés en pourcentage d'inhibition (**Figure 24**).

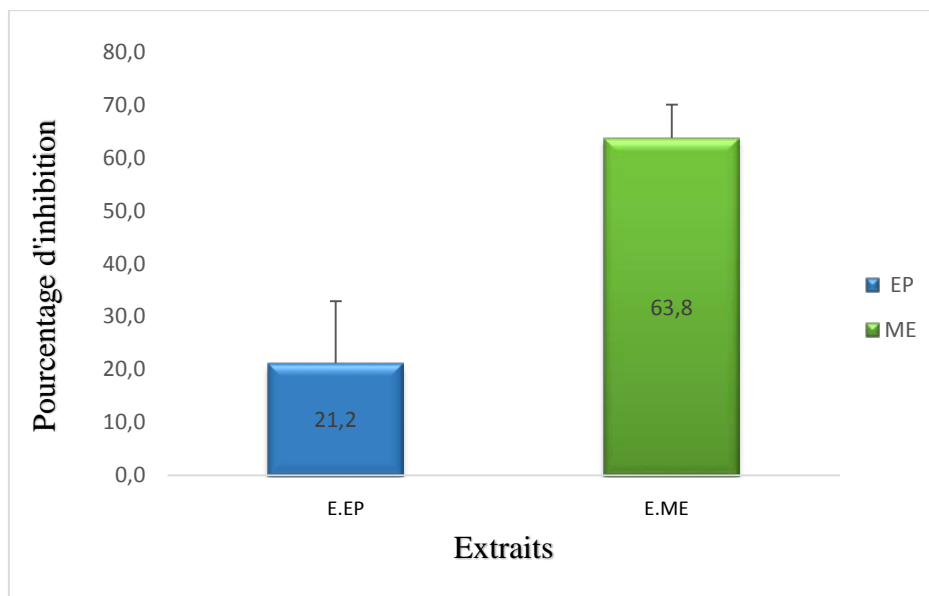


Figure 24 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH par les extraits EP et ME de *P.scoparius*.

Les résultats montrent qu'à une concentration initiale de solution mère de 5 mg/mL, l'extrait ME présente un pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH presque trois fois plus important (63,8%) que celui de EP (21,2%).

Le pourcentage d'inhibition de l'extrait ME de la présente étude, est inférieur à celui de **Adida et al.** (2015), malgré que les teneurs en polyphénols de nos extraits d'étude sont beaucoup plus importants.

VII. Détermination de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des quatre extraits de *P.scoparius*, ont été testées vis-à-vis de deux bactéries, via la méthode de diffusion sur gélose.

VII.1. Coloration de Gram

La pureté des deux bactéries qui ont servi pour ces expériences, a été vérifiée par la coloration de Gram. Leurs caractères morphologiques sont consignés dans le **Tableau 10** et la **Figure 25**.

Tableau 10 : Caractères morphologiques des bactéries utilisées comme germes-tests.

Nom des bactéries	Morphologie	Couleur	Gram
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Bacille	Rose	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Cocci	Violet	+

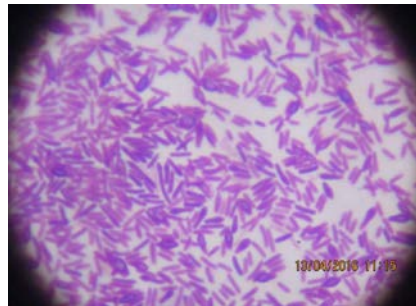


Figure 25 : *Pseudomonas aeruginosa* au microscope optique.

Nous avons testé la sensibilité de ces bactéries vis-à-vis des extraits de *P.scoparius*.

VII.2. Test de sensibilité aux extraits d'étude

Les résultats révèlent que les extraits de *P.scoparius*, exercent un effet antibactérien considérable sur *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (**Tableau 11, Figure 26 et 27**).

Tableau 11 : Détermination du diamètre de la zone d'inhibition (mm) des quatre extraits de *P.scoparius*.

Bactérie d'étude	E. EP	E. DM	E. AE	E. ME
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	21,9 ± 2,7 (+++)	14,4 ± 1,6 (++)	18,2 ± 0,7 (++)	20,5 ± 2,3 (+++)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	12,4 ± 0,5 (+)	12 ± 0,0 (+)	12,1 ± 0,2 (+)	13,7 ± 0,6 (+)

(+) : Sensibilité limitée ;

(++) : Sensibilité moyenne ;

(+++) : Très sensible.

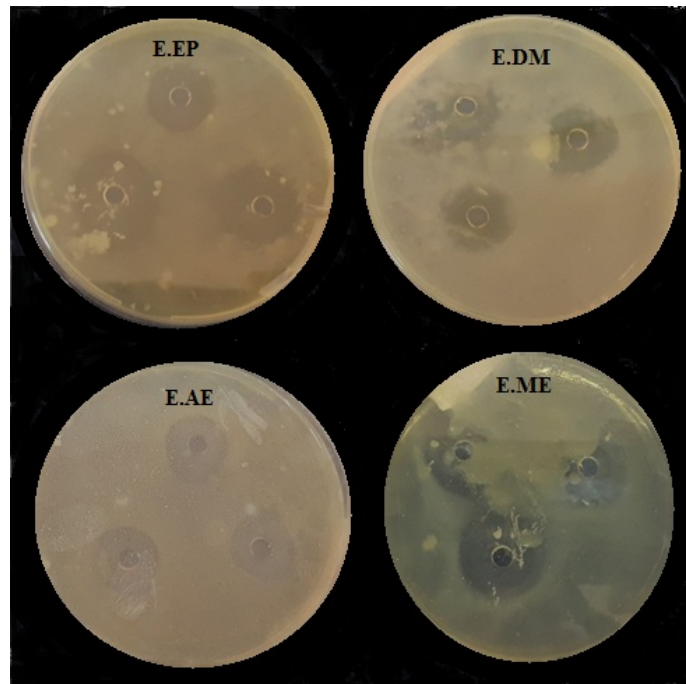


Figure 26 : Effet inhibiteur des extraits de *P.scoparius* sur *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

E.EP : Extrait éther de pétrole ; E.DM : Extrait dichlorométhane ; E.AE : Extrait acétate d'éthyle ; E.ME : Extrait méthanolique.

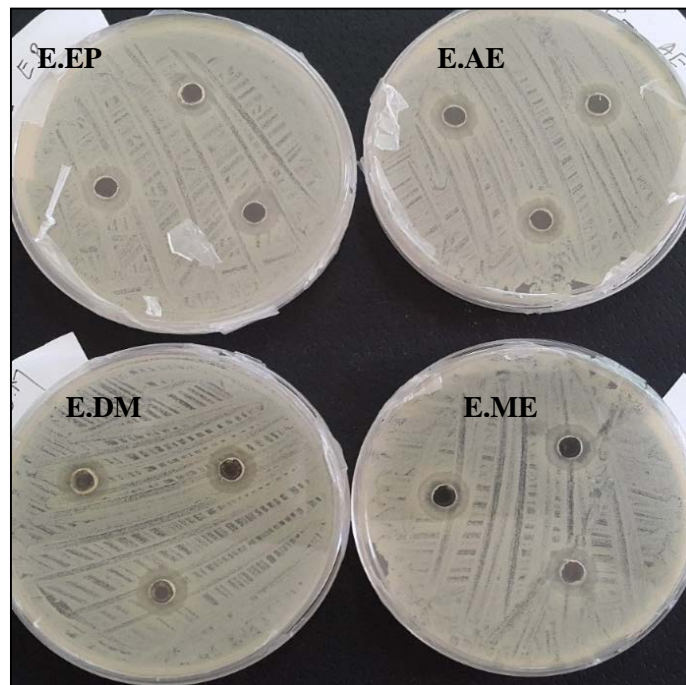


Figure 27 : Effet inhibiteur des extraits de *P.scoparius* sur *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

E.EP : Extrait éther de pétrole ; E.DM : Extrait dichlorométhane ; E.AE : Extrait acétate d'éthyle ; E.ME : Extrait méthanolique.

Les résultats obtenus montrent que l'effet inhibiteur de la croissance bactérienne n'est pas le même pour les quatre extraits de la plante d'étude. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 présente une hyper sensibilité vis-à-vis des extraits ME et EP de *P.scoparius*, alors que sa sensibilité est moyenne vis-à-vis des extraits DM et AE. Quant à *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, il présente une sensibilité limitée vis-à-vis des quatre extraits de *P.scoparius*.

VII.3. Test de sensibilité aux antibiotiques : antibiogramme

L'antibiogramme consiste à rechercher la sensibilité des souches vis-à-vis des antibiotiques (Figure 28 et 29).

Les Tableaux 12, 13 reportent les valeurs (mm) des diamètres des zones d'inhibitions des antibiotiques rapportés sensibles pour *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.



Figure 28 : Effet inhibiteur des antibiotiques sur *Pseudomonas aeruginosa*.ATCC 27853 (Abidat et Mebarki, 2015).

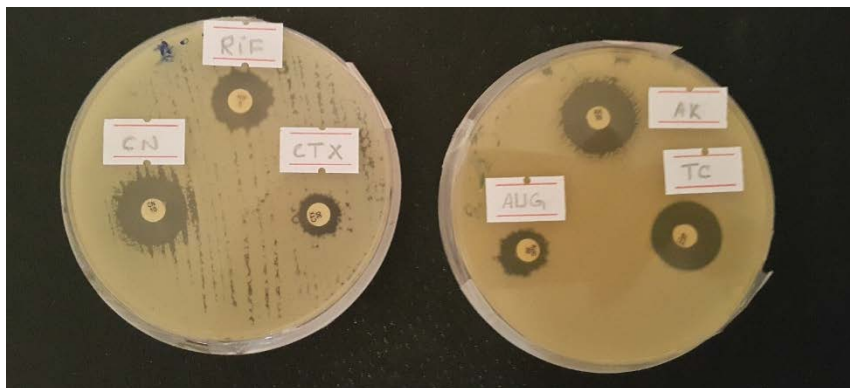


Figure 29 : Effet inhibiteur des antibiotiques sur *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Tableau 12 : Antibiogramme de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (Abidat et Mebarki, 2015).

	Zones d'inhibition (mm)							
	GNT	AMI	TCC	CS	ATM	AMP	CTX	CAZ
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	15± 0.00 (++)	22.25 ± 0.35 (+++)	27.5±0.35 (+++)	13±0.00 (+)	30±0.00 (+++)	15.13±0.18 (++)	30±0.00 (+++)	24±0.00 (++)

(+) : Sensibilité limitée ; (++) : Sensibilité moyenne ; (+++) : Très sensible.

GNT : Gentamycine ; **AMI :** Amikacine ; **TCC :** Ticaracilline + acide clavulanique ; **CS :** Colistine ; **ATM :** Aztreonam ; **AMP :** Ampicilline ; **CTX :** Cefotaxime ; **CAZ :** Ceftazidime.

Tableau 13 : Antibiogramme de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

	Zones d'inhibition (mm)					
	GNT	AUG	TC	AMI	CTX	RIF
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	20.75 ±1.06 (+++)	16.29± 0.77 (++)	10.7± 0.42 (+)	20.9± 0.14 (+++)	20.06± 1.5 (+++)	12.37 ± 0.05 (+)

(+) : Sensibilité limitée ; (++) : Sensibilité moyenne ; (+++) : Très sensible.

GNT : Gentamycine ; **AUG :** Amoxicilline ; **TC :** Ticaracilline ; **AMI :** Amikacine ; **CTX :** Cefotaxime ; **RIF :** Rifampicine.

Nos résultats montrent que les extraits de *P.scoparius*, possèdent un effet inhibiteur considérable sur *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et un effet limité sur *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Par comparaison de nos résultats à l'antibiogramme, nous avons trouvé que les effets antibactériens des extraits ME et EP vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27833, sont d'une part, semblables à ceux d'Amikacine, Ticaracilline+ acide clavulanique, Aztreonam et Cefotaxime et, d'autre part, sont plus meilleurs que ceux de Gentamicyne, Colistine, Ampicilline et Ceftazidime. Quant aux extraits DM et AE, leurs effets antibactériennes vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 sont, d'une part, comparables à ceux de Gentamycine, Ampicilline, et Ceftazidime et, d'autre part, sont plus meilleurs que la Colistine mais ils demeurent moins efficaces que les antibiotiques restants.

L'effet inhibiteur des quatre extraits de *P.scoparius* vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 est, d'une part, comparable à celui de Ticaracilline et Rifampicine et, d'autre part, demeure moins efficace que les antibiotiques restants.

L'effet antibactérien de l'extrait méthanolique de la présente étude ($20,5 \pm 2,3$ mm) est supérieur à celui de l'extrait hydrométhanolique de *P.scoparius* ($10,3 \pm 1,15$ mm) étudié par **Adida et al. (2014)**.



CONCLUSION
ET
PERSPECTIVES



CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les plantes aromatiques et médicinales sont la source de la majorité des antioxydants naturels et elles restent encore sous exploitées dans le domaine médical. Dans l'industrie pharmaceutique, le développement de nouveaux médicaments à base d'antioxydants d'origine naturelle doit être à l'ordre du jour.

Notre étude a été axée sur l'évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits de la partie aérienne de *Pituranthos scoparius* après avoir réalisé le screening phytochimique et dosé les composés phénoliques.

La synthèse de nos résultats nous a permis de conclure :

- Le rendement le plus important se retrouve au niveau de l'extrait méthanolique avec une valeur de 5,2%.
- La présence des saponines, des alcaloïdes, des flavonoïdes, des terpénoïdes, des tannins cathéchiques et des cardinolides.
- La quantification des composés phénoliques, montre que les teneurs correspondantes aux extraits d'études varient entre 33,8 et 70,9 µg EAG/mg d'extrait.
- Le pouvoir antioxydant, évalué par le test DPPH, révèle que l'extrait méthanolique présente le pourcentage d'inhibition le plus important (63,8%).
- L'activité antibactérienne, évaluée par la méthode de diffusion sur gélose, révèle que les deux souches bactériennes testées sont sensibles aux quatre extraits de *Pituranthos scoparius*.

Tous ces résultats, obtenus in vitro, ne sont qu'un début dans la recherche des molécules bioactives de notre plante *P.scoparius*. Pour cela, nous pourrions envisager d'autres perspectives, à savoir :

- Approfondir les études sur d'autres activités biologiques afin d'envisager la formulation d'un médicament traditionnel amélioré dans le futur.
- Elargir le panel des activités antioxydantes et antimicrobiennes in vitro et in vivo.



REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Adida.H. Benariba.N., Bechiri.A. , Chekroun.E., Djaziri.R. (2015). Étude phytochimique et évaluation du pouvoir antiradicalaire des extraits de *Pituranthos scoparius*. Phytothérapie. DOI 10.1007/s10298-015-0932-4.

Adida H. , Frioui E. , Djaziri R and Mezouar.D. (2014).In vitro antibacterial activity of *Pituranthos scoparius* from Algeria : International journal of Biological and chemical sciences.8(5):2095-2108. DOI 10.1007/s10298-015-0932-4.

Al kadi, A. A. (1989).Usage de quelques plantes dans la médecine populaire en libie, (11) :2.

Anderson C.M., Hallberg A., hogberg T. (1996). Advances in development of pharmaceutical antioxidants. Adv. Drug. Res. 28, 65-180.

Bauer S.W., Kirb W.M., Sherris J.C. and Thurck M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by standardized single disc method. American Journal of Pathology 45, pp : 493-496.
In Abidat Khawla, Mebarki Khaoula. (2015). Etude des activités antioxydante et antibactérienne d'extraits polaires méthanoliques d'espèces endémiques du genre *Thymus* : Mémoire de MASTER. Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie, Université Larbi Tebessi, TEBESSA.

Bellakhdar.J. (1997). Médecine Arabe Ancienne et Savoirs Populaires La pharmacopée marocaine traditionnelle, ibis Press.

Beveridge T.J. (1990). Mechanism of gram variability *in select bacteria*. *J. Bacteriol.*, 172 (3): 1609-1620. *In* Abidat Khawla , Mebarki Khaoula. 2015. Etude des activités antioxydante et antibactérienne d'extraits polaires méthanoliques d'espèces endémiques du genre *Thymus* : Mémoire de MASTER. Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie, université Larbi Tebessi, TEBESSA.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Boukef MK. (1986). Médecine traditionnelle et pharmacopée : les plantes dans la médecine traditionnelle tunisienne. Tunisie. 350.

Bouquet A. (1972). Plantes Médicinales du Congo Brazzaville. Ed: O.R.S.T.O.M.

Boussaid .M. (2013). Etude phytochimique et activités biologiques (antioxydante et antimicrobienne) de l'extrait de tannins de *Pituranthoschloranthus* (Ghezzeh) : Mémoire de Master. Faculté des Sciences-département de Biologie Moléculaire et Cellulaire Université de Tlemcen-Abou-Bekr Belkaïd.

Bruneton J. (1993). Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales. Lavoisier. 915-211,338.

Bruneton J. (1999). Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales, 3^{ème} édition, Edition Lavoisier TEC et DOC.

Claire D., Roland. L. (2008). L'antibiogramme de *Staphylococcus aureus* : revue francophone des laboratoires issue 407, page 81-90.

Cowan M.M. (1999). Plant products as antimicrobial agents, Clin. Microbiol. Rev, 12 : 64-582.

Cuendet M. (1999). Recherche de nouveaux composés capteurs de radicaux libres et antioxydants à partir d'une plante d'Indonésie : *Fagraeablumel* (Lloganiaceae) et de trois plantes d'altitude : *Bartsiaalpinia* (Scorphiariaceae), *Loiseleuria procumbens* (Ericaceae) et *Campanula barbata* (Campanulaceae). Thèse de doctorat. Faculté des sciences de l'Université de Lausanne, p. 24.

Didi OE, Hadj-Mahammed M., Zabeirou H. (2003). Place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région de Ouargla (Sahara septentrional est). Courrier du savoir 3:47-51.

Dohou et al., (2003). Screening phytochimique d'une endémique ibéro marocaine *Thymelaealythroides*. Bull. Soc Pharm. Bordeaux. 142.Pp : 61-78. In Berrah Ramzi ,Gattal

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Brahim. (2015). Etude de quelques composés phénoliques de *Thymelaeahirsuta* et leur activité antioxydante : Mémoire de MASTER. Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie, université Larbi Tebessi, TEBESSA.

Duraffourd C et Lapraz J.C. (2002). Phytothérapie clinique. Endobiogénie et Médecine. Edition Masson, Paris. *In* Abidat Khawla ,Mebarki Khaoula. (2015). Etude des activités antioxydante et antibactérienne d'extraits polaires méthanoliques d'espèces endémiques du genre *Thymus*. Mémoire de MASTER. Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie, université Larbi Tebessi, TEBESSA.

El-Haci et al. (2012). Teneur en polyphénols et pouvoir antioxydant d'une plante endémique du sahara algérien. Pharmacognosie. P : 280-285.

Epifano F., Genovese S., Menghini L., Curini M. (2007). Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites, Review. Phytochemistry 68, 939- 953.

Erdman. J, Balentine J. D., Arab L., Beecher G., Dwyer J. T., Folts J., Harnly. Hollman J.P., L-Keen C., Mazza G., Messina M., Scalbert A., Vita J., WilliamsonG. Burrowes J.. (2007). Flavonoids and heart health : Proceeding of the ILSI North America flavonoids workshop, may 31-june 1, 2005, Washington. Journal of Nutrition., 137 (3 supp 1) : 718 s-737.

Ferrari J. (2002). Contribution à la connaissance du métabolisme secondaire des *Thymelaeaceae* et investigation phytochimique de l'une d'elle : *Gnidia volucrata* Steud. A. Rich. Thèse de doctorat de l'Université de Lausanne.

Gonzalez A. G., Estevez-Braun A. (1997). Coumarins, *Nat. Prod. Reprod*, 14: 465-475.

Haba, H. (2002). Thèse de magister chimie, Univ. Batna Algérie.

Haba, H., Benkhaled M., Massiot G., Log C. Lavaud C. (2004). Natural Product research, 18(5): 409-413.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Hadbaoui Z. (2012). Evaluation de l'activité antioxydante des fractions lipidiques, protéiques et phénoliques de sorgho et de mil locaux. Thèse de Doctorat : Université de KasdiMerbah. OUARGLA-ALGERIE. In Abidat Khawla , Mebarki Khaoula. (2015). Etude des activités antioxydante et antibactérienne d'extraits polaires méthanoliques d'espèces endémiques du genre *Thymus*. Mémoire de MASTER. Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie, université Larbi Tebessi, TEBESSA.

Hanhineva K., Törrönen R., Bondia-Pons I., Pekkinen J., Kolehmainen M., Mykkänen H., Poutanen H. (2010). Impact of Dietary Polyphenols On Carbohydrate Metabolism. Int. J. Mol. Sci, 11: 1365-1402.

Harborne J.B. (1998). Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plants analysis. Third Edition. ISBN: 0-412-57260-5 (HB) and 0-412-57270-2 (PB).

Hartmann T. (2007). From waste products to ecochemicals : Fifty years research of plant secondary metabolism. Phytochemistry. 68 :2831-2846.

Hennebelle T. (2006). Investigation chimique et chimiotaxonomique et pharmacologique de Lamiales productrices d'antioxydants. *Marrubium peregrinum*, *Ballota larendana*, *Ballota Pseudodictamnus* (Lamiacées) et *Lippia alba* (Verbénacées). Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat Chimie Organique et Macromoléculaire. Université des Sciences et Technologique de Lille, Lille 1. Ecole Doctorale Sciences de la Matière du rayonnement et de l'Environnement. France.

Ignat.I. , Volf.I., Popa I.V. (2011). A critical review of methods for characterization of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. Food chemistry 126: 1821-1835.

Igor Passi L.B. (2002). Etude des activités biologique de *Fagarazanthoxyloïdes*, lam (Rutaceae). Thèse de pharmacie, Bamako, p 133.

Kaabeche. (1990). Les groupements végétaux de la région de Bou saad (Algérie). Essai de synthèse sur la végétation steppique du Maghreb. *Thèse de Doctorat* en sciences, Université de Paris Sud, Centre d'Orsay, 93.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Kansole M.M.R. (2009). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso: cas de *Leucasmartinicansis* (Jacquin) R.Brown, *Hoslundia opposstava* et *Orthosiphon pallidus* Royle ex Benth. Mémoire pour obtenir un diplôme Diplôme d'Etudes Approfondies (D.E.A) en Sciences Biologiques Appliquées, Burkina Faso.

Kechkar M.M. (2008). Extraction de la silymarine et étude de son activité antimicrobienne. Mémoire du Magister de l'Université Mentouri, Constantine. In Abidat Khawla ,Mebarki Khaoula. (2015). Etude des activités antioxydante et antibactérienne d'extraits polaires méthanoliques d'espèces endémiques du genre *Thymus*. Mémoire de MASTER. Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie, université Larbi Tebessi, TEBESSA.

Larkins N., Wynn S. (2004). Pharmacognosy: phytomedicines and their mechanisms. Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice, 34, 291-327.

Lhuillier A. (2007). Contribution à l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *Agauriasalicifolia* Hook.f ex Oliver, *Agauriapolyphylla* Baker (Ericaceae), *Tambouris satrichophylla* Baker (Monimiaceae) et *Embelia concinna* Baker (Myrsinaceae). Doctorat de l'institut national polytechnique de Toulouse, spécialité : sciences des Agroressources, p 214.

Li H.B., Cheng K.W., Wong C.C., Fan K.W., Chen F and Jiang Y. (2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. Food Chemistry, pp : 102, 771-776 . In Abidat Khawla ,Mebarki Khaoula. 2015. Etude des activités antioxydante et antibactérienne d'extraits polaires méthanoliques d'espèces endémiques du genre *Thymus*. Mémoire de MASTER. Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie, université Larbi Tebessi, TEBESSA.

Loo , Jain et Darah (2008). Antioxydant activity of compound isolated from the pyroligneous acid, *Rhizophora apiculata*. Food chemistry. 2008, 107: 1151-1160. In TAIB Hana (2014). Enquête ethnobotanique d'une plante médicinale Algérienne - extraction, caractérisation, Quantification de polyphénols : étude de leur activité Antioxydante. Mémoire de Master. Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie. Département des Sciences de la Matière. Université de Tébessa.

Lucienne A.D. (2010). Les plantes médicinales d'Algérie. 2^{ème} Edition Berti. 20-6.

Lugasi A., Hovari J., Sagi K.V., Biro L. (2003). The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. Acta biologica Szegedientis. 1-4.125-119.

Macheix J.J., Fleuriet A., Jay Allemand C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechniques. 192-1.

Malecky M. (2006). Métabolisme des terpénoïdes chez les caprins. Thèse de doctorat de l'institut des sciences et des industries du vivant et de l'environnement (Agro Paris Tech), spécialité physiologie de la nutrition animale (biotechnologie), France.

Mellouk. K. (2013). Étude des activités antioxydante et antimicrobienne des flavonoïdes et des fractions flavoniques de la partie aérienne de *Pituranthos chloranthus* (Guezzeh) de la région de Biskra. Mémoire de Master. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Science de la Terre et de l'Univers. Département de Biologie. UNIVERSITÉ ABOU BEKR BELKAID-TLEMCEM

Mann.C.M. Cox .S.D. and Markham J.L. (2000). The outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa* NCTC6749, contribute to the essential oil of *Melaleuca ternifolia* (tea tree oil). *letters in Applied Microbiology*,30,pp: 294.297. In Abidat Khawla ,Mebarki Khaoula. 2015. Etude des activités antioxydante et antibactérienne d'extraits polaires méthanoliques d'espèces endémiques du genre *Thymus*. Mémoire de MASTER. Mémoire de MASTER. Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie, Université Larbi Tebessi, TEBESSA.

Marian Naczek, Fereidoon Shahidi. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food journal of Chromatography A, 1054 :pp : 95-111. In Abidat Khawla ,Mebarki Khaoula. 2015. Etude des activités antioxydante et antibactérienne d'extraits polaires méthanoliques d'espèces endémiques du genre *Thymus*. Mémoire de MASTER. Mémoire de MASTER. Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie, université Larbi Tebessi, TEBESSA.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Martin S., Andriantsitohaina R. (2002). Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angiologie* 51, 304-315.

Merghem R. (2009). *Eléments de biochimie végétale*. Edition Bahaeddine: 107-133.

Milane H. (2004). La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres ; études et applications thérapeutiques. Docteur en Sciences de l'Université Louis Pasteur. Domaine : Pharmacochimie, p 268.

Moheb. A, Ibrahim .R.K., Roy R., Sarhan F. (2011). Changes in wheat leaf phenolome in response to cold acclimation. *Phytochemistry* 72 : 2294- 2307.

Narayana K. R, Reddy M. S., Chaluvadi M. R., Krishna D. R. (2001). Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential: *Indian journal of pharmacology* 33 : 2-16.

Nouioua . (2012). Biodiversité et ressources phytogénétique d'un écosystème forestier « paeonia mascula (L) Mill ». Mémoire de MAGISTER. Option biodiversité et gestion des écosystèmes. Département de biologie végétal et écologie. Université FARHAT ABBAS-SETIF.

Novak, I., Buzas, G., Minker, E., Kolfai, M., Szendrei, K. (1966). *Planta med*, (14): 57

Obied et al., (2005). in Kebbab R. (2014), Etude du pouvoir antioxydant des polyphénols issus des margines d'olives de la variété *Chamla* : Evaluation de l'activité avant et après déglycosylation. Mémoire de Magister. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, Faculté des sciences biologiques et des sciences Agronomiques, Département de Biochimie – Microbiologie.

Ozenda. P. (1991). Flore du Sahara septentrional. Ed CNRS, Paris. 486 p

Ozenda. P. (1958). Flore du Sahara, Ed. CNRS Paris France.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Peter H., Raven R., Franklin E., Susan E.E. (2003). *Biologie végétale*, De Boeck Université, 968 p. (ISBN 2-7445-0102-6, 9782744501029).

Quézel P., Santa S. (1962-1963). Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales (Tome 1, Tome 2). Ed du Centre National de la Recherche Scientifique.

Rita N., Farit A. (2009). Natural polyphenols as anti-oxydant, anti-inflammatory, antiangiogenic agents in the metabolic syndrome. In *Oxydative Stress, Inflammation and Angogenesis*, Ed Springer Science, Business Media B.V. Université de Porto : Portugal. 147-180.

Rizk A.M.(1982). Constituents of plants growing in Qatar, *Fitoterapia*, 52 (2), (1982) 35-42.
In Hakim ALILOU, Bouchaib BENCHARKI ,Lalla Mina Idrissi HASSANI et Nouredine BARKA. (2014). Screening phytochimique et identification spectroscopique des flavonoids d'*Asteriscus graveolens* subsp. *odorus* .

Seladji S. (2015), Étude phytochimique et activités biologiques (antioxydante et antimicrobienne) des composés phénoliques des extraits de la partie aérienne de *Pituranthos chloranthus* (Guezze) de la région de Biskra. Master en Biologie. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers. Département de Biologie. UNIVERSITÉ ABOU BEKR BELKAID-TLEMCEN.

Singab A.N., Khalifa T., Mahran G.H., Okada Y., Matsumaru Y., Nishino H., Okuyama T. (1998). *Natural Medicines*. 52 (2): 191-194.

Solfo R.R. (1973). Etude d'une Plante Médicinale Malgache *Buxus madagascariensis* Bail et ses variétés. Ed : O.R.S.T.O.M .

Tahraoui Fatima Zohra. (2013). Contribution à l'étude phytochimique et activités antioxydante d'extraits de *Pituranthos scoparius*. Mémoire de Master. Université Abou Bekr Belkaïd Tlemcen.

Tasioula-Margari et Okogeri (2001), in Kebbab.R, (2014), Etude du pouvoir antioxydant des polyphénols issus des margines d'olives de la variété *Chamla* : Evaluation de l'activité

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

avant et après déglycosylation. Mémoire de Magister. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, Faculté des sciences biologiques et des sciences Agronomiques, Département de Biochimie –Microbiologie.

Vérité P., Nacer A., Kabouche K., Seguin E. (2004). Composition of seeds and stems essential Oils of *Pituranthos scoparius* (Coss. & Dur). *Schinz. FlavourFrage. J*, 19: 562-564.

Vermerris W., Nicholson R. (2006). Phenolic compound biochemistry. Springer, Dordrecht. ISBN: 1001-4020-5163-8.

Vernin G., Lageot C., Ghiglione C., Dahia M., Parkanyi C. (1999). Comparative antibacterial activities of the essential oils of stems and seeds of *Pituranthos scoparius* from Algerian septentrional Sahara. *J. Essent. Oil Res.*, (40), 11, 673.

Wu H. (2007). Isolation and characterization of natural products from *Inger* and *Allium ursinum*. *ProQuest Edition*, pp : 28. In Abidat Khawla, Mebarki Khaoula. 2015. Etude des activités antioxydante et antibactérienne d'extraits polaires méthanoliques d'espèces endémiques du genre *Thymus*. Mémoire de MASTER.

Yao L.H., Jiang Y.M., Shi J., Tomas-Barberan F.A., Datta N., Singanusong R, Chen S.S. (2004). Flavonoids in Food and their health benefits. *Plant. Food Hum. Nutr.*, 59:113-122.