



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministre de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Echahide Echeikh Larbi Tebessi-Tebessa

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de biologie appliquée

N° d'ordre :.....

N° de série :.....

Mémoire présenté pour l'obtention du diplôme de

Master académique

Filière : Sciences biologiques

Option : Pharmacotoxicologie

Thème :

**Evaluation des activités biologiques des extraits
de la partie aérienne de *Scolymus grandiflorus*
(Desf.), de la région de Bir Rogaa (OEB, Algérie)**

Présenté et soutenu par : Aya OMEIRI

Wiem SERRADJ

Assma LAHMISSI

Devant le jury composé de :

Président : PR. Rachid ROUABHI

Université Larbi Tebessi-Tebessa

Promotrice : Dr. Nadia DJERMANE

Université Larbi Tebessi-Tebessa

Examinatrice : Dr. Djemaa DRIS

Université Larbi Tebessi-Tebessa

Année universitaire : 2022 / 2023

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciement :

Avant tout, on remercie

"ALLAH" de nous avoir donné la volonté afin qu'on puisse compléter ce travail

On tient tout d'abord a remercier noter promotrice

De mémoire **Mme. DJERMANE NADIA** (Maitre **D**e Conférence <**B**> à l'**U**niversité ECHAHIDE
Cheikh Larbi **T**ebessi) d'avoir accepté d'encadrer ce travail on

N'oubliera jamais ses qualités humaines et scientifiques

Ou ' elle trouve ici le témoignage de notre reconnaissance et profond respect

Nos remerciements aussi les plus sincères s'adressent aux

Membres de jury **Pr. Rachid ROUABHI** et **Dr. Djemaa DRIS** qui ont bien voulu nous
honorer par leur présence afin de juger et d'évaluer

Noter mémoire

Nos remerciements aussi l'équipe de **Centre de Recherche en Biotechnologie en**

Constantine Pour leurs efforts considérables et leur travail au maximum pour nous aider et

nous guidé

A nos chères invites d'avoir acceptent notre invitation

Finalement nos sentiments de reconnaissance et

Nos remerciements vont également à l'encontre de nos informateurs

Ainsi que nos collègues nos amis pour les bons moments qu'on a passés ensemble.

Dédicace :

A laud de dieu "**ALAH**" tout puissant

Qui grade une trace de ma vie

J'ai pu faire le travail

Ce que J'offre : à ma famille et surtout à la personne la plus chère au monde mon père "**TAHER**" que ma soutenu tout au long de mes années d'études pour son propre bien des sacrifices et du soutien qui me donne de courage et de la sécurité et ma mère "**LAILA**" est la lumière de mes yeux et l'ombre de mes pas bonheur dans ma vie

A ma sœur et ma force de vie : "**HADIL**" et mon autre sœur : "**ANFEL**"

A deux chers frères : "**MOUTASSAM BELLH**" – "**ABD EL MOHAIMEN**"

A la charité de ma vie mes compagnons et encore ma famille : "**AYA**" et "**BLKIS**"

A mon grand-père et grand-mère que dieu leur fasse miséricorde et ma grand-mère : "**ZAKIA**"

Mes deuxième pères oncle : "**ROCHDI**"

A mes chères tantes pour leur amour et leur affection : "**HAFIZA**" – "**GAMRA**"

A tous mes amis en particulier : "**CHOUROUK-BOU**" – "**AYA-SER**" – "**MALAK-MA**"

A tout ceux qui me sont chers pour chacun des m amie

A tout ceux qui m'ont connu amie et apprécié encourages aider de près ou de loin pour accomplir ce travail et soutiens-m'en tout

SERRADJ *W*LAM

Dédicace :

Tout d'abord je tiens à remercier'' **DIEU''** de m'avoir donné la force et le courage dans
ma vie

A mon père'' **OMEIRI HOCINE''** pour m'avoir enseigné le chemin du labeur et de la vérité
qui dieu t accorde une longue vie et une bonne santé de fer avant que tu sois

Récompense pour tous les sacrifices que tu as toujours consentis nous

A mon durable mère'' **HAMZAOUI IMEN''** qui n'est jamais cesse de mon encourager et
conseiller elle m'aide beaucoup tout long de mon chemin grâce à son amour sa
compréhension et sa patience et leurs soutien moral et matériel on ne saurait jamais traduire
ce qu'on ressent vraiment envers mes parents qui jamais a dit non à mes exigences et qui
n'ont épargné aucun effort pour me rendu heureuse je ne serai te remercie comme il se doit

A mes très chères sœurs : '**IKRAM. ANFEL. ALAA. ARWA''**.

A celui qui m'a soutenu tout au long de cette période, encourageant jusqu'à la fin, mon fiancé
"**OMEIRI LAAROUSSI** " que Dieu te garde toujours comme un pilier et une source de force
pour moi. Que Dieu te protège.

A mes meilleurs amis : "**BRAHMIA BELKIS''** et'' **SERRADJ WIAM''** nous sommes restes amis
dans les hautes et dans les bas de nos vies je veux que vous sachez combien je chérie mon
amitié avec vous je suis vraiment chanceux de t avoir à mes cotes.... Je souhaite plus de succès
dans votre vie

A ma chère grand-mère :'' **HAFIZA''** que je souhaite une bonne sante

A mes oncles :''**HAMZAOUI ALA''**,'' **HAMZAOUI TAREK'** 'et mes tantes je vous remercie
d'être à mes cotes.

A toutes les personnes qui m'ont encouragé dans mon parcours

A tous les professeurs qui m'ont enseigné toutes ces années je vous souhaite plus de succès et
du remboursement.

OMEIRI AYA

Dédicace :

La locomotive de recherche a traversé de nombreux obstacles, et pourtant j'ai essayé de la surmonter avec constance grâce a et de la part de Dieu

Dieu soit loue qui nous a permis de valoriser cette étape de notre parcours d'études avec ce mémoire fruit de nos efforts le dédier

A mes parents, frères et amis car ils ont été comme un soutien et un soutien afin de compléter la recherche

Et je ne dois pas oublier mes professeurs qui ont eu le plus grand rôle en me soutenant

Et en me fournissant des informations précieuses.

Prier Dieu tout-puissant de prolonger votre vie et de vous bénir avec de bonnes choses.

LAHMISSI ASSMA

ملخص

في إطار تعزيز النباتات الطبية الجزائرية في البحث عن مواد حيوية جديدة، تمت دراسة نبتة *Scolymus grandiflorus* (Desf.) من منطقة بير رقعة بولاية أم البواقي . في البداية تم تحضير مستخلصات للأجزاء الهوائية للنبات باستخدام أربعة مذيبات ذات قطبية مختلفة (ميثانول، بيتانول، أسيتات الإيثيل، والكلوروفورم). أظهرت النتائج أن مستخلصات الميثانول والبيتانول وأسياتات الإيثيل أعطت أعلى مردودية، تليها المستخلص غير القطبي الكلوروفورم. بعدها تم تقييم النشاط المضاد للميكروبات باستخدام طريقة الانتشار في وسط الاغار ضد (*Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) و *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) و *Escherichia coli* (ATCC 25922) و *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 14990) و *Serratia marcescens* (ATCC 14756) ، وطريقة الاتصال المباشر ضد *Fusarium oxysporum* و *Botrytis sp.* ، كما تم تقييم النشاط المضاد للأوكسدة بواسطة أربعة تقنيات DPPH ، ABTS ، FRAP ، و PHENANTHROLINE . أظهر تقييم النشاط المضاد للميكروبات أن المستخلصات الميثانولية والكلوروفورمية هي المستخلصات الأكثر فعالية لثلاث أنواع من البكتيريا من بين ست سلالات تم اختبارها، وهي *Klebsiella pneumoniae* (سالبة الغرام) و *Staphylococcus aureus* و *Staphylococcus epidermidis* (موجبة الغرام)، كما أظهرت نشاطاً معتبراً مضاداً للفطريات ضد السلالتين الفطريتين المختبرتين، وكان أعلى معدل للتنشيط تم تسجيله بواسطة المستخلص الكلوروفورمي مع فطر *Botrytis sp.* فيما يتعلق بالنشاط المضاد للأوكسدة، أظهرت المستخلصات نشاطاً مضاداً للأوكسدة ضعيفاً تقريباً في جميع الاختبارات المستخدمة.

الكلمات المفتاحية :

Scolymus grandiflorus (Des.) ، مستخلصات عضوية، النشاط المضاد للبكتيريا، النشاط المضاد للفطريات، النشاط المضاد للأوكسدة.

RÉSUMÉ

Dans le cadre de valoriser les plantes médicinales algériennes dans la recherche de nouvelles substances bioactives, une plante de la région de Bir Rogaa , Wilaya d'Oum El Bouaghi, *Scolymus grandiflorus* (Desf.) a été étudiée sur le plan pharmacologique. Des extractions de la partie aérienne de la plante ont été effectuées en utilisant quatre solvants à polarité croissante (Méthanol 70%, Butanol, Acétate d'éthyle et chloroforme). Les résultats montrent que le méthanol, l'n-butanol et l'acétate d'éthyle présentent les plus forts rendements suivis par l'extrait apolaire le chloroforme. L'activité antimicrobienne a été évaluée par la méthode de diffusion en milieu gélosé contre *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 14990), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 27853), *Serratia marcescens* (ATCC 14756), et la méthode de contact direct contre *Fusarium oxysporum* et *Botrytus* sp. L'activité antioxydante, a été évaluée par quatre méthodes à savoir, la méthode du piégeage du radical DPPH, la méthode du piégeage du cation radical ABTS•+, la méthode du pouvoir réducteur (FRAP), et la méthode de réduction du fer par la phénantroline. L'évaluation de l'activité antimicrobienne a montré que les extraits méthanolique et chloroformique sont les extraits actifs pour trois bactéries sur six souches testées, il s'agit de *Klebsiella pneumoniae* ATCC 27853 (Gram négatif), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990 (Gram positif), et ont révélé une activité antifongique significative contre les deux souches fongiques testées, dont le taux d'inhibition le plus élevé a été enregistré par l'extrait chloroformique au contact de champignon *Botrytus* sp. Concernant l'activité antioxydante, les extraits ont montré un effet antioxydant presque faible dans le cas de tous les tests utilisés.

Mots clés: *Scolymus grandiflorus* (Des.), Extraits organiques, activité antibactérienne, activité antifongique, activité antifongique.

ABSTRACT

In order to valorize Algerian medicinal plants in the search for new bioactive substances, a plant from the Bir Rogaa region in Oum El Bouaghi Province, *Scolymus grandiflorus* (Desf.), was studied pharmacologically. Extracts of the aerial parts of the plant were obtained using four solvents with increasing polarity (70% methanol, butanol, ethyl acetate, and chloroform). The results show that methanol, n-butanol, and ethyl acetate exhibited the highest yields, followed by the non-polar extract, chloroform. The antimicrobial activity was evaluated using the agar diffusion method against *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 14990), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 14990), *Serratia marcescens* (ATCC 14756), and the direct contact method against *Fusarium oxysporum* and *Botrytus* sp. The antioxidant activity was evaluated using four methods, namely the *DPPH* radical scavenging method, the ABTS•+ radical scavenging method, the ferric reducing antioxidant power (FRAP) method, and the ferrous ion reducing antioxidant power method using phenanthroline. The evaluation of antimicrobial activity showed that the methanolic and chloroformic extracts were active against three out of the six tested bacterial strains, which include *Klebsiella pneumoniae* ATCC 14990 (Gram-negative), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, and *Staphylococcus epidermidis* ATCC ATCC 14990 (Gram-positive). They also revealed significant antifungal activity against the two tested fungal strains, with the highest inhibition rate recorded by the chloroformic extract in contact with the fungus *Botrytus* sp. Regarding antioxidant activity, the extracts showed a relatively weak antioxidant effect in all the tests used.

Keywords: *Scolymus grandiflorus* (Desf.), Organic extracts, antibacterial activity, antifungal activity, antioxidant activity.

SOMMAIRE

Remerciements	
Dédicace	
الملخص	
Résumé	
Abstract	
Sommaire	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction générale	1

PREMIERE PARTIE

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : LES PLANTES MEDICINALES ET LA FAMILLE DES *Asteraceae*

I.1.Généralités sur les plantes médicinales	2
I.1.1.Définition des plantes médicinales	2
I.1.2.Origine des plantes médicinales	2
I.2. La famille <i>Astéraceae</i>	2
I.2.1. Généralité	2
I.2.2. Distribution géographique	3
I.2.3. Description botanique	3
I.2.4. Classification systématiques.....	5
I.2.5. Historique de la classification des <i>Astéraceae</i>	6
I.2.6. Utilisation	6
I.2.7. Toxicité.....	7

CHAPITRE II : LA PLANTE MEDICINALE SELECTIONNEE

II.1. Le genre <i>Scolymus</i>	8
II.1.1. Description botanique	8
II.1.2. Travaux scientifiques réalisés sur le genre <i>Scolymus</i>	8
II.1.3.Utilisation du genre <i>Scolymus</i>	8

II.2. L'espèce de <i>S. grandiflorus</i>	9
II.2.1. Description botanique	9
II.2.2. Classification systematique	10
II.2.3. Distribution géographique de <i>S. grandiflorus</i>	10
II.2.4. Composition chimique	10
II.2.5. Position systématique.....	12

CHPITRE III : SUBSTANCES BIOACTIVITES ET ACTIVITES BIOLOGIQUES

III. 1. Les substances bioactives	13
III .1.1. Généralités	13
III.1.2. Rôles	13
III.1.3 Origine des métabolites secondaires	13
III.1.4. Localisation des métabolites secondaires	13
III.1.5. Fonctions des métabolites secondaires	14
III.1.6. Classification	14
III.1.6.1. Composés phénoliques	15
a. Définition	15
b. Classification	15
b.1. Acides phénoliques	15
b.2. Coumarines	15
b.3. Lignanes	15
b.4. Stilbènes	16
b.5. Flavonoïdes	16
b.6. Tanins	16
c. Rôles biologiques des polyphénols	16
III.1.6.2. Alcaloïdes	16
a. Définition	16
III.1.6.3. les huiles essentielles	17

a. definition	17
III.2. Les activités biologiques.....	17
III.2.1. Activité antioxydante.....	17
III.2.1.1. Généralité.....	17
III.2.1.2. le stress oxydant.....	17
III.2.1.3. Les causes du stress oxydant	18
III.2.1.4. Les conséquences du stress oxydant	19
III.2.1.5. Les radicaux libres	19
a. Les espèces réactives de l'oxygène radicalaire.....	19
b. Les espèces réactives de l'oxygène non radicalaire.....	19
III.2.5. Les sources des espèces réactives de l'oxygène	20
a. Endogènes	20
b. Exogènes.....	20
III.2.1.7. Role des radicaux libres	20
III.2.1.8. Toxicite des radicaux libres	20
III.2.1.9. Systèmes antioxydants	21
b. Types de Systèmes antioxydants	21
b.1. Systèmes antioxydants enzymatiques endogenes	21
b.2. Systèmes antioxydants non enzymatique.....	21
b.2.1. Systemes antioxydants endogenes	21
b.2.2. Systèmes antioxydants exogènes	21
III.3. Activité antimicrobienne.....	22
III.3.1. Généralité.....	22
III.3.2. Les microorganismes étudiés.....	22
III.3.2.1. Bactéries.....	22
a. <i>Escherichia coli</i>	22
b. <i>Staphylococcus aureus</i>	23

c. <i>Staphylococcus epidermidis</i>	23
d. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	24
e. <i>Serratia marcescens</i>	24
f. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25
II.2.2.2. Champignons.....	25
a. <i>Fusarium oxysporum f.sp</i> (FOL)	25
b. <i>Botrytis SP</i>	26
II.3.2.3. Les antimicrobiens	26
a. Les antibiotiques	26

DEUXIEME PARTIE PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE IV : MATERIEL & METHODES

IV.1. Rappel des objectifs	27
IV.2.1. Matériel et Methodes	27
IV.2.1. Matériel	27
IV.2.1.1. Matériel vegetal	27
IV.2.1.2.1. Matériel du tste de l activite antimicrobienne	28
IV.2.1.2.1 Les souches microbiennes	28
IV.2.1.2.2. Les milieux de culture.	28
IV.2.2 Methodes	29
IV.2.2.1. preparation des extraits vegetaux par maceration	29
IV.2.2.2 Calcul de rendement des extraits	30
IV.2.2.3. Evaluation in vitro de l'activité antimicrobienne	31
IV.2.2.3.1. Etapes de la réalisation de l'activité antibactérienne	31
a. Préparation des prés cultures	31
b. Ensemencement.....	31

c. Application des disques.....	31
d. L'incubation.....	31
IV.2.2.3.2. Protocole de l'activité antifongique.....	32
IV.2.2.3.3. Etapes de la réalisation de l'activité antifongique.....	32
IV.2.2.4. Evaluation <i>in vitro</i> de l'activité antioxydante.....	33
IV.2.2.4.1. Test de DPPH.....	33
a. Principe.....	33
b. Procédure.....	33
IV.2.2.4.2. Test d'ABTS.....	34
a. Principe.....	34
b. Procédure.....	34
IV.2.2.4.3. Test du pouvoir réducteur FRAP.....	34
a-Procédure.....	34
IV.2.2.4.4. Test de Phenanthroline.....	35
a-Principe.....	35
b. Procédure.....	35

CHAPITRE V : RESULTATS & DISCUSSION

V. Resultats et discussion.....	36
V .1. Rendement d'extraction.....	36
V.2. Résultats de l'activité antimicrobienne.....	37
V.2.1. Activité antibactérienne.....	37
V.2.2. Activité antifongique.....	40
V.3. Résultats de l'activité antioxydante.....	41
Conclusion générale.....	45
Références	

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN	Acide désoxyribonucléique.
ADO	Les anti diabétiques oraux.
AscH	Le radical ascorbate de tricarbonyle.
BHA	butyl hydroxy anisole
BHT	L'hydroxy toluène butylé
DMSO	Diméthyl sulfoxyde.
DPPH	(2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl).
E ACT	Extrait d'acétate d'éthyle.
E BuOH	Extrait <i>n</i> -butanolique.
E CHCL3	Extrait de Dichlorométhane
MeOH	Extrait méthanolique.
ERO	Espèces réactives d'oxygène.
GN	Gulose nutritive.
GPx	Glutathion peroxidase,
GEN	Gentamicine.
H2O2	Peroxyde d'hydrogène.
HEs	Huiles Essentielles.
HO2•	Radical perhydroxyle.
HOCl	Acide hypochlorique.
LPS	Lipopolysaccharides.
MH	Muller Hinton.
O2•-	Radical superoxyde l'anion.
O2	L'oxygène.
PDA	Potatoes dextrose agar.
RL	Radicaux libres.
ROS	Espèces réactives de l'oxygène.
S. G	<i>Scolymus grandiflorus</i> .
SOD	Superoxyde dismutase.

LISTES DES FIGURES

Titre de figure	Page
Figure 01 : Distribution des plantes de la famille des <i>Astéracées</i> dans le monde	03
Figure02 : Les <i>Astéraceae</i>	05
Figure 03 : <i>Scolymus grandiflorus</i>	09
Figure04 : Distribution géographique du <i>S. grandiflorus</i>	10
Figure 05 : Caractérisation de <i>scolymus grandiflorus</i>	12
Figure 06 : Le stress oxydant	18
Figure 07 : <i>Escherichia coli</i>	22
Figure 08 : <i>Staphylococcus aureus</i>	23
Figure09 : <i>Staphylococcus epidermidis</i>	23
Figure 10 : <i>klebseilla pneumoniae</i>	24
Figure 11 : <i>Serratia marcescens</i>	24
Figure12 : <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25
Figure13 : <i>Fusarium oxysporum f. s. lycopersici</i>	26
Figure 14 : <i>Botrytis sp</i>	26
Figure15 : Représentation photographique de la plante sélectionnée	28
Figure16 : Localisation de la région de récolte	28
Figure 17 : Appareil d'évaporateur rotatif	29
Figure18 : Préparation de milieu de PDA	32
Figure 19 : Réaction du radical libre DPPH• avec un antioxydant	33
Figure20 : Comparaison du rendement d'extraction de différents extraits de <i>S.g</i>	36
Figure21 : Photographies montrant l'effet de différents extraits de <i>S. grandiflorus</i> sur la croissance des bactéries testée	38
Figure22 : Photographies montrant l'effet de la Gentamycine et DMSO sur la croissance des bactéries testées	38
Figure23 : Photographies montrant l'effet de la Gentamycine et DMSO sur la croissance des bactéries testées	40
Figure24 : Photographies montrant l'effet de différents extraits de <i>S. grandiflorus</i> sur la croissance de champignon <i>Botrytis sp.</i>	41
Figure25 : Courbe d'étalonnage de Trolox	42
Figure26 : Résultat de l'activité antioxydante des extraits de <i>S.grandiflorus</i> sur microplaque	43
Figure27 : Comparaison de l'activité antioxydante des différents extraits de <i>S.grandiflorus</i>	44

LISTE DES TABLEAUX

Titre de tableau	Page
Tableau 1 : Classification systématique de la famille <i>Astéraceae</i>	05
Tableau02. Classification de l'espèce <i>Scolymus grandiflorus</i> .	10
Tableau03. La composition chimique de <i>Scolymus grandiflorus</i>	11
Tableau04. Rendement de différents extraits en pourcentage par rapport au poids total.	36
Tableau 05. Diamètres des zones d'inhibition (mm) de la croissance bactérienne induite par différents extraits de la partie aérienne de <i>S.g.</i>	37
Tableau 06. Pourcentages d'inhibitions de la croissance fongique induite par différents extraits de la partie aérienne de <i>Scolymus grandiflorus</i>	40

INTRODUCTION

GENERALE

Le stress oxydant a été décrit réellement comme un facteur étiologique crucial impliqué dans diverses maladies chroniques humaines telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires et neurodégénérative, inflammation, diabète mellitus et vieillissement (Uttara et al., 2009).

Les antioxydants synthétiques, tels que l'hydroxytoluène butylé (BHT), ont été employés couramment comme antioxydants dans l'industrie alimentaire et peuvent être responsables des dommages du foie et de la carcinogénèse.

C'est pour cela que la recherche sur les antioxydants dans les plantes s'est beaucoup développée ces dernières années, afin de permettre de trouver les meilleurs antioxydants possibles dans l'espoir de protéger notre santé et même guérir ces différentes maladies. (Taviano et al., 2013).

De plus, la résistance aux antibiotiques est devenue un problème extrêmement déterminant dans la santé publique. Elle cause une crise dans beaucoup d'hôpitaux autour du monde. La recherche des agents anti-infectieux s'avère un besoin incontournable (Cushnie et al., 2011).

L'Algérie possède une flore riche et peu valorisée du point de vue de ses potentiels chimiques sensoriels ou biologiques. Les plantes médicinales sont prometteuses et constituent une grande source d'antioxydants et d'antimicrobiens naturels pour l'industrie agroalimentaire et pharmaceutique.

Les études réalisées sur des plantes médicinales appartenant à la famille des Astéracées ont montré que ces dernières renferment des métabolites secondaires doués d'activités biologiques non négligeables (Gheffour et al., 2015)

C'est dans ce contexte que nous avons choisi d'étudier une plante médicinale appartenant à la famille des astéracées : *Scolymus grandiflorus*. Des.

Cette étude s'est fixée comme principaux objectifs :

- Préparation des extraits organiques de la partie aérienne de la plante en utilisant quatre solvants à polarité croissante.
- Etude de l'activité antibactérienne de différents extraits contre six souches bactérienne, en utilisant la méthode de diffusion en milieu solide.
- Etude de l'activité antifongique de différents extraits contre deux souches fongiques, en utilisant la méthode de contact direct.
- Étude de l'activité antioxydant de différents extraits en utilisant quatre méthodes différentes : méthode de DPPH, méthode d'ABTS, méthode du pouvoir réducteur (FRAP), et méthode de réduction De fer par la Phenanthroline.

PREMIERE PARTIE
SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I :
LES PLANTES
MEDICINALES ET LA
FAMILLE DES
ASTERACEAE

I.1. Généralités sur les plantes médicinales

Les plantes médicinales sont importantes pour la recherche pharmacologique et le développement de médicaments, non seulement lorsque les constituants de la plante sont utilisés directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matières premières pour la synthèse de médicaments ou comme modèles pour des composés pharmacologiquement actifs. (AMEENAH, 2006).

I.1.1. Définition des plantes médicinales

Les plantes médicinales sont des plantes dont les organes tels que les feuilles, l'écorce et les fruits ont des effets cicatrisants et parfois toxiques selon le dosage. Les plantes médicinales ont une définition officielle et sont inscrites à la Pharmacopée. Selon la loi sur la santé, la pharmacopée les considère comme des médicaments dont la vente est soumise au monopole des pharmaciens et des herboristes. Par conséquent, les plantes médicinales sont des plantes qui ont un effet thérapeutique. A cette époque, la thérapeutique a beaucoup évolué, utilisant les plantes comme matières premières pour la fabrication pharmaceutique. (Chevallier, 2001).

I.1.2. Origine des plantes médicinales

Selon la définition de la Pharmacopée française (adoptant la 11e édition), « Les plantes médicinales sont des médicaments à base de plantes au sens de la Pharmacopée européenne, dont certains au moins possèdent des propriétés médicinales. » Ces plantes médicinales sont assainisseur d'air. Ou des installations sanitaires. Ce sont des plantes utilisées en médecine traditionnelle, dont au moins certaines ont des propriétés médicinales. Leurs actions reposent sur leurs composés (métabolites primaires ou secondaires) ou sur des effets synergiques entre les différents composés présents (Sanago, 2006).

I.2. La famille *Astéraceae*

I.2.1. Généralité

La famille *Astéracée* est parmi les plus grandes familles d'angiospermes appelées aussi Composées (*Compositae*, nom latin) ou, plus rarement des *Composacées* (Centre national, 2016). Elle compte environ 24 000 espèces regroupées dans 1 600 à 1 700 genres (Funk et al., 2009), ce qui en fait la deuxième plus vaste famille du monde végétal et des plantes à fleurs, derrière les *Orchidaceae* (25 000 espèces) mais devant les *Fabacée* (Jeffrey et al., 2007).

En Algérie, seule en petite Kabylie (les Babors), on compte 49 genres et 69 espèces (Gharzouli et al., 2005).

- . Les genres les plus importants sont :
- les *Séneçons*, *Senecio* avec 1 500 espèces.

- les *Vernonias*, *Vernonia* avec 1 000 espèce.
- les *Cousinias*, *Cousinia* avec 600 espèces.
- les *Eupatoires*, *Eupatorium* avec 600 espèces.

I.2.2. Distribution géographique

La famille des *Astéracées* est présente dans le monde entier (Figure 1), mais c'est une famille cosmopolite qui se diversifie dans des régions sèches telles que la Méditerranée, l'Afrique australe, le Mexique, l'Amérique du Sud et le sud-ouest des États-Unis. (Bruneton, 2007).



Figure 01. Distribution des plantes de la famille des *Astéracées* dans le monde (Filleul, 2019).

1.2.3. Description botanique

Les *Astéraceae* présentent des caractères morphologiques divers, ils sont principalement des herbes vivaces ou annuelles, des arbustes ou sous-arbrisseaux, rarement des plantes aquatiques ou grimpantes ou encore des épiphytes.

- **L'appareil végétatif :** est très variable pour caractériser les Astéracée (Astéracées) sur un seul critère. En revanche, La famille est très homogène au niveau de ses inflorescences très caractéristiques (le capitule) (Gaussen et al., 1982 ; Funk et al., 2009).
- **Les feuilles :** sont le plus souvent alternes, opposées ou verticillées, simples, parfois profondément lobées ou découpées, à nervation généralement pennée ou palmé (Gaussen et al., 1982 ; Funk et al., 2009).
- **Les fleurs :** sont agglomérées en capitules, terminales ou axillaires. L'organisation florale des capitules est très importante à connaître en systématique. Cependant, en certains cas, le nombre de fleurs est assez restreint, on dit qu'ils sont pauciflores quand il y a 8-15 fleurs (ou

moins) (genre *Achillea*). Dans le cas extrême on trouve même des capitules uniflores (*Xanthium*, *Echinops*) mais c'est l'exception (**Bonnier, 1934 ; Funk et al., 2009**). Les fleurs qui composent le capitule sont cyclique, hétéro chlamyde, gamopétale, hermaphrodites ou unisexuées, parfois stérile, actinomorphes ou zygomorphes. Le Calice est absent ou réduit, se développant après fécondation en pappus. Et la Corolle peut être soit régulière et pentalobée, soit zygomorphe et bilabiée, soit unilatéralement développée en une longue ligule tri ou pentadentée.

- **Le grain de pollen des Astéracée** : est généralement tricolores (**Spichiger et al., 2004 ; Judd et al., 1999**). Suivants le type de fleur composant le capitule, on a les inflorescences suivantes :

- **Tubuliflores** : composées uniquement de fleurs actinomorphes, tubuleuses (*Centaureae*) ; dont la corolle est en forme de tube droit ou courbe et terminé, en général, par 5 dents ou lobes plus ou moins prononcés, égaux ou inégaux.

- **Les liguliflores** : composées uniquement de fleurs zygomorphes, ligulées à cinq dents (*Lactuca*), dont la corolle est déjetée en majeure partie, sur le côté en une lame aplatie qui se termine par 3 ou 5 dents. Labiatiflores : composées uniquement de fleurs zygomorphes bilabiées (*Mutisia*). Et radiées ; composé par des fleurs zygomorphes ligulées à trois dents à la périphérie entouré des fleurs actinomorphes tubuleuses au centre (Senecio) (**Spichiger et al., 2004**). Le fruit est un akène, sa forme est variable : cylindrique, linéaire, obovale, tétraédrique, etc.

La surface peut être : lisse, côtelée, rugueuse, tuberculée, aiguillonnée, glabre ou poilue, etc. Le sommet est parfois nu (l'akène est alors dit chauve) mais, très souvent, couronnée généralement d'une aigrette de soie appelée Pappus provenant du développement du calice après fécondation, dont le rôle est de favoriser la dissémination, La graine possède un embryon droit sans albumen : exalbuminées.



Figure02. Les *Astéraceae* (centerblog).

Les *Astéraceae* sont pourvues d'un appareil sécréteur bien développé. Les espèces Aromatiques comme la *camomille* et l'*armoise* ont des cellules, des canaux et des poiles Sécréteurs d'essences. Les espèces à lactifère comme les *chicorées* exsudent un latex blanchâtre lorsqu'on brise leur tige. Toutes sont caractérisées biochimiquement par l'inuline qui représente leur principal glucide de réserve. Enfin elles sont riches en dérivés polyacétylénique et en lactones sesquiterpéniques. On peut classer les *Astéracées* en deux grandes classes :

1. Les *Astéraceae* à latex : chicorées et plantes affines (Pissenlit, Salsifis Laitue.....).
2. Les *Astéraceae* à résine et à essence, généralement sans latex : chardons, Bleuet, Bardane, Armoise, Camomille..... (Grimaud F, 2009).

I.2.4. Classification systématique

Les plantes de la famille *Asteraceae* sont classés comme suit

Tableau 1 : Classification systématique de la famille *Astéraceae* (Tela botanica)

Règne	Plantae
Embranchement	<i>Spermatophytae</i>
Sous –embranchement	<i>Angiospermae</i>
Classe	<i>Dicotylèdonae</i>
Sous classe	<i>Asteridae</i>
Ordre	<i>Asterales</i>
Famille	<i>Asteraceae</i>

I .2.5. Historique de la classification des *Astéraceae*

Les *Astéraceae* ont été décrits pour la première fois en 1792 par le botaniste allemand Paul Dietrich Giseke (**Solbrig, 1963**) et la classification initiale de la famille a été produite par **Cassini (1819)** qui a regroupé des genres en tribus, cette classification a été plus ou moins utilisée jusqu'aux années 1980. Cependant, certains concepts ont été changés, spécialement dans les tribus *Vernonieae*, *Liabeae*, *Senecioneae* et *Helenieae* (**Bentham, 1873**). Les travaux de Bentham ont été développés indépendamment de ceux de Cassini et les 13 tribus données par Bentham correspondent à plusieurs des 20 tribus données par Cassini. Le regroupement de ces tribus en sous-familles est relativement récent. Carlquist (1976) et Wagenitz (1976) ont divisé les *Compositae* en deux groupes : les *Asteroideae* et les *Cichorioideae*. Les plus grands changements dans la systématique des *Asteraceae* ont pris place à la fin des années 1980, début des années 1990. Ils sont basés sur les travaux de biologie moléculaires de Jansen et Palmer (1987, 1988), Jansen et al. (1991) et Jansen et Kim (1996). Ils ont révolutionné complètement la phylogénie des *Compositae*. En même temps, les analyses de Bremer (1987), basées essentiellement sur des données morphologiques, sont pour la plupart en accord avec les conclusions moléculaires. Avec l'avènement des études phylogénétiques moléculaires, la classification des *Asteraceae* a changé relativement rapidement, principalement grâce à la reconnaissance de groupes monophylétiques traditionnellement inclus dans les *Cichorioideae*. Les travaux de Jansen et Palmer (1987) et de Bremer (1994) ont montré que la famille des *Asteraceae* est subdivisée en trois groupes et 17 tribus avec un groupe monophylétique représenté par la sous-famille des *Barnadesioideae* qui comprend moins de 1% des espèces de composées. Le groupe monophylétique de la sous-famille des *Asteroideae* comprend 65% des espèces de composées et le groupe de la sous-famille des *Cichorioideae* (positionnée entre les deux premières sous-familles) comprend 35% des espèces. Et les dernières données publiées par (**Funk et al., 2009**) montrent que la famille des *Astéracée* est divisée en 12 sous-familles et 43 tribus.

I .2.6. Utilisation

La famille des *Astéraceae* est une grande famille dans le monde végétal, elle est connue par sa richesse en métabolites secondaire bioactif parmi les plantes appartenant on cette famille on trouve des espèces cultivées pour la production d'huile pour la consommation humaine et animale à usage ornementale et surtout à usage thérapeutique.

I.2.7. Toxicité

Certaines *Astéraceae* contiennent des alcaloïdes pyrrolizidiniques, qui constituent un mécanisme de défense contre les animaux herbivores. Leur consommation régulière en tant que plantes médicinales ou en infusion peut occasionner, bien que rares, des intoxications hépatiques. Les espèces concernées sont notamment les *séneçons* (*Senecio jacobaea*, *Senecio vulgaris*), l'eupatoire (*Eupatorium cannabinum*) ou le tussilage (*Tussilago farfara*).

La majorité des *Astéraceae* présentent un potentiel allergisant moyen, mais le risque d'allergie est faible. En effet, la plupart des espèces sont pollinisées par les insectes et l'on retrouve peu leurs grains de pollen dans l'air, à l'inverse des plantes dont la pollinisation est assurée par le vent. Certaines espèces font toutefois exception, parmi lesquelles l'ambrosie à feuille d'armoise (*Ambrosia artemisiifolia*) ainsi que d'autres espèces d'ambrosie (*A. trifida*, *A. tenuifolia*, *A. psyllostachia* et *A. maritima*). (**Jardine de France**).

CHAPITRE II :
LA PLANTE
MEDICINALE
SELECTIONNEE

II.1. Le genre *scolymus*

II.1.1. Description botanique

Scolymus vient du mot grec *scolomos*, signifiant « chardon aux racines comestibles ». Ce sont des chardons caractérisés par des capitules multi fleurs homogènes avec des fleurs ligaturées, chacune avec un involucre hermaphrodite à multiples rangées de bractées écailleuses. Il a également une bractée involucrelle supplémentaire constituée de bractées pectinées avec des épines (**Quezel et al., 1963**). La première description de ce genre apparaît dans l'ouvrage de Charles de l'Ecluse (1576) comme description d'une seule espèce. Théophraste description de trois spécialités de *S. hispanicus* L. il y a plus de 25 ans : *S. Théophraste Hispan* Synonymes. [=cent. Spanish L. subsp. Spanish] ; *S. theophrastus narbonensis* [= *S. maculatus* L.] et *S. dioscor Castos theophrastus* [= *S. grandiflorus* Desf.] (**Vázquez, 2000**).

II.1.2. Travaux scientifiques réalisés sur le genre *Scolymus*

- Qu'en 1997 des études ont été menées sur l'extrait éthanolique de l'écorce et de la racine de *S. hispanicus*, son composé principal l'acétate de Taraxasteryl à montrer une activité antispasmodique sur l'iléon des rats isolé. (**Kirimer et al., 1997**).

- En 2009 une équipe de chercheurs a testé l'activité antifongique de l'extrait hydro alcoolique de *S. hispanicus* qui a inhibé le développement d'un champignon (*Botrytis cinerea*) à 4% (**Ionescu et al., 2009**).

- En 2013 des scientifiques ont étudié le potentiel thérapeutique des extraits aqueux méthanol de *S. hispanicus* contre le diabète type 1 qui a été provoqué par une injection de la streptozotocine (65mg/kg de poids corporel) chez des rats après une semaine de l'injection, puis ils ont administré à ces rats des extraits de plantes à des doses de 100 mg/kg de poids corporel par jour pendant 28 jours. Les résultats ont montré que l'extrait du *S. hispanicus* ($p < 0,05$) a modifié à jeun le niveau de glucose dans le sang. (**Ozkol et al., 2013**).

- En Turquie les écorces et de racines de *S. hispanicus* est commercialisés pour un médicament prescrit pour faire passer les calculs rénaux et de la vessie (**Vazquez F.M, 2000**).

II.1.3. Utilisation du genre *Scolymus*

Cependant, des études menées auprès d'herboristes spécialisés en phytothérapie révèlent que le genre *S. grandiflorus* a une utilisation traditionnelle en tant que remède contre les maux d'estomac, un tonique, un traitement contre les calculs rénaux et les infections des voies urinaires. De plus, il est également utilisé pour traiter la maladie cœliaque et les hémorroïdes.

Les racines de cette plante sont également employées dans les domaines culinaires pour préparer un mélange de plantes bien connu qui a des effets bénéfiques sur la santé (appelé Berkoukes).

II.2. L'espèce de *S. grandiflorus*.

II.2.1. Description botanique

- Plante : vivace de 15 à 50 cm dressée.
- Pilosité: Pubescente.
- Tiges : à fortes ailes ininterrompues (sauf à la base), épineuse, simple, terminée par 1 à 5 capitules sensilles enveloppés de 3 bractées (6 au capitule terminal) ils sont longs, coriaces et pointus avec des épines forts et raides a la base. **(Ozkol et al., 2013).**
- Feuilles : oblongue ou linéaire profondément découpée a segments étroits, les caulinaires Décurrentes. **(Ozkol et al., 2013).**
- Fleurs : jaunes deux fois plus grandes, soit environ 3cm de diamètre.
- Fruit : akènes surmontés de 2 ou 3 soies.
- Couleur(s) de l'inflorescence : Jaune.



Figure03. *Scolymus grandiflorus*

II.2.2. Classification systématique

Tableau 02. Classification de l'espèce *Scolymus grandiflorus*. (Naegeli , 1970).

Règne	<i>Plantae</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida (Dicotylédones)</i>
Ordre	<i>Asterales</i>
Famille	<i>Asteraceae</i>
Genre	<i>Scolymus</i>
Espèce	<i>Scolymus grandiflorus</i>

II.2.3. Distribution géographique de *S. grandiflorus*

Cette espèce est beaucoup trouvée dans le nord-ouest de l'Afrique Algérie, Maroc, Tunisie, Libye, on peut aussi la trouver en France, Italie, Turquie, Liban ... (Kirimer et al., 1997).



Figure 04. Distribution géographique du *S. grandiflorus* (Nssrine, 2016)

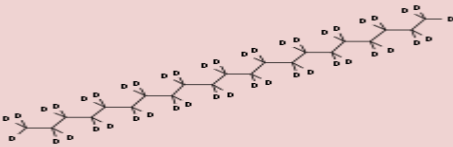
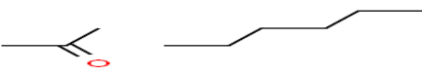

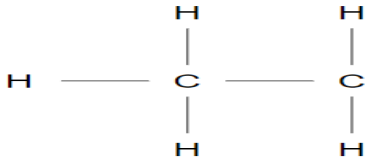
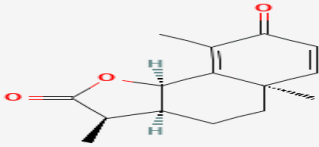
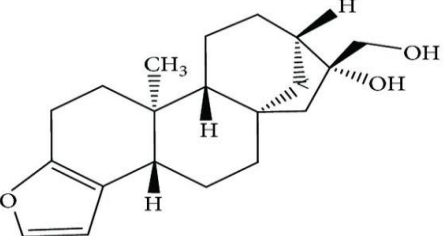
II.2.4. Composition chimique

Le genre *Scolymus* est très peu documenté en termes d'études photochimiques, à notre connaissance, seule l'espèce *S. hispanicus* a été étudiée.

La composition chimique de l'huile essentielle des parties aériennes a été rapportée pour la première fois par (Hüseyin Servi, (2019)

Les principaux composés étaient :

Tableau03. La composition chimique de *Scolymus grandiflorus*

Composition	Structure	Percentages %
l'heneicosane		(19,4%)
l'acétone hexahydrofarnésique		(17,0%)
le phytol		(17,0%)
Les n-alcanes saturés		(35,2%)
les sesquiterpènes oxygénés		(25,6%)
les diterpènes		(17,0%)

II.2.5. Position systématique

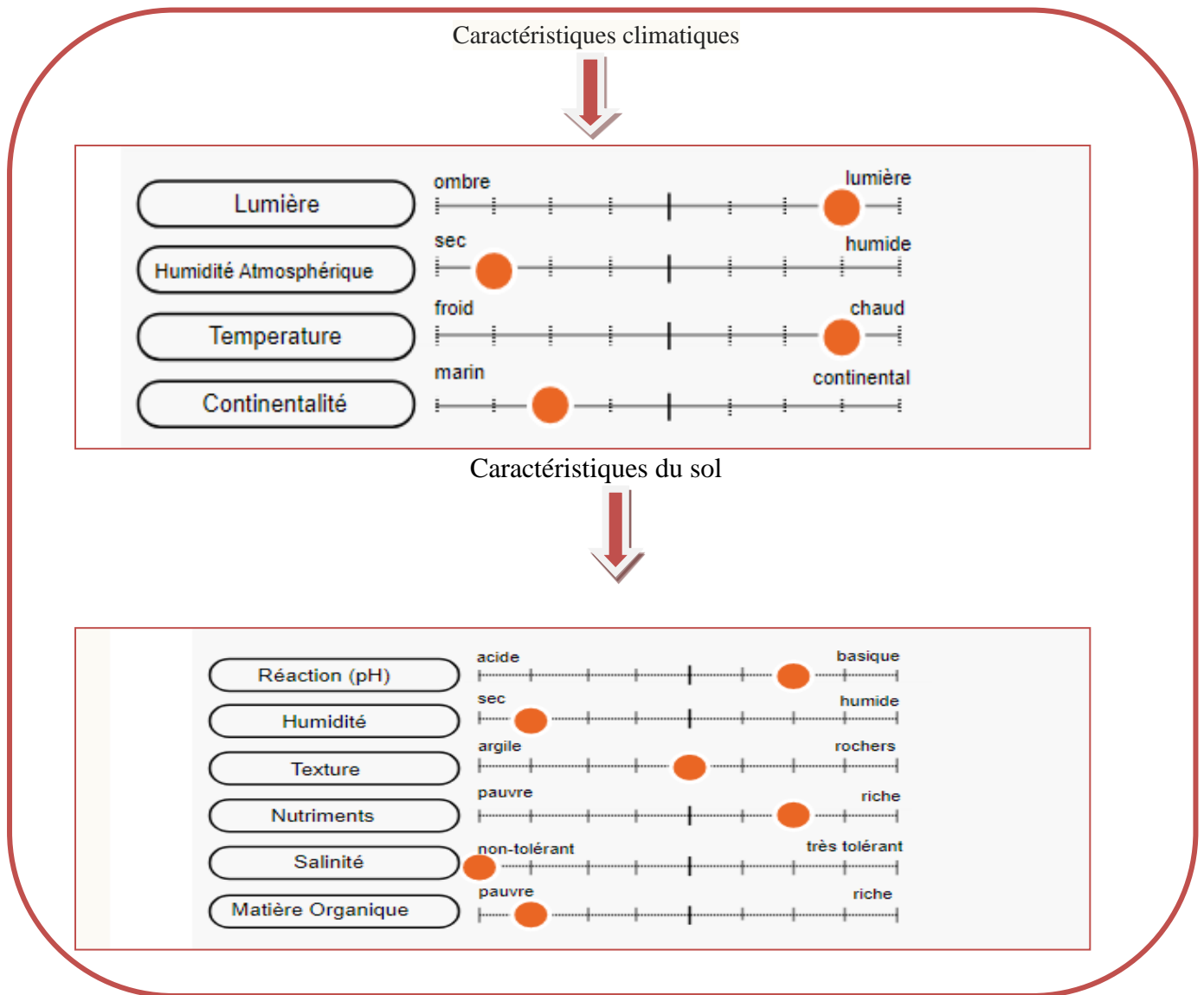


Figure 05. Caractérisation de *Scolymus grandiflorus* (tela botanica).

CHAPITRE III :
SUBSTANCES
BIOACTIVES ET
ACTIVITES
BIOLOGIQUES

III. 1. Les substances bioactives.

III .1.1. Généralités

Les métabolites sont des molécules formées au cours du métabolisme végétal (ou animal). Il existe deux classes de métabolites : les métabolites primaires et secondaires. Les métabolites primaires sont une classe de métabolites qui sont directement impliqués dans l'activité métabolique. Croissance, développement et reproduction normaux d'organismes ou de cellules. (Vazquez, 2000).

III.1.2. Rôles

Les métabolites secondaires sont impliqués dans le processus de survie de l'espèce végétale :

❖ Il joue chez celles-ci différents rôles, comme des signaux chimiques permettant à la plante de s'adapter à l'environnement, de moyens de défense contre les herbivores, les pathogènes ou les compétiteurs. D'autres protègent la plante des radiations solaires ou encore facilitent la dispersion du pollen et des graines. (Vazquez, 2000),

- ❖ Attraction des agents pollinisateurs et disséminateurs.
- ❖ Ils participent à des réponses allélopathiques (compétition entre les plantes pour la germination et la croissance.
- ❖ L'allélopathie (compétition plante-plante).
- ❖ La symbiose plante-microbe au niveau des nodules racinaires.
- ❖ La couleur, l'odeur et le goût. Ils peuvent donc servir d'attractifs pour les pollinisateurs.

III.1.3 Origine des métabolites secondaires

- Les composés phénoliques ou les polyphénols, qui dérivent de la voie de l'acide shikimique et acétate/malonate).
- Les alcaloïdes ou les composés azotés qui dérivent des acides aminés.
- Les terpènes qui dérivent de l'IPP (isopentényl pyrophosphate), une molécule à 5C.

III.1.4. Localisation des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires existent dans toutes les parties des plantes mais ils sont distribués différemment selon leurs rôles défensifs. Cette distribution varie d'une plante à une autre.

- ✓ Retrouvés à différents organes de la plante (racine, tige, feuilles, fruits, fleurs et graines).
- ✓ Stockés parfois dans un organe autre que le lieu de synthèse.

- ✓ Localisation au niveau cellulaire, tissulaire, vacuole (nicotine, saponosides, hétérosides, tanins, anthocyanes).
- ✓ Constituants des parois (lignine).

III.1.5. Fonctions des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires jouent un rôle crucial dans la survie et la reproduction des plantes. Contrairement à l'idée précédente selon laquelle ils étaient des déchets, on sait maintenant qu'ils agissent comme des signaux chimiques permettant aux plantes de réagir aux signaux environnementaux. Certains métabolites secondaires, tels que les alcaloïdes, les tanins et les lactones sesquiterpéniques, sont produits en réponse aux dommages, aux attaques de bactéries ou de champignons, ou à la compétition avec d'autres plantes. Ces substances toxiques ou répulsives protègent les plantes contre les herbivores et les agents pathogènes tels que les phytoalexines, qui sont des substances antibactériennes. Certains métabolites secondaires offrent une protection contre l'exposition au soleil et favorisent la dispersion du pollen et des graines. En outre, de nombreux métabolites secondaires présentent une activité pharmacologique chez les humains et les animaux. (Vazquez., 2000).

III.1.6. Classification

Les métabolites secondaires sont composés de 3 principales catégories qui sont :

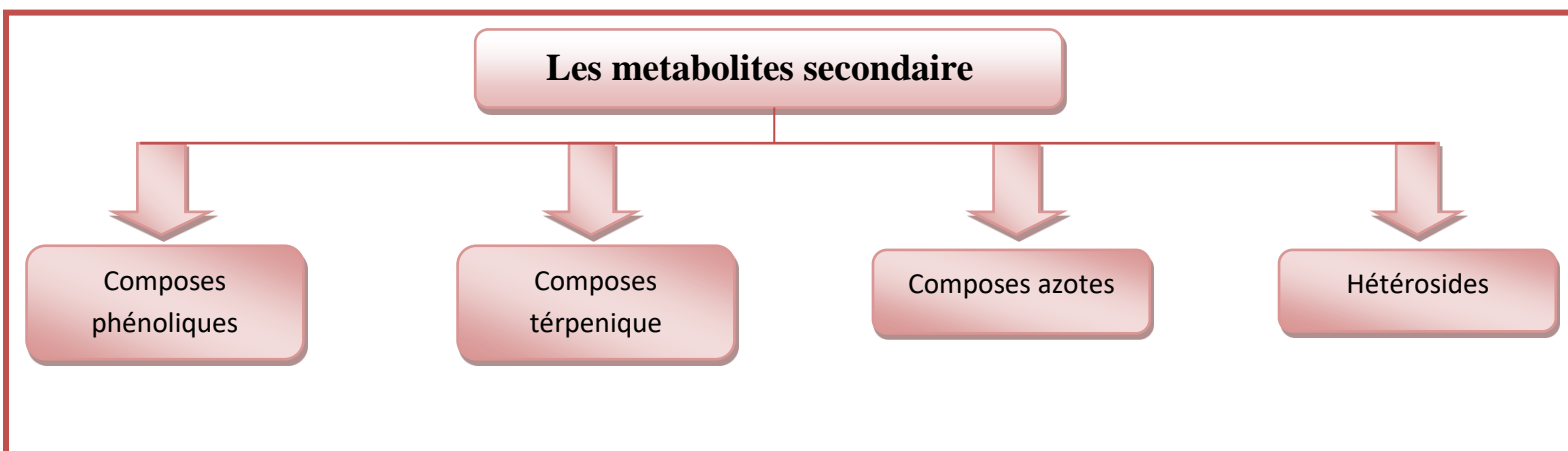


Schéma 01. Les principaux métabolites secondaires

III.1.6.1. Composés phénoliques

a. Définition

Les composés phénoliques, ou polyphénols, forment une grande famille de composés très divers allant des acides phénoliques simples aux polymères volumineux et complexes tels que les tanins et les lignines. La structure de base est le phénol, qui est un cycle aromatique. Les polyphénols sont des métabolites secondaires des végétaux, caractérisés par la présence d'au moins un cycle benzénique avec au moins un groupement hydroxyle libre directement attaché ou remplissant d'autres fonctions telles que les éthers, les esters ou les hétérosides. (Achat,S, 2014)

b. Classification

Les composés phénoliques peuvent être classés en fonction de la longueur de la chaîne aliphatique liée au noyau benzénique en :

- ❖ Les dérivés en C6-C1.
- ❖ Les dérivés en C6-C3 ou phenylpropanoïdes.
- ❖ Les composés en C6-C3-C6 sont les plus importants.

b.1. Acides phénoliques

Ils sont divisés en deux classes :

- Les acides hydroxybenzoïques (formule de base de type C6-C1).
- Les acides hydroxycinnamiques (de structure de base (C6-C3) dérive de celle de l'acide cinnamique) (Bruneton., 2009).

b.2. Coumarines

La coumarine est produite à partir du métabolisme de la phénylalanine. L'intérêt pharmacologique des coumarines est limité. Les coumarines présentes dans les plantes sont généralement des phytoalexines, ce qui signifie qu'elles jouent un rôle dans le mécanisme de défense de la plante contre les micro-organismes. (Bahaz et Rachdi., 2010).

b.3.Lignanes

Le terme lignanes a été introduit par Haworth en 1936. Leur répartition végétale est Dans l'ensemble, des centaines de connexions sont devenues orphelines dans environ 70 familles. Composés dont la formation implique la condensation d'unités phénylpropane (C6-C3) (Bruneton., 2009).

b.4. Stilbènes

Les stilbènes sont des composés phénoliques du type de phytoalexines. Ils contenant Au minimum deux noyaux aromatiques reliés par une double liaison, dont la structure est C6-C2-C6, comme les flavonoïdes, formant ainsi un système conjugué. Cette particularité leur Confère une grande réactivité due à la résonance des électrons sur la totalité de la molécule (**Crozier et al., 2006**).

b.5. Flavonoïdes

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des flavonoïdes. Ils appartiennent à la famille des polyphénols et sont considérés comme des pigments végétaux quasi universels, souvent impliqués dans la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Dans la nature, les flavonoïdes se trouvent le plus souvent sous forme de glycosides (**Ghestem et al., 2001**).

b.6. Tanins

Le terme tanin dérive de la capacité de tannage de la peau animale au cours de sa transformation en cuir. Les tannins sont des composés phénoliques astringents solubles dans l'eau. Ils sont très répandus chez les angiospermes, les gymnospermes et les dicotylédones

Les tanins sont très répandus dans le règne végétal, mais ils sont particulièrement abondants dans certaines familles comme les *Conifères*, les *Fagacée*, les *Rosacée*. Ils peuvent exister dans divers organes : l'écorce, les feuilles, les fruits, les racines et les graines. (**Paris et Hurabielle, 1981**).

c. Rôles biologiques des polyphénols

Rôle des composés phénoliques dans la prévention des infections Certaines maladies dues à des interactions possibles avec de nombreuses enzymes leurs propriétés antioxydantes (**Macheix, et al, 2005**).

III.1.6.2 Alcaloïdes

a. Définition

Le terme d'alcaloïde a été introduit par W. Meisner au début du XIX^{èm}. Ils constituent un des plus grands groupes de métabolites secondaires avec près de 10 000 à 12 000 différentes structures, est un composé d'origine naturelle (le plus souvent végétale), azoté, plus ou moins basique, de distribution restreinte. L'appartenance aux alcaloïdes est confirmée par les réactions communes de précipitation avec les réactifs généraux des alcaloïdes. (**Bahorun., 1997**).

III.1.6.3 Les huiles essentielles

a. définition

Les HEs doivent leur nom à ce qu'elles sont très réfringentes, hydrophobes et lipophiles. Elles ne sont que très peu solubles ou pas du tout dans l'eau et on les retrouve dans le protoplasme sous forme d'émulsion plus ou moins stable qui tend à se collecter en gouttelettes de grosse taille. Par contre, elles sont solubles dans les solvants (acétone, sulfure de carbone, chloroforme, etc.) des lipides et, à l'inverse des glycérides, dans l'alcool (**Fabiano-Tixier et al., 2008**). Les huiles essentielles sont des métabolites secondaires des plantes, appelées couramment essences, elles sont des produits odorants volatiles, extraits de différentes parties de plantes possèdent un indice de réfraction élevé et ont une densité inférieure à celle de l'eau, tandis que plusieurs exceptions existent. Elles sont aussi solubles dans les alcools et la plupart des solvants organiques. (**Li Y et al., 2014**).

III.2. Les activités biologiques

III.2.1. L'activité antioxydant

III.2.1.1. Généralité

L'oxygène (O₂) est le premier élément essentiel pour la vie, responsable du Fonctionnement normal de tout le système aérobie. Par contre l'O₂ est responsable d'un nombre de processus d'oxydation suivi de mauvaises conséquences comme le stress oxydatif (oxydant) (**Garcia-Plazaola., 1999**).

III.2.1.2. Le stress oxydant

Est défini comme un déséquilibre entre les systèmes oxydants et les capacités antioxydants d'un organisme, d'une cellule ou d'un compartiment cellulaire. Cette situation peut être due à une diminution des défenses antioxydants ou à une augmentation de production des radicaux libres (**Orban., 2010**).

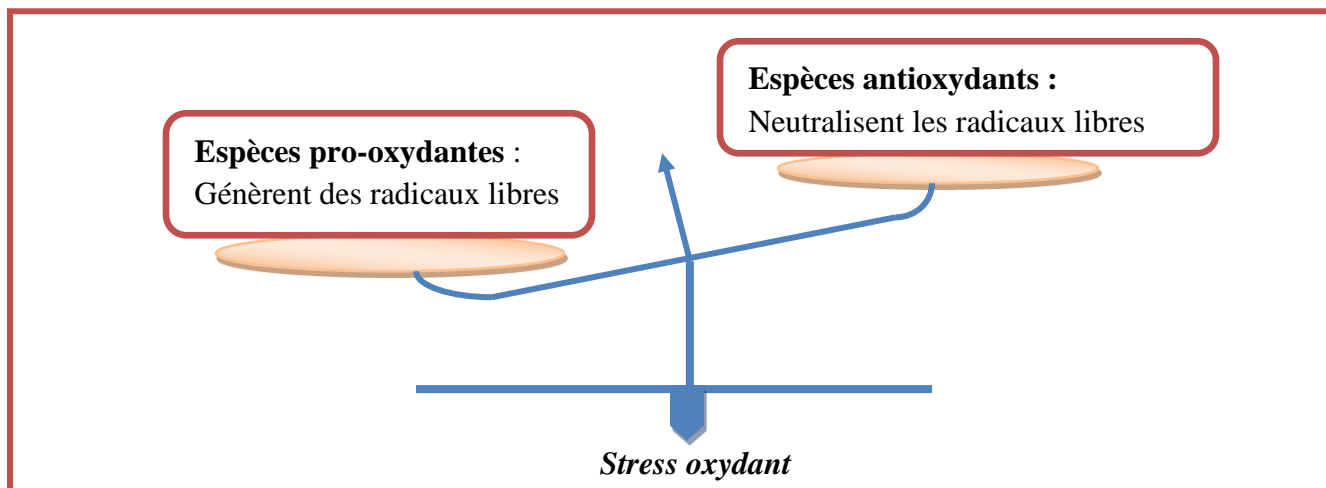


Figure 06. Le stress oxydant

III.2.1.3. Les causes du stress oxydant

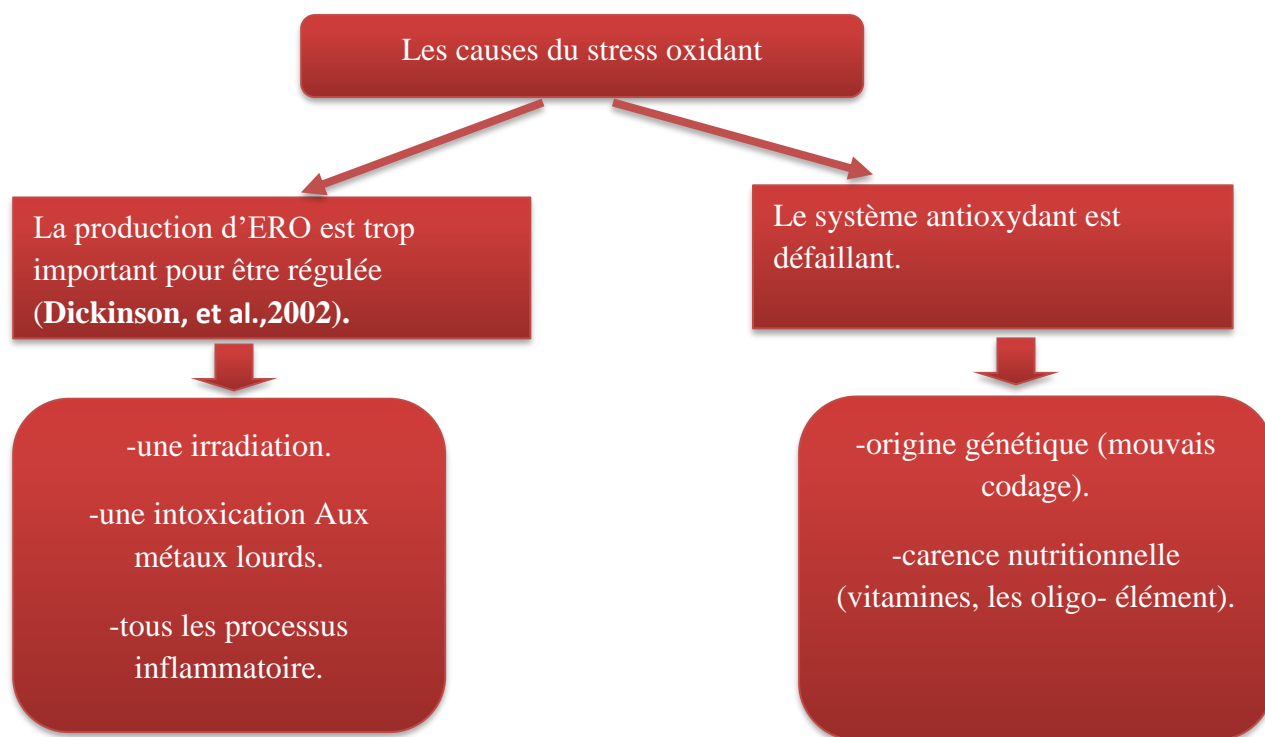


Schéma02.les causes de stress oxydant (Dickinson et al., 2002).

III.2.1.4. Les conséquences du stress oxydant

➤ La production excessive de RL provoque des lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides).

Des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés

III.2.1.5. Les radicaux libres

Les atomes ou molécules qui produisent un ou plusieurs électrons non appariés sur leur enveloppe externe sont appelés radicaux libres. Ils se manifestent soit par une réaction redox impliquant la perte ou le gain d'un électron à partir d'un composé non radicalaire, soit par la rupture d'une liaison covalente dans laquelle chaque atome conserve son électron. Les radicaux libres peuvent être réducteurs ou oxydants, selon leurs instabilités énergétiques, et ils ont la propriété d'être extrêmement réactifs vis-à-vis des molécules proches. Ils ont également une demi-vie extrêmement courte. Les radicaux libres ont tendance à revenir immédiatement à l'état stable en donnant un électron ou en en prenant un à une autre molécule. (**Ramonatxo., 2006**).

a. Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) radicalaire

L'ajout d'un électron supplémentaire à la structure initiale de l'oxygène produit l'anion radical superoxyde ($O_2^{\bullet-}$). Malgré une réactivité modérée, ce radical préfère un petit nombre de cibles, dont le cytochrome c (Fe^{3+}), l'ascorbate, et surtout la superoxydedismutase.

Le radical perhydroxyle (HO_2^{\bullet}), plus réactif que le précédent, est créé par protonation du précédent à un pH inférieur à 4,8. En présence d'un catalyseur, Fe^{2+} , la réduction monoélectron de H_2O_2 produit le radical HO^{\bullet} et l'anion basique non radicalaire OH^- (réaction de Fenton : $H_2O_2 + Fe^{2+} \rightarrow HO^{\bullet} + Fe^{3+} + OH^-$). Cette espèce chimique hautement réactive contribue de manière significative à l'oxydation des lipides et à la destruction du matériel génétique. (**Hennebelle, T, 2006**).

b. Les espèces réactives de l'oxygène. (ROS) non radicalaires

Selon les recherches de **Choe et Min (2005)**, la présence de leucocytes ou l'exposition aux rayons UV peut entraîner la génération de singulet d'oxygène (1O_2), une forme d'oxygène non radical qui joue un rôle dans le vieillissement cutané et certains troubles liés à l'âge. Le H_2O_2 peroxyde d'hydrogène est également toxique, en particulier à cause de sa transformation en radical hydroxyle en présence de cations métalliques Fe^{2+} et Cu^+ , lors de réactions de type « Fenton »

(Wardman, et al.,1996). La myéloperoxydase convertit le peroxyde d'hydrogène En acide hypochlorique (HOCl) à des concentrations physiologiques. Ce dernier peut réagir avec Les fonctions amines des protéines pour former des chloramines (Martinez, M. T., 2004).

III.2.1.6. Les sources des espèces réactives de l'oxygène.

Les ROS sont à l'origine de la génération d'un stress oxydant et peuvent provenir de sources endogènes ou exogènes.

a. Endogènes

Selon les travaux de Wolff et al. (1991), les mécanismes internes qui produisent des espèces réactives de l'oxygène (ROS) sont souvent avantageux pour les cellules car ils jouent un rôle essentiel dans de nombreux processus biologiques. Par exemple, dans des conditions physiologiques, l'auto-oxydation des aldoses entraîne une réduction de l'oxygène moléculaire, ce qui génère des alpha-cétoaldéhydes, du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et des radicaux intermédiaires.

b.Exogènes

Il existe également des sources exogènes telles que les polluants photochimiques, le tabac, les drogues et les radiations ionisantes, pénétrant dans l'organisme par la respiration, l'alimentation ou les muqueuses (Blache et al.,1992) surproduction de ROS peut être aussi induite par des processus de type ischémie-reperfusion qui sont à l'origine d'une partie des rejets des greffes (Serrano et al.,2000).

III.2.1.7. Rôle des radicaux libres

Ces dernières années, on s'est beaucoup concentré sur le rôle des radicaux libres et de l'oxygène actif dans le vieillissement et certains processus pathologiques, notamment le cancer, les maladies cardiaques, l'arthrite inflammatoire et la fonction immunologique réduite. Un déséquilibre entre une quantité élevée de dérivés réactifs de l'O₂ et une diminution de l'activité antioxydante est appelé stress oxydatif. Les dommages aux structures cellulaires et aux tissus peuvent résulter d'une augmentation du stress oxydatif.

III.2.1.8. Toxicité des radicaux libres

Selon les travaux de Favier A. (2003), lorsque les radicaux libres agissent sur l'ADN, les protéines, les lipides et les glucides, cela entraîne la dégradation directe des composants cellulaires. Les effets biologiques résultant de cette activité toxique peuvent varier considérablement en fonction de la quantité et du type de cellule exposée.

III.2.1.9. Systèmes antioxydants

a. Définition d'un antioxydant

Un antioxydant est une molécule qui possède une capacité à capter ou à piéger les Radicaux libres produits spontanément et d'une façon continue dans l'organisme vivant (**Zaabat., 2011**).

b. Types de systèmes antioxydants

b.1. Systèmes antioxydants enzymatiques endogènes

Selon **Sharma (2012)**, les systèmes enzymatiques antioxydants les plus efficaces chez les mammifères et les plantes comprennent principalement la superoxyde dismutase (SOD), la catalase et la glutathion peroxydase. La superoxyde dismutase joue un rôle crucial en convertissant les ions superoxydes en molécules de peroxyde d'hydrogène et d'oxygène. La catalase, présente principalement dans les érythrocytes et les peroxysomes, est responsable de la décomposition du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire. La glutathion peroxydase (GPx), quant à elle, combine la réduction de l'hydroperoxyde avec l'oxydation d'un substrat réducteur, permettant ainsi la détoxification du peroxyde d'hydrogène ainsi que d'autres hydroperoxydes dérivés de lipides (**Mariani et al., 2014**).

b.2. Systèmes antioxydants non-enzymatiques

b.2.1. Systèmes antioxydants endogènes

Le glutathion, le thiol le plus abondant dans l'organisme, participe à des mécanismes antioxydants en réagissant avec divers radicaux et en détoxifiant les peroxydes. L'acide lipoïque, un autre thiol important, présente des propriétés antioxydantes en capturant les radicaux, en liant les métaux et en régénérant d'autres antioxydants (**Masella et al., 2005**) L'acide urique, la bilirubine, les mélanines et la mélatonine sont également des composés ayant des propriétés antioxydantes contre certains radicaux. Ces thiols et autres antioxydants jouent un rôle important dans la protection contre les dommages oxydatifs dans l'organisme (**Delattre., 2005**).

b.2.2. Systèmes antioxydants exogènes

Selon **Call et Frei (1999)**, les antioxydants chimiques exogènes, tels que les vitamines C et E, les caroténoïdes et les composés phénoliques, jouent un rôle crucial dans la protection contre l'oxydation. L'acide ascorbique, également connu sous le nom de vitamine C, est une substance hydrosoluble présente dans de nombreux fruits et légumes, mais elle n'est pas synthétisée par le corps humain. Son action contre l'oxydation des membranes cellulaires est bien connue. Sa forme ionisée prédominante (AscH⁻), réagissant avec les radicaux pour former le radical ascorbate de

tricarbone (AscH•) stabilisé par résonance, lui confère ses propriétés antioxydantes. La forme radicalaire peu réactive (Asc•-), avec un faible pK, est privilégiée (Valko et al., 2006). Des études sur la supplémentation en vitamine C in vivo ont généralement démontré une diminution de l'oxydation de l'ADN, des protéines et de la lipoperoxydation. Cependant, certains auteurs ont également associé, in vitro, un effet oxydant de cette molécule en accélérant la réaction de Fenton dans des conditions tamponnées (Valko et al., 2006).

III.3. Activité antimicrobienne

III.3.1. Généralité

Dans le but d'en découvrir davantage l'influence de différentes activités biologiques sur les plantes, on y intéresse de plus de reconnaître la capacité des plantes étudiées (*Scolymus Grandiflorus*) à inhiber la croissance des souches bactériennes qui a été évaluée in vitro.

III.3.2. Les microorganismes étudiés

III.3.2.1. Bactéries

a. *Escherichia coli*

La bactérie est désormais connue sous le nom *Escherichia coli* a été décrite pour la première fois par un pédiatre allemand, Theodore Escherich, à la fin du XIXème siècle (Escherich, 1885), l'espèce *Bacterium coli* commune, isolée de selles de bébés nourris exclusivement au lait maternel (Delphine et al., 2008).

Caractères morphologiques de *E.Coli* est bacille à bout arrondi, *Gram*-, mesure approximativement 2 à 4µm de longueur sur 0.6µm de largeur, ne possédant ni capsule ni spores, elle se présente isolée ou en courtes chaînettes, et en quelques cas, sous forme de très long filaments. Pourvu de cils, elle est généralement mobile grâce à une ciliature péritriche mais cette mobilité est très variable selon le milieu où la souche a étéensemencée. (Site)



Figure07. *Escherichia coli*.

b. *Staphylococcus aureus*

Ce sont des *Cocci* Gram positif d'environ 0,5 à 1µm de diamètre, apparaissant au Microscope sous la forme diplocoques et en courtes chaînettes ou grappes ressemblant à des Raisins en raison de trois planaires incomplètes divisions (**dellarras.,2014**). Cette bactérie immobile, non productrice des spores mais résistante et parfois encapsulée (**Rebiahi., 2012**). En produisant des colonies dorées jaunes pigmentées, cette pigmentation est évoquée dans le nom du microbe, comme *aureus* signifie doré (**dellarras.,2014**). Il est maintenant établi que *S.aureus* est une *bactérieaero-anaérobie* facultative qui, produit une catalase et une coagulase, et qui peut tolérer une activité en eau très réduite (**Alioua., 2015**).



Figure08. *Staphylococcus aureus*.

c. *Staphylococcus epidermidis*

Staphylococcus epidermidis est un membre commun de la microflore épithéliale humaine et l'un des agents pathogènes nosocomiaux les plus fréquents. *S. epidermidis* est principalement impliqué dans les infections internes associées aux dispositifs médicaux. La prévalence dans ce type d'infection est probablement due à son abondance sur la peau humaine et à sa capacité à adhérer aux surfaces des cathéters et à former des biofilms.

La formation de biofilm, les exopolymères et d'autres mécanismes protègent *S. epidermidis* des antibiotiques et des défenses de l'hôte. La formation efficace de biofilm de *S. epidermidis* dépend à la fois des substances d'agrégation des protéines et des exopolysaccharides. (**Morgan, et al.,2023**).

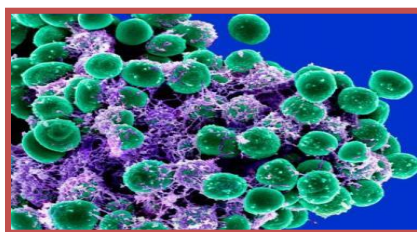


Figure 09. *Staphylococcus epidermidis*.

d. *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae est un agent pathogène opportuniste à Gram négatif responsable de diverses infections telles que les infections des voies urinaires, les bactériémies, les pneumonies et les abcès du foie. L'émergence de souches multirésistantes et hypervirulentes de *K. pneumoniae* suscite des inquiétudes en raison de leur propagation rapide. Les mécanismes de virulence et de résistance aux antibiotiques de cette bactérie ne sont pas entièrement compris. Une étude récente a examiné ces mécanismes en utilisant des approches telles que le séquençage complet du génome et la protéomique globale, dans le but d'identifier de nouvelles stratégies de traitement clinique contre *K. pneumoniae*. (Wang et al. (2020)



Figure 10. *klebseilla pneumoniae*

e. *Serratia marcescens*

Serratia marcescens, une bactérie anaérobie facultative à Gram négatif, est un agent pathogène opportuniste qui produit un pigment rouge appelé prodigiosine. Cette bactérie présente une grande plasticité génétique et peut survivre dans divers habitats tels que le sol, l'eau, les plantes et les environnements hospitaliers. Récemment, elle est devenue une préoccupation mondiale en provoquant des infections et des épidémies chez les individus vulnérables, en particulier les nouveau-nés et les patients en soins intensifs. Les isolats cliniques de *S. marcescens* sont souvent multirésistants aux antibiotiques, en raison d'une interaction complexe entre des éléments de résistance intrinsèque, acquis et adaptatif. (Tavares-Carreon et al., 2023).



Figure 11. *Serratia marcescens*

f. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa (*P. aeruginosa*) est classé comme un pathogène opportuniste qui présente généralement une faible virulence chez les individus en bonne santé. Cependant, il peut causer des infections principalement chez les personnes immunodéprimées ou fragiles hospitalisées, telles que celles qui reçoivent une assistance respiratoire, les patients atteints de cancers du sang, les victimes de brûlures, les receveurs de greffe, les personnes à un âge avancé, les patients atteints de cancer, les patients en soins intensifs, les patients sous dialyse et les personnes atteintes de fibrose kystique.



Figure 12. *Pseudomonas aeruginosa*

III.3.2.2. Champignons**a. *Fusarium oxysporum f. s. lycopersici* (FOL)**

Le flétrissement vasculaire de la tomate, principalement causé par le pathogène *Fusarium oxysporum f. s. lycopersici* (FOL), est une maladie dévastatrice qui infecte les tissus vasculaires de la plante. Les premiers symptômes incluent le flétrissement des feuilles inférieures et la décoloration brun foncé qui se propage à travers la plante, conduisant éventuellement à la mort. Les mécanismes impliqués dans ce flétrissement comprennent l'accumulation de champignons mycorhiziens, la production de mycotoxines, la perturbation de la défense de la plante et la production de télose. Les marqueurs moléculaires ont été utilisés pour détecter les souches spécifiques de FOL chez les plants de tomate, offrant une approche efficace pour le diagnostic de la maladie. Cette revue met en lumière la biologie et la diversité de FOL, offrant une compréhension approfondie du flétrissement vasculaire de la tomate, y compris son développement, sa biologie et sa virulence. (Srinivas et al., 2019).

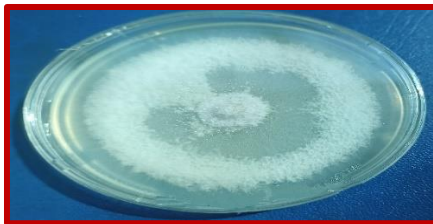


Figure 13. *Fusarium oxysporum* f. s. *lycopersici*

b. Botrytis SP

Botrytis sp. est un pathogène d'une grande importance pour les cultures, qui a la capacité d'infecter plus de 220 plantes hôtes à l'échelle mondiale. *Botrytis* de loin la plus importante des 22 espèces de *Botrytis sensu stricto* (Hennebert, 1973), est certainement l'un des pathogènes fongiques les plus intéressants en raison de ses caractéristiques très particulières : il peut vivre pathogène mais également saprophytique, il peut être très dévastateur dans certaines cultures mais il peut aussi être bénéfique dans certaines conditions. On le trouve partout dans le monde et il peut infecter presque toutes les plantes et parties de plantes. De plus, il peut provoquer des infections latentes précoces qui endommagent les fruits pas avant la maturation

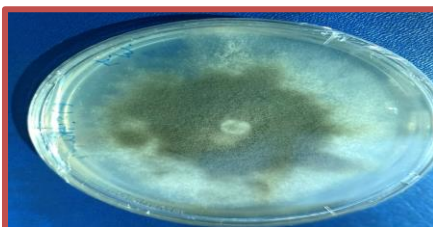


Figure14. *Botrytis sp*

III.3.2.3. Les antimicrobiens

a. Les antibiotiques

Les antibiotiques sont des agents thérapeutiques d'une valeur inestimable qui ont révolutionné le domaine médical en permettant de traiter des infections bactériennes qui étaient auparavant souvent mortelles. Cependant, au cours de la seconde moitié du XXe siècle, l'utilisation excessive et parfois inappropriée de ces médicaments a exercé une pression sélective, ce qui a entraîné l'apparition de résistances bactériennes chez les êtres humains et les animaux (Cavallo et al., 2004).

DEUXIEME PARTIE

PARTIE

EXPERIMENTALE

CHAPITRE IV :
MATÉRIEL ET
MÉTHODES

IV.1. Rappel des objectifs

Au cours de notre stage qui a duré un mois au sein de laboratoire de microbiologie, laboratoire de mycologie et laboratoire de pharmacologie et toxicologie du centre de recherche en biotechnologie de Constantine. Nous avons réalisé des manipulations pour évaluer des activités biologiques *in vitro* des différents extraits organiques de notre plante d'étude.

Les activités réalisées se résument comme suit :

1. Activité antimicrobienne

- ✓ Activité antibactérienne
- ✓ Activité antifongique

2. Activité antidiabétique

- ✓ Alpha amylase

3. Activité antioxydante déterminée par quatre tests différents :

- ✓ DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl) .
- ✓ ABTS (2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonic acid).
- ✓ FRAP.
- ✓ Phenanthroline

IV.2. Matériel et Méthodes

IV.2.1. Matériel

IV.2.1.1. Matériel végétal

La partie aérienne (fleurs, feuilles et tiges) de la plante *S.g* a été récoltée de la région de *Bir Rogaa* dans la wilaya d'*Oum El Bouagui* à l'Est Algérien, en période de floraison, en mois de Juin 2021 par le professeur Rebbas Khalef, membre du laboratoire d'Agro-Biotechnologie et de nutrition en zones arides et semi arides, université Ibn Khaldoun, Tiaret, Algérie. Le séchage de cette plante a été effectué dans un endroit sec et aéré à l'abri des rayons solaires pendant plusieurs jours. Après séchage la partie aérienne entière de la plante a été découpée en petits morceaux et broyée finement à l'aide d'un broyeur électrique. La poudre obtenue a été ensuite conservée à température ambiante jusqu'à leur utilisation à des fins pratiques.



Figure 15. Représentation photographique de la plante sélectionnée (Rebbas K., 2021)

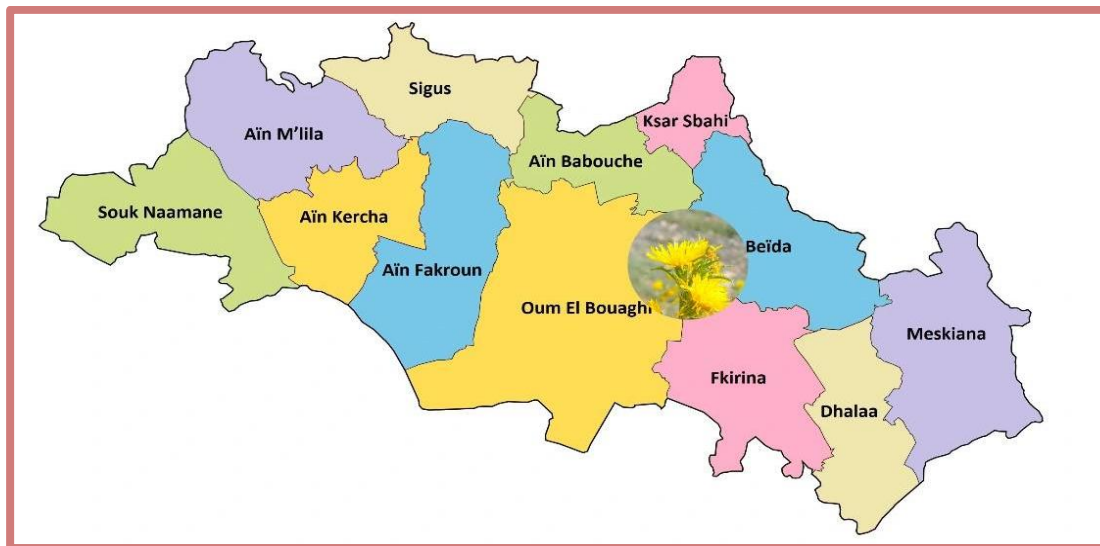


Figure16. Localisation de la région de récolte

IV.2.1.2. Matériel du test de l'activité antimicrobienne

IV.2.1.2.1. Les souches microbiennes

L'activité antimicrobienne de différents extraits de la partie aérienne de *S. G* a été évaluée sur six souches bactériennes Gram négatif et Gram positif appartenant à l'American Type Culture Collection (ATCC), ce sont : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *S. marcescens* ATCC 14756, *K. pneumoniae* ATCC27853, *S. epidermidis* ATCC 14990 et deux souches fongiques, ce sont *Fusarium oxysporum* et *Botrytis sp.* Ces souches sont fournies du laboratoire de microbiologie et laboratoire de mycologie du centre de recherche en biotechnologie de Constantine.

IV.2.1.2.2. Les milieux de culture

- Le milieu PDA (Potato Dextrose Agar) a été utilisé pour préparer l'inoculum fongique et pour le test antifongique.
- Le milieu GN (Gélosé Nutritive) a été utilisé pour la réactivation des souches bactériennes

- L'eau distillée stérile a été utilisée pour préparer l'inoculum bactérien
- Le milieu MH (Muller Hinton) a été utilisé pour le test antibactérien.

IV.2.2. Méthodes

IV.2.2.1. Préparation des extraits végétaux par macération

La macération est la méthode d'extraction solide-liquide. Elle consiste à mise en contact du Matériel végétal avec le solvant sans ou avec agitation. La méthode d'extraction consiste à émerger 50 g de la partie aérienne de la matière végétale sèche préalablement nettoyée et broyée finement dans quatre solvants de polarité différente (méthanol, butanol, acétate d'éthyle et chloroforme) pendant trois jours à température ambiante et à l'abri de la lumière (trois macérations successives pour chaque solvant). Le volume de solvant doit être suffisant pour que la matrice reste immergée pendant la totalité de la période de l'extraction. Ensuite, la filtration a été réalisée sur un papier filtre. Les solvants ont été récupérés des filtrats par évaporation sous pression dans un évaporateur rotatif, à une température de 35 à 60°C. Les extraits obtenus ont été conservés au 4°C jusqu'à l'utilisation.

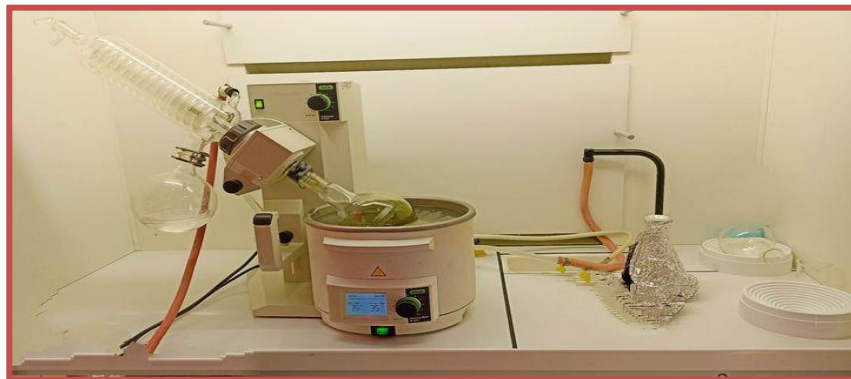


Figure 17. Appareil d'évaporateur rotatif

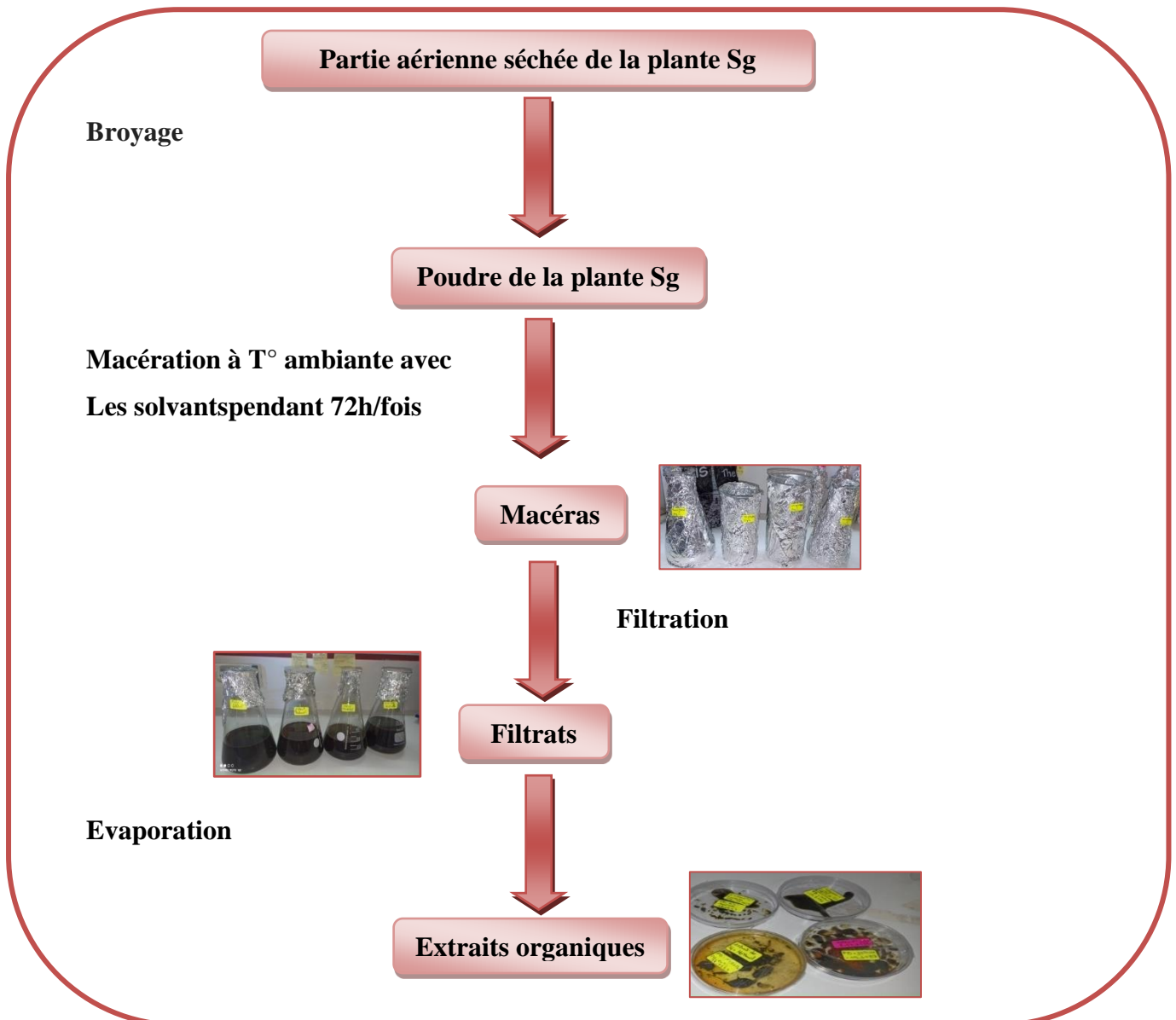


Schéma03. Les étapes d'extraction

IV.2.2.2. Calcul de rendement des extraits

Le rendement des extraits obtenus a été calculé par rapport au poids total de la poudre du matériel végétal. Le rendement en pourcentage (%) est défini comme étant le rapport entre le poids d'extrait et celui de la plante sèche en poudre.

Il est calculé par la formule suivante :

$$R (\%) = (PE / PP) \times 100$$

PE : poids d'extrait obtenu.

PP : poids de la poudre de la plante.

IV.2.2.3. Evaluation in vitro de l'activité antimicrobienne

IV.2.2.3.1. Etapes de la réalisation de l'activité antibactérienne

La méthode des disques ou la méthode de diffusion sur milieu gélosé a été utilisée pour tester la sensibilité des souches bactériennes (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*) vis-à-vis des différents extraits de notre plante comme décrite par (Berghe et al.(1993)et reprise par(Djermane et al.(2021)avec quelques modifications.

a. Préparation des prés cultures

Les germes bactériens à tester ont été cultivées dans des boîtes de pétri contenant de la GN. Après 18 heures d'incubation à la température de 37 °C, des suspensions bactériennes d'une densité optique de 0,5 Mc Farland ont été préparées pour chaque bactérie dans 9 ml d'eau distillée stérile.

b. Ensemencement

L'ensemencement des boites de pétri a été effectué par la technique d'écouvillonnage, le frottement de l'écouvillon sur la même boîte de Pétri a été répété à trois reprises en tournant à chaque fois la boîte d'un angle de 60°.

c. Application des disques

Des disques d'antibiotiques vierges stériles de 6 mm de diamètre ont été imbibés de 20µl d'extraits dilués dans le DMSO(8mg/ml), puis déposés à la surface de la gélose ensemencée et laissés diffuser sur paillasse pendant 15min. Chaque quatre disques ont été déposés dans la même boîte de chaque bactérie. Des disques imprégnés de DMSO ont été utilisés comme témoin négatif, et des disques de la gentamicine « antibiotique de référence » ont été utilisée comme témoin positifs selon le même protocole qu'avec les disques d'antibiotiques vierges imprégnés d'extrait.

d. L'incubation

Les bactéries exigent un délai d'incubation pour la croissance. Après incubation de 24h à la température de 37°C dans une étuve, la présence autour des disques d'un halo d'inhibition circulaire dans laquelle il n'y a pas de croissance des bactéries dénote la sensibilité de ceux-ci vis-à-vis les extraits testés.

IV.2.2.3.2. Protocole de l'activité antifongique

La préparation du milieu de culture PDA (POTATO, DEXTROSE, AGAR) se fait en suivant plusieurs étapes :

- ❖ Préparez le trempage des pommes de terre en faisant bouillir 200 g de tranches de pommes de terre dans l'eau (les pommes de terre sont pelées et lavées, puis coupées en tranches) pendant 10min.
- ❖ Puis en laissant décanter le bouillon obtenu ou en le filtrant à travers un coton. On dilue ensuite en ajoutant de l'eau distillée pour un volume final d'un 1000ml
- ❖ On ajoute 20 g de dextrose et autant d'agar-agar (15g) en poudre avant
- ❖ Une stérilisation par autoclave à 121°C pendant 2 heures et 30 min.



Figure18. Préparation de milieu de PDA.

IV.2.2.3.3. Etapes de la réalisation de l'activité antifongique

La méthode des disques a été utilisée pour tester la sensibilité des souches fongiques (*Fusarium oxysporum* et *Botrytis sp.*) vis-à-vis des différents extraits de notre plante. Des boîtes de pétri stériles de 10cm de diamètre, contenant le milieu PDA ont étéensemencées par un disque fongique de 6mm de diamètre (obtenu d'un pré culture de 7 jours d'incubation sur milieu solide PDA). Puis, 35 microlitres d'extrait dilué dans le 1 ml de DMSO ont été déposés aseptiquement sur le disque fongique. Le témoin a été préparé de la même façon en remplaçant l'extrait par le DMSO uniquement.

Les boîtes de pétri ont été ensuite placées dans une étuve pour une durée d'incubation de 48h à la température de 35C⁰. Pour chaque extrait, le pourcentage d'inhibition de croissance I (%) est estimé par la réduction du diamètre de la croissance fongique par rapport au témoin selon la formule suivante :

$$I (\%) = [1 - (D_{\text{Test}} / D_{\text{Témoin}})] \times 100$$

Dont : D Test : Diamètre de la croissance du champignon dans le test en mm

D Témoin : Diamètre de la croissance du champignon dans le témoin en mm

IV.2.2.4. Evaluation *in vitro* de l'activité antioxydante

Quatre tests ont été utilisés pour évaluer la capacité antioxydante *in vitro* de différents extraits organiques de notre plante, il s'agit du pouvoir piègeur du radical DPPH, pouvoir piègeur du radical ABTS, pouvoir réducteur du Fer, et du test de Phenanthroline.

IV.2.2.4.1. Test de DPPH

a. Principe

La méthode est basée sur la capacité des antioxydants à piéger le radical libre *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH[•]), c'est un radical stable possède une couleur violette et une absorption à 517 nm. Quand une solution de DPPH[•] est mélangée avec un composé antioxydant donneur d'atomes d'hydrogène, la forme réduite du radical est générée et accompagnée d'une perte de couleur (la forme réduite porte une couleur jaune, 2,2 diphenyl-1-picrylhydrazine) (Raquibul *et al.*, 2009).

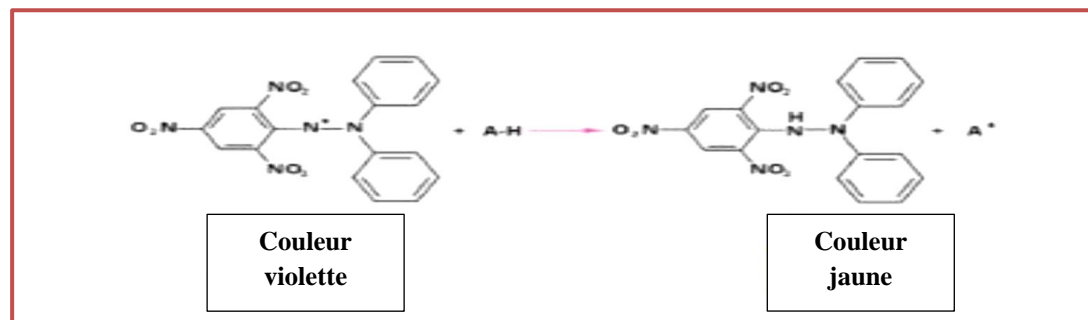


Figure19. Réaction du radical libre DPPH[•] avec un antioxydant (Kouamé *et al.*, 2009)

b. Procédure

Pour mesurer cette activité anti radicalaire, le protocole utilisé est basé sur celui décrit par (Blois, (1958) avec quelques modifications. Un volume de 40 µl de chaque extrait à différente concentration a été additionné dans une microplaque 96 puits à 160 µl d'une solution de DPPH[•] préparée dans le méthanol. Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité, les absorbances de nos échantillons ont été mesurée à 517nm par un lecteur microplaque contre un

témoin négatif (sans extrait). Le Trolox est pris comme un antioxydant de référence afin de référer l'activité de nos extraits.

L'activité anti-radicalaire est calculée selon l'équation suivante :

$$\text{Activité anti radicalaire en (\%)} = [(Ac - At) / Ac] \times 100$$

AC : Absorbance du contrôle.

At : Absorbance d'extrait ou standard.

IV.2.2.4.2. Test d'ABTS

a. Principe

La méthode est basée sur la capacité des antioxydants à piéger le radical libre ABTS (*acide 2,2'-azinobis 3-éthylbenzothiazoline-6- sulfonique*). Le radical ABTS préformé est généré par l'oxydation de la molécule stable d'ABTS avec le persulfate de potassium, cette formation se traduit par l'apparition d'une coloration vert bleu intense mesurée à une longueur d'onde de 734 nm. Quand une solution d'ABTS[•] est mélangée avec un composé antioxydant donneur d'atomes d'hydrogène, la forme réduite du radical est générée et accompagnée d'une perte de couleur (**Re et al., 1999**).

b. Procédure

Pour mesurer cette activité anti radicalaire, le protocole utilisé est basé sur celui décrit par (**Re et al., 1999**) avec quelques modifications. La méthode consiste à introduire dans une microplaque 96 puits un volume de 160 µl de solution d'ABTS⁺ avec 40 µl d'extrait à différentes concentrations. Le mélange a été ensuite incubé à température ambiante pendant 10 min. Les absorbances ont été déterminées à 734 nm contre un témoin négatif (sans extrait). Le Trolox a été pris comme un antioxydant de référence afin de référer l'activité de nos extraits.

L'activité anti-radicalaire est calculée selon l'équation suivante :

$$\text{Activité anti radicalaire en (\%)} = [(Ac - At) / Ac] \times 100$$

AC : Absorbance du contrôle.

At : Absorbance d'extrait ou standard.

IV.2.2.4.3. Test du pouvoir réducteur FRAP

A-Procédure

Procédure : 10ul extrait + 40ul phosphate buffer (pH 6.6) + 50ul potassium ferricyanide (1%) K₃Fe(CN)₆ (1g de K₃Fe(CN)₆ dans 100 ml H₂O) + 40ul H₂O + 40ul H₂O + 10 ul ferric chloride FeCl₃ (0.1%) (0.1 G de FeCl₃ dans 100ml H₂O) + Lecture à 700nm.

IV.2.2.4.4. Test de Phenanthroline

A-Principe

La méthode est basée sur la formation d'un complexe stable entre le fer ferreux Fe^{2+} et l'orthophénanthroline. Ce complexe est nommé ferroïne et il porte une couleur orangée et mesurée photométriquement à une longueur d'onde de 510 nm (Zaidi B., 2019).

b. Procédure

Pour mesurer cette activité antioxydante, le protocole utilisé est basé sur celui décrit par (Szydłowska C., (2008) avec quelques modifications. La méthode consiste à déposer un volume de 10 μ l d'extrait sur une microplaque à 96 puits, en ajoutant sur chaque puits un volume de 50 μ l de $FeCl_3$ (0.2%), 30 μ l de Phenanthroline (0.5%) et 110 μ l de MeOH. Le mélange a été ensuite incubé à l'obscurité pendant 20 min à 30°C, et l'absorbance a été mesurée à 510 nm dans un lecteur microplaque.

CHAPITRE V :
RÉSULTATS ET
DISCUSSION

V. Résultats et discussion

V.1.Rendement d'extraction

Dans notre étude, on a choisi d'extraire la poudre végétale de la partie aérienne de la plante *Scolymus grandiflorus* par macération simple en variant la polarité du solvant. Les résultats du rendement d'extraction obtenus sont mentionnés dans le tableau et la figure suivants :

Tableau 04. Rendement de différents extraits en pourcentage par rapport au poids total.

Extrait testé	Extrait Chloroformique	Extrait acétate D'éthyle	Extrait <i>n</i> -butanolique	Extrait méthanolique
Rendement d'extraction en %	1.32	1.85	2.04	4.32

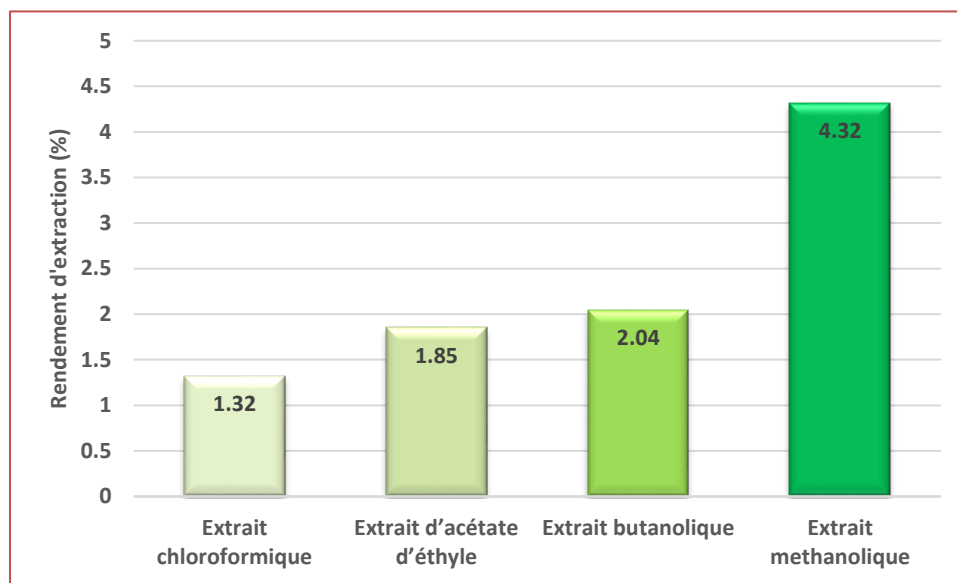


Figure20. Comparaison du rendement d'extraction de différents extraits de *Scolymus grandiflorus*

Les résultats obtenus révèlent une influence significative du pouvoir d'extraction du solvant sur le rendement. Les solvants polaires se sont montrés particulièrement efficaces. En effet, le méthanol, l'*n*-butanol et l'acétate d'éthyle présentent les plus forts rendements suivis par l'extrait apolaire le chloroforme.

Le rendement d'extraction obtenu avec le méthanol aqueux est le plus élevé, cela peut s'expliquer par le simple fait que l'eau est un solvant fortement polaire connue pour extraire une large gamme de molécules dont une quantité importante de composés non phénoliques comme les protéines et les glucides (Bonnaillie et al., 2012).

Le rendement d'extraction n'est pas lié seulement au choix du solvant, il est important

de noter que la méthode d'extraction, les conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée, les propriétés génétiques de la plante, l'origine géographique et la période de récolte de la plante, ainsi que les conditions et la durée de stockage de la plante, influencent tous sur le rendement, et par conséquent influencent sur le contenu total des substances bioactives, et les activités biologiques médiées par ces substances (Lee et al., 2003).

V.2. Résultats de l'activité antimicrobienne

V.2.1. Activité antibactérienne

Les résultats du test de sensibilité bactérienne aux extraits organiques de la partie aérienne de *Scolymus grandiflorus* Desf. Sont regroupés dans le Tableau 05 et la figure 24,

Ce test a été réalisé par la méthode de diffusion sur milieu solide, les valeurs enregistrées sont les moyennes de trois mesures. L'activité antibactérienne se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque d'antibiotique vierge imprégné d'extrait organique tété. Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une souche à une autre et d'un extrait à un autre. Comme cela a été rapporté dans la bibliographie, nous avons considéré qu'un extrait a un effet antibactérien élevé si son diamètre d'inhibition est supérieur à 13mm, un effet intermédiaires son diamètre d'inhibition compris entre 6mm et 13mm, et un effet nul si son diamètre d'inhibition est inférieur de 6mm (De Billerbeck, 2007).

Tableau05. Diamètres des zones d'inhibition (mm) de la croissance bactérienne induite par différents extraits de la partie aérienne de *S.g.*

Souches/Extra its testés	Diamètres des zones d'inhibition en mm					
	Bactérie Gram négatif				Bactérie Gram positif	
	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC27853	<i>K. pneumoniae</i> ATCC27853	<i>S. marcescens</i> ATCC14756	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>S. epidermidis</i> ATCC14900
EChL	6.00±0.00	6.66± 0.00	12.66±0.57	6.66±0.57	11.33±0.57	7.33±0.57
EAcE	6.00±0.00	6.00±0.00	11.33± 0.58	6.33±0.00	7.33±0.57	7.30±0.57
EBuOH	6.00±0.00	6.00±0.00	6.00±0.00	6.00±0.00	7.66±0.57	7.33±0.57
EMeOH	6.00±0.00	6.00±0.00	13.66±0.57	6.00±0.00	7.66±0.57	15.66±0.57
Gentamycine	19.33±1.15	20.33±0.57	7.66±0.57	21.00±1.00	29.33±0.57	24.33±0.57
DMSO	6.00±0.00	6.00±0.00	6.00±0.00	6.00±0.00	6.00±0.00	6.00±0.00

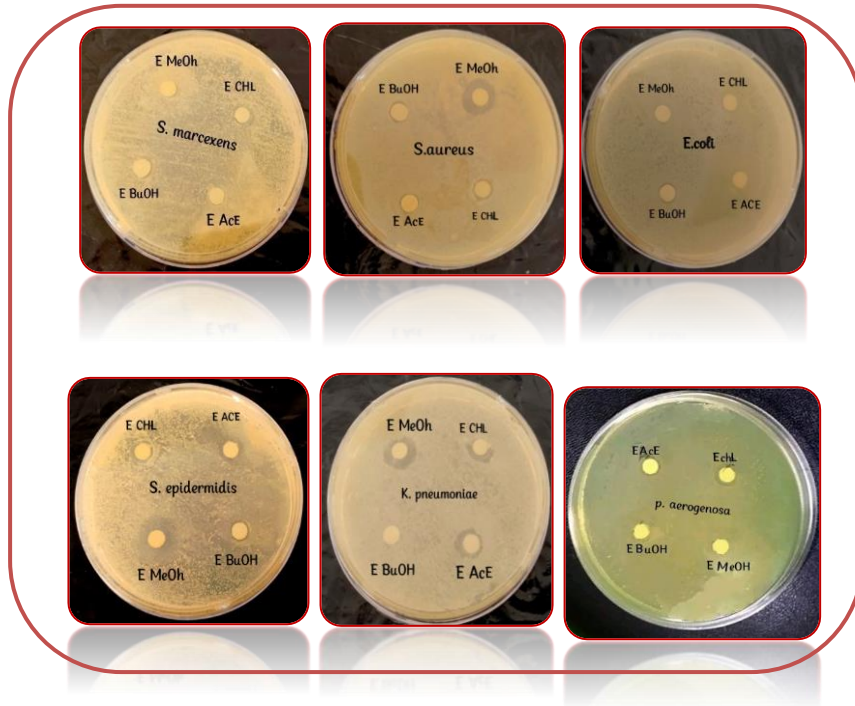


Figure 21. Photographies montrant l'effet de différents extraits de *S. grandiflorus* sur la croissance des bactéries testées

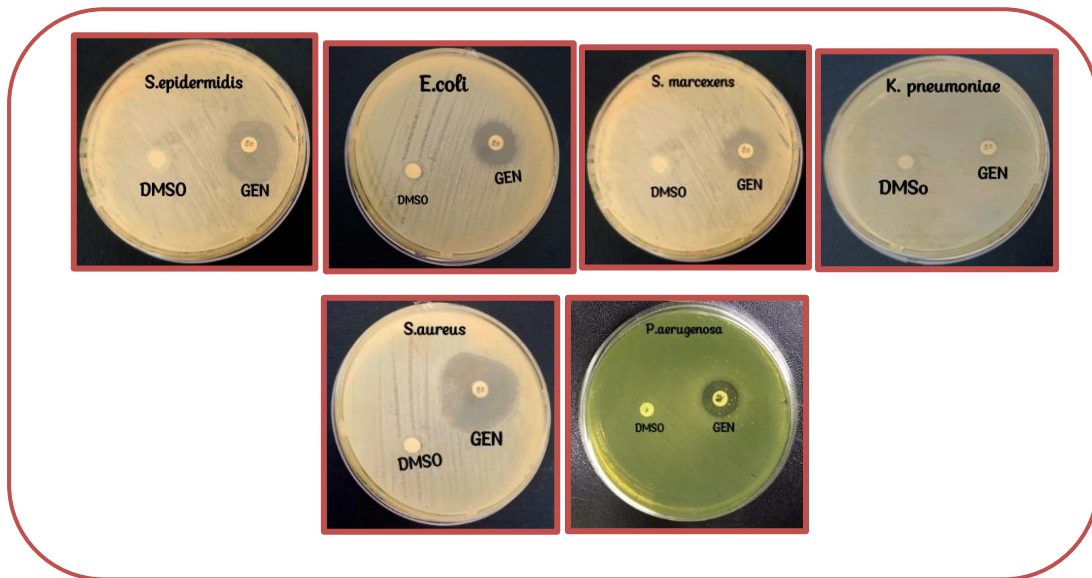


Figure22. Photographies montrant l'effet de la Gentamycine et DMSO sur la croissance des bactéries testées.

Les résultats de l'activité antibactérienne des extraits de *Scolymus grandiflorus* obtenus sont presque négatifs sauf pour trois souches bactériennes il s'agit de *Klebseilla pneumoniae* ATCC27853 (Gram négatif), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990(Gram positif). Tous les extraits ont réagi positivement sur ces souches excepté l'extrait butanolique contre la bactérie *Klebseilla pneumoniae*, les diamètres des zones d'inhibitions obtenues allant de 7.30 à 15.66 mm. L'extrait méthanolique a montré la meilleure action bactériostatique vis-à-vis les bactéries *Staphylococcus epidermidis*(15,66mm) et *Klebseilla pneumoniae* (13,66mm), suivi par l'extrait Chloroformique vis-à-vis les bactéries *Klebseilla pneumoniae* (12,66 mm) et *Staphylococcus aureus*(11,33mm).

L'action de l'EMeOH sur les bactéries *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis* peut être due aux composés de flavonoïdes qui sont des bons inhibiteurs des enzymes sortases (enzymes trouvés dans la membrane cytoplasmique des bactéries à Gram positif qui catalysent l'ensemble des protéines de surface, par exemple internalines et adhésines) (Cushnie et Lamb, 2011).

Aucun extrait n'a eu d'effet contre les bactéries *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, et *Serratia marcescens* ATCC (Gram négatif).

En ce qui concerne l'antibiogramme, les différentes souches de bactéries étudiées ont été réagies différemment à l'antibiotique testé (la gentamycine), l'effet de cet antibiotique sur les bactéries est sensiblement supérieur à celui des extraits de *S. grandiflorus*, excepté la souche *klebseilla* qui se révèle résistante.

La plus grande résistance du *Pseudomonas aeruginosa*, d'*Escherichia coli*, et de *Serratia marcescens* (bactéries Gram négatives) vers les extraits de notre plante peut être expliquée par la structure de leurs membranes externes composées de lipopolysaccharides (LPS), qui empêchent les composés comme les terpènes hydrophobes d'adhérer à lui. D'ailleurs, ces germes sont mobiles, il est probablement possible à ces germes d'être déplacées profondément dans la gélose, et par conséquent d'échapper ainsi à l'action des substances bioactives contenus dans les extraits de *S. grandiflorus* (Ghedadba et al.,2014).

A notre connaissance, l'activité antibactérienne de la plante *Scolymus grandiflorus* a été étudiée seulement sur l'extrait de l'huile essentielle. En effet, l'étude a montré que l'huile essentielle de racines de cette plante possède une activité bactériostatique intéressante contre cinq souches testées. L'huile essentielle a inhibé la croissance de *Salmonella typhi* (25 mm),

Staphylococcus aureus(18 mm), *Escherichia coli* (17 mm), *Pseudomonas aeruginosa*(15 mm) et *Enterococcus faecalis* (13 mm) avec des diamètres d'inhibition comparables à ceux de l'antibiotique Gentamicine et de l'Amphotéricine B (Semaoui, 2021). Comparativement à nos résultats, nous notons que les extraits organiques de la plante *Scolymus grandiflorus* montré une certaine activité avec certaines bactéries avec un degré différent lié au contenu des extraits.

Globalement, les résultats ont indiqué que plusieurs facteurs peuvent influencer la détermination de l'activité antibactérienne comme : le type de bactérie ciblée, la méthode d'évaluation, le type de l'extrait testé, la concentration, et particulièrement la nature chimique des substances bioactives présentées dans cet extrait (Cushnie et Lamb, 2011)

V.2.2. Activité antifongique

L'activité antifongique des extraits organiques de la partie aérienne de *Scolymus grandiflorus* a été étudié sur deux souches fongiques *Fusarium oxysporum* et *Botrytis sp* responsables de la pourriture de tomate. Les résultats obtenus dans le test de l'activité antifongique des extraits par la technique de croissance radiale sont rapportés dans le tableau07. Et la figure23.24.

Tableau 06. Pourcentages d'inhibitions de la croissance fongique induite par différents extraits de la partie aérienne de *Scolymus grandiflorus*

Extrait testé	Extrait de chloroforme	Extrait d'acétate d'éthyle	Extrait <i>n</i> -butanolique	Extrait méthanolique
	Pourcentage d'inhibition %			
<i>F.oxysporum</i>	50 %	24%	25 %	40 %
<i>Botrytis. sp</i>	100%	30%	53%	92 %

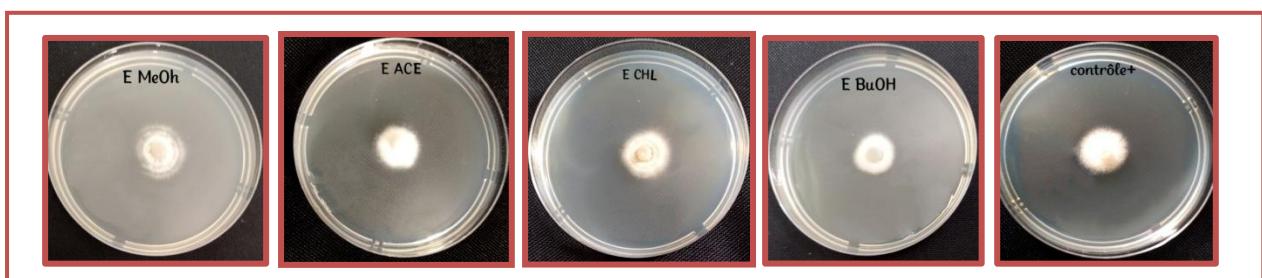


Figure23. Photographies montrant l'effet de différents extraits de *S. grandiflorus* sur la croissance de champignon *F.oxysporum*.

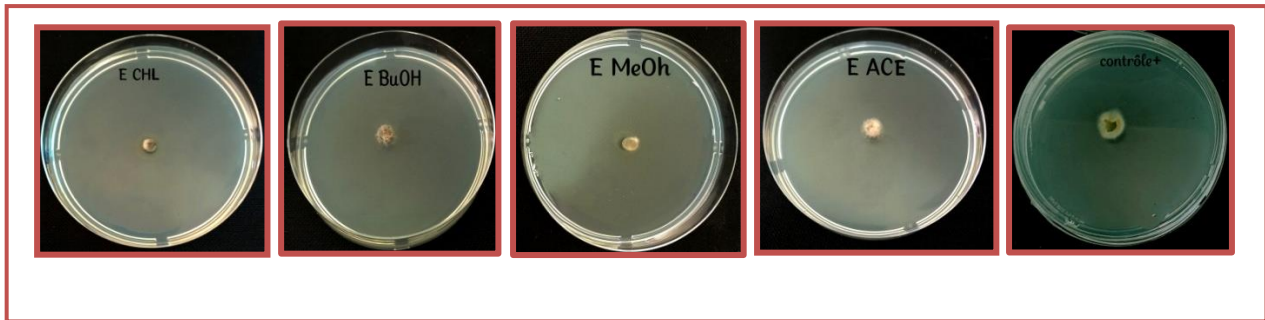


Figure 24. Photographies montrant l'effet de différents extraits de *S. grandiflorus* sur la croissance de champignon *Botrytis sp.*

Les résultats obtenus ont montré que tous les extraits organiques de *Scolymus grandiflorus* possèdent une activité inhibitrice vis-à-vis des deux champignons testés. En revanche, ces extraits sont plus actifs sur la souche *Botrytis sp* que sur la souche *Fusarium oxysporum*. L'extrait Chloroformique est le plus actif de tous les extraits, suivi de l'extrait méthanolique, puis l'extrait butanolique, et enfin l'extrait d'acétate d'éthyle. Les pourcentages d'inhibition obtenus étaient 100 ; 92 ; 53 ; 30 % et 50 ; 40 ; 25 et 24% respectivement. Ce qui montre que l'activité antifongique mise en évidence dépend du solvant d'extraction utilisé.

Une étude antérieure réalisée par **Semaoui (2021)** a montré également un effet antifongique significatif de l'extrait de l'huile essentielle issue de l'espèce *S. grandiflorus* de Tlemcen contre deux souches fongiques, parmi eux la souche *Fusarium oxysporum*. En général, les extraits bruts de cette plante ont montré une meilleure activité antifongique par rapport aux huiles essentielles. Cette activité antifongique des différents extraits peut être due aux composés biologiquement actifs qu'ils contiennent.

V.3. Résultats de l'activité antioxydante

Les effets nuisibles du stress oxydant sur la santé des personnes sont devenus un problème grave. Les antioxydants de synthèse, tels que l'hydroxytoluène butylé (BHT) et le butyl hydroxy anisole (BHA) sont très efficaces, mais susceptibles de manifester des effets secondaires et voire toxiques sur la santé. Pour cette raison, l'intérêt d'utilisation des antioxydants d'origine naturelle a considérablement augmenté (**Adida et al., 2016 ; Ghedadba et al., 2014**).

Nombreux mécanismes d'action peuvent être exercés par les antioxydants comme le piégeage de radicaux libres, la chélation d'ions métalliques comme le fer et le cuivre, la rupture de la chaîne de soustraction d'hydrogène, etc... Par conséquent, l'étude du pouvoir antioxydant d'un extrait contenant plusieurs composés nécessite l'utilisation de plusieurs tests pour clarifier le mécanisme d'action exercé par chaque composé (**Li et al., 2008**).

L'activité antioxydante de différents extraits de *S. grandiflorus* a été évaluée à l'aide de quatre méthodes DPPH, ABTS, FRAP, et Phenanthroline en utilisant le Trolox comme un antioxydant de synthèse. Les résultats de l'activité antioxydante ont été exprimés en milligramme équivalent Trolox par gramme de l'extrait sec.

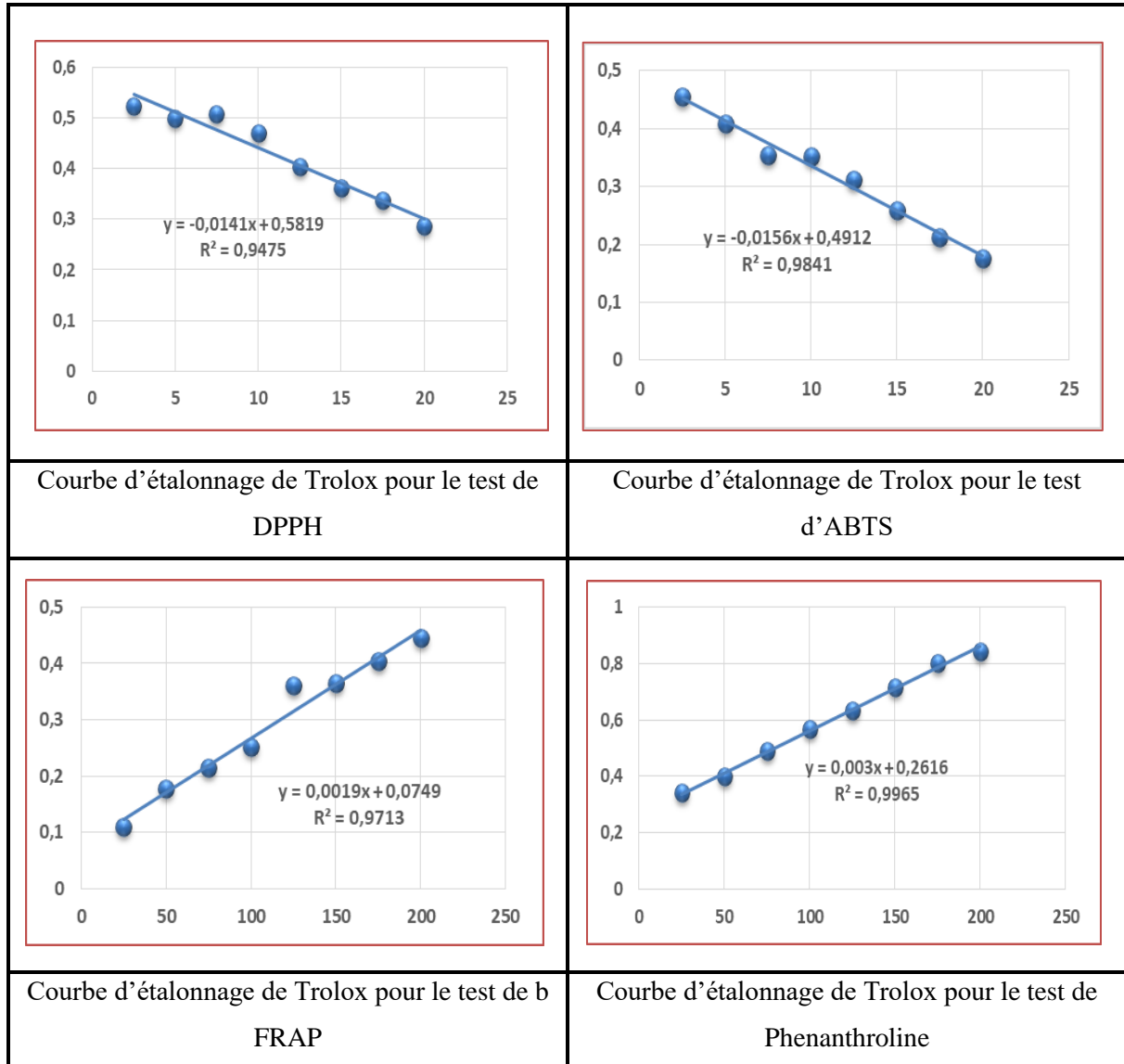


Figure25. Courbe d'étalonnage de Trolox

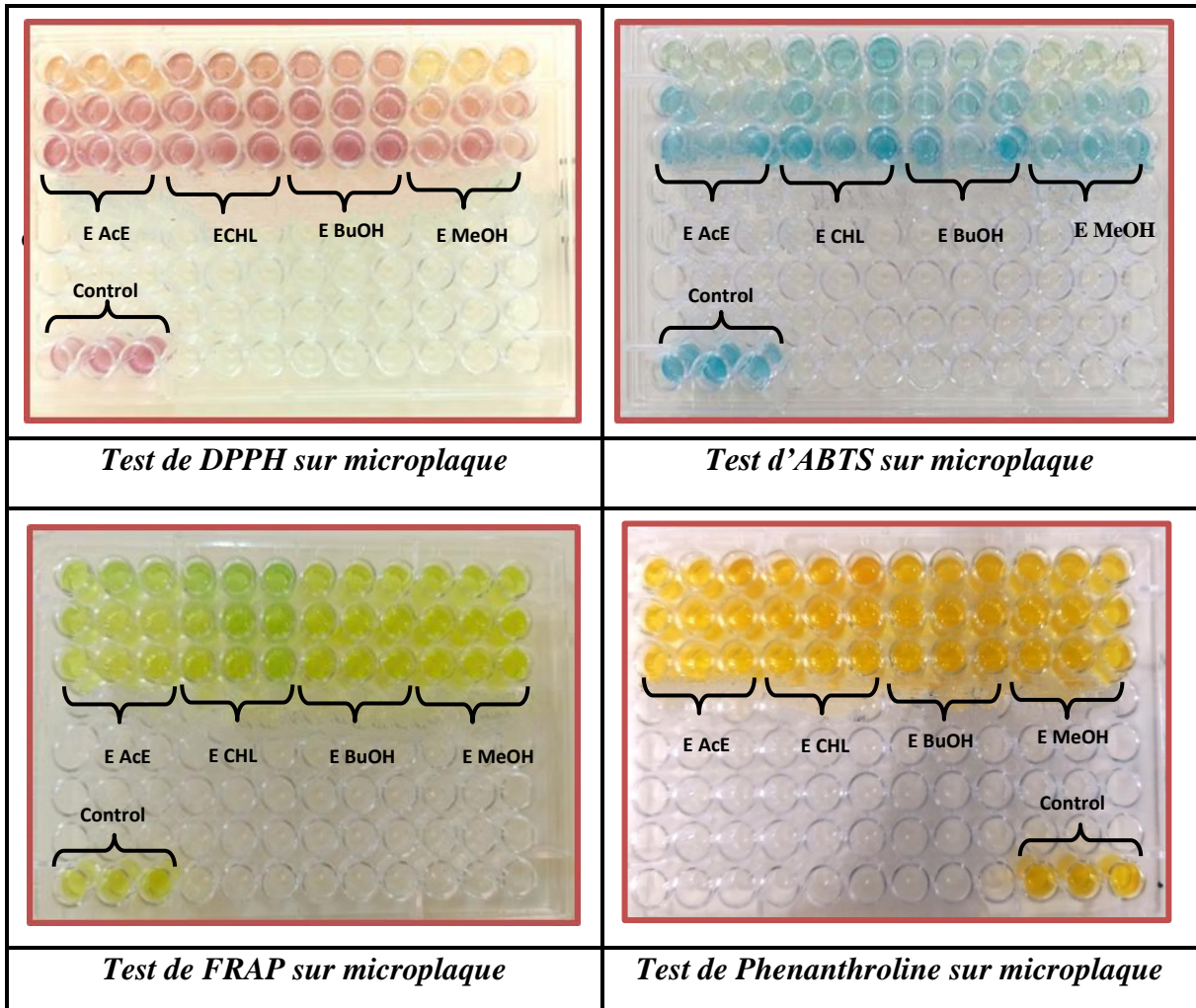
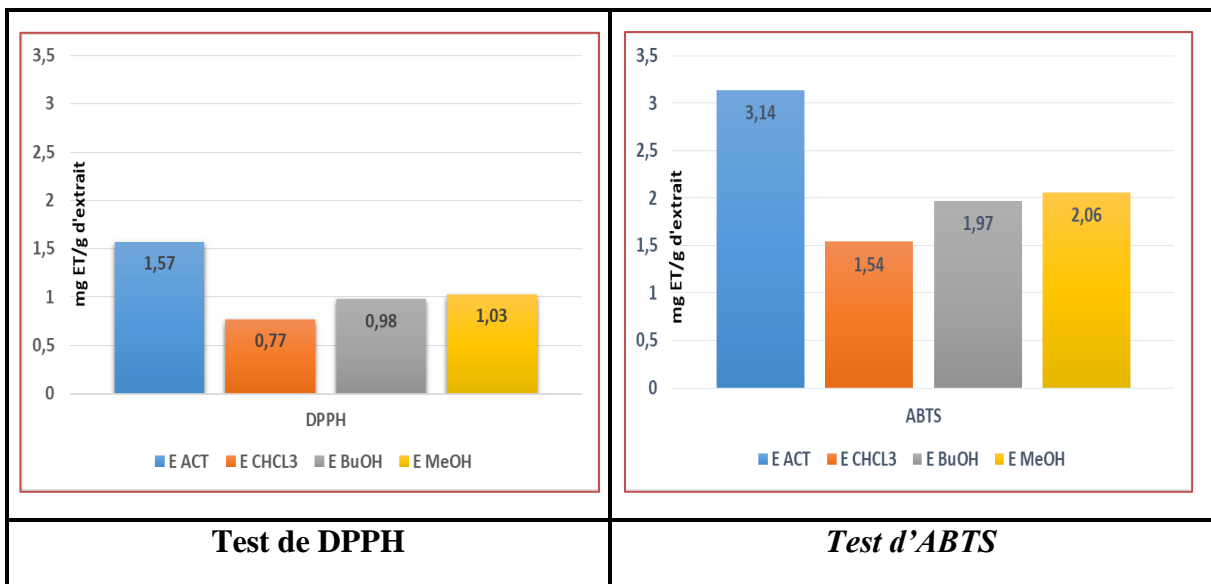


Figure 26. Résultat de l'activité antioxydante des extraits de *S. grandiflorus* sur microplaque



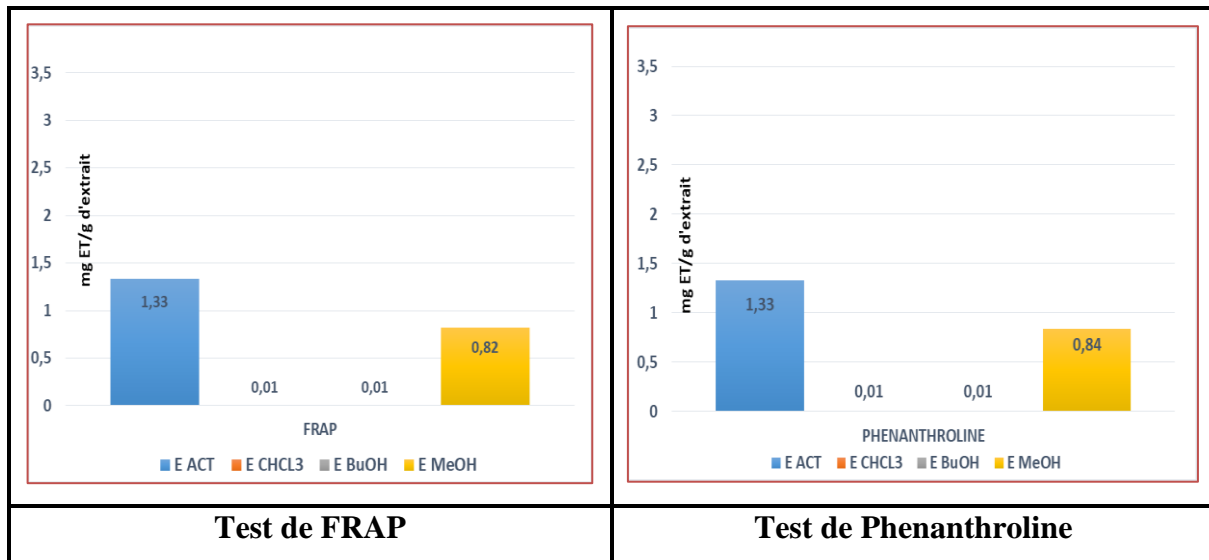


Figure27. Comparaison de l'activité antioxydante des différents extraits de *S. grandiflorus*

Le pouvoir antioxydant des extraits organique de la partie aérienne de *Scolymus grandiflorus* été évalué pour la première fois dans ce travail. Les résultats du pouvoir antioxydant obtenus déterminés sur les radicaux DPPH et ABTS ont montré que l'activité anti radicalaire est variée considérablement en fonction de type d'extrait testé. L'ordre d'inhibition du radical DPPH était : E AcE> EMeOH> E BuOH>E ChL. En ce qui concerne le test de FRAP et le test de phenanthroline, seulement l'extrait d'acétate d'éthyle et l'extrait méthanolique ont montré une certaine activité antioxydante.

En générale, les extraits organiques de la partie aérienne de *S. grandiflorus* ont montré une activité antioxydante faible avec presque tous les tests utilisés. Toutefois, l'huile essentielle issue de racines de la même espèce possède une activité remarquable dans la réduction du fer (test FRAP) avec une valeur IC50 de 18,2 μ L/ml, et dans la neutralisation des radicaux libres DPPH avec une valeur IC50 de 11,6 μ g/mL. L'effet antioxydant important de l'huile essentielle pourrait être dû à sa composition chimique riche en constituants phénoliques qui ont été rapportés au par avant d'avoir une intéressante capacité antioxydante (Semaoui, 2021)..

CONCLUSION

GENERALE

La recherche de nouvelles substances bioactives d'origine végétale est un phénomène constant au fil des siècles, car l'homme, dans sa quête de survie, s'est toujours tourné vers ce réservoir végétal naturel pour y puiser de multiples éléments nécessaires à sa survie.

A notre connaissance, aucune étude n'a été réalisée sur la phytochimie et les activités biologiques des extraits de la partie aérienne de *Scolymus grandiflorus* Desf., c'est pour cela que nous avons intéressé à étudier cette espèce végétale.

La première partie de cette étude concerne la préparation des extraits organiques par une simple macération, en utilisant quatre solvants différents. Les résultats obtenus montrent que le rendement d'extraction le plus élevé a été observé avec l'extrait méthanolique (4.32 %), suivi par l'extrait butanolique (2.04 %), puis l'extrait d'acétate d'éthyle (1.85%) et en dernier l'extrait chloroformique (1.32 %).

La deuxième partie concerne l'évaluation de certaines activités biologiques à savoir l'activité antibactérienne, l'activité antifongique et l'activité antioxydante. Les résultats obtenus ont montré :

Une activité antibactérienne intermédiaire, dont l'extrait méthanolique a montré la meilleure action bactériostatique contre *Staphylococcus epidermidis* (15,66mm) et *Klebseilla pneumoniae* (13,66mm), suivi par l'extrait chloroformique contre *Klebseilla pneumoniae* (12,66 mm) et *Staphylococcus aureus* (11,33mm).

Une activité antifongique importante, dont le pourcentage d'inhibition le plus élevé a été observé par l'extrait chloroformique contre les deux souches fongiques testé, *Botrytis* sp (100%) et *Fusarium oxysporum* (50%).

Une activité antioxydante faible avec presque tous les tests utilisés.

Pour faire suite à cette étude il est possible de :

- ❖ Tester d'autres méthodes et solvants d'extraction et leurs influences sur le rendement et la composition chimique de l'extrait.
- ❖ Appliquer d'autres tests pour une meilleure évaluation de l'activité antioxydante des extraits étudiés.
- ❖ Elargir le spectre des microorganismes (autres souches bactériennes, levures, champignons) et l'utilisation d'autres techniques pour l'évaluation de l'activité antibactérienne.
- ❖ Caractérisation des principes actifs responsables de l'activité antifongique.

RÉFÉRENCES

Références

Achat, S. (2014). Polyphénols de l'alimentation : extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques. Thèse de doctorat. Université A. Mira-Bejaia, Algérie. p. 17, 22. (n.d.-a).

Adida, H., Benariba, N., Bechiri, A., Chekroun, E., & Djaziri, R. (2016). Étude phytochimique et évaluation du pouvoir antiradicalaire des extraits de *Pituranthos scoparius*. *Phytothérapie*, 14(4), 207-212. (n.d.-b).

Algabr, .M.N., Benayache, F., Mekkiou, R., Ameddah, S., Menad, A., Boumaza, O., Seghiri, R., Benayache, S. (2010). Antioxydant activities from the aerial parts of *Pulicaria jaubertii*. *Advances in Natural and Applied Sciences*, 4(1), 63-70. (n.d.-c).

Alioua, M.A. (2015). Les Staphylocoques: sensibilité aux antibiotiques et profil moléculaire de *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méricilline. Thèse de doctorat. Faculté des Sciences. Université Badji Mokhtar – Annaba, Algérie. 223p. (n.d.-d).

Ari R., Sezonov G. (2008). Les organismes modèles: biologie et génétique d'*Escherichia coli*. Belin. Paris P11. (n.d.-e).

Bahorun T. (1997). Substances Naturelles actives. La flore Mauricienne. Une source d'approvisionnement potentielle. *Food and Agricultural Research Council Mauritius*. p. 83, 94. (n.d.-g).

Benini C. (2007). Contribution à l'étude de la diversification de la production d'huiles essentielles aux Comores. Mémoire d'ingénieur. Université Gembloux, 109p. . (n.d.-h).

Benjilali B. (2004). Extraction des plantes aromatiques et médicinales cas particulier de l'entraînement à la vapeur d'eau et ses équipements. Manuel pratique. *Huiles essentielles: de la plante à la commercialisation*. 17-59. (n.d.-i).

Bentham G. (1873). Notes on the classification, history, and geographical distribution of *Compositae*. *J. Linn. Soc., Bot*, 13, 335–577. (n.d.-j).

Blache D, Bouthillier D, Davignon J. (1992). Acute influence of smoking on platelet behavior, endothelium and plasma lipids and normalization by aspirin. *Atherosclerosis*, 93(3), 179-188. (n.d.-k).

Références

Bonnaillie C., Salacs, M., Vassiliova, E., Saykova, I. (2012). Etude de l'extraction de composés phénoliques à partir de pellicules d'arachide (*Arachis hypogaea* L.). *Revue de génie industriel*, 7, 35-45. (n.d.-l).

Bonnier Gaston. (1934). Flore complète illustrée en couleurs de France, Suisse et Belgique (comprenant la plupart des plantes d'Europe). Librairie générale de l'enseignement, Paris, vol. 12. (n.d.-m).

Bruneton J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème édition, Ed. TEC et DOC, Paris. (n.d.-n).

Bruneton, J. (2007). Plantes toxiques : Végétaux dangereux pour l'Homme et les animaux. 3e édition. Lavoisier, Paris. (n.d.-o).

Choe, E., Min, D. B. (2005). Chemistry and reactions of reactive oxygen species in foods. *J. Food Sci.*, 70(9), R142-R159. (n.d.-o).

Crozier A, Clifford M.N, Ashihara H. (2006). Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet. Blackwell Publishing Ltd. (n.d.-b).

Cushnie TPT, Lamb AJ. (2011). Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *Int J Antimicrob Agents*, 38, 99-107. (n.d.-c).

Dacosta, E. (2003). Les phytonutriments bioactifs. Yves Dacosta (Ed). Paris. p. 317. (n.d.-d).

Delattre, J., Beaudoux, J. L., & Bonnefont-Rousselot, D. (2005). Radicaux libres et stress oxydant (aspects biologiques et pathologiques). (n.d.-f).

Delphine D. (2008). Recherche et caractérisation de déterminants génétiques permettant l'adaptation d'une souche d'*Escherichia coli* à la mamelle bovine. Thèse de doctorat. Nancy-Université Institut National Polytechnique de Lorraine. 251 p. (n.d.-g).

Dickinson, D. A., Forman, H. J. (2002). Cellular glutathione and thiols metabolism. *Biochemical pharmacology*, 64(5-6), 1019-1026. (n.d.-h).

Djeridane A, Yousfi M, Brunel JM, et al. (2010). Isolation and characterization of a new steroid derivative as a powerful antioxidant from *Cleome arabica* in screening the in vitro antioxidant capacity of 18 Algerian medicinal plants. *Food Chem Toxicol*, 48, 2599-2606. (n.d.-i).

Références

E I-bed, N. E., Harzallah-Skhiri, F., & Boughalleb, N. (2010). Chemical composition and antifungal activity of the essential oil of *Pulicaria arabica* (L.) Cass. from Tunisia. *Agric Segment*, 1, 1530-1534. (n.d.-a).

Ergul M., Ergul 2 M., Eruygur N., Atas M., Ucar E. (2019). In Vitro Evaluation of the Chemical Composition and Various Biological Activities of *Ficus carica* Leaf Extracts. *Turk J Pharm Sci* 2019;16(4):401-9. (n.d.-j).

Estarrón Espinosa M., García Fajardo J.A., Obledovázquez E.N. (2006). Chemical composition and fungicidal activity of the essential oil of *Thymus vulgaris* against *Alternaria citri*. *E-Gnosis*. 4: 1-7. (n.d.-k).

F.M. Vázquez. (2000) «The genus *Scolymus* Tourn. ex L. (Asteraceae): taxonomy and distribution», *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, vol. 58, no 1, p. 83 100, juin 2000. (n.d.-n).

Fabiano-Tixier A.S., Chemat F. Li Y., (2014). Essential oils as reagents in Green Chemistry. Springer, Cham. Heidellberg (ed.). New York. P. 45) Soto Mendívil E.A., Moreno Rodríguez J.F., (n.d.-l).

Favier A. (2003). Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*. 108-115. (n.d.-m).

Funk, VA., Susanna, A., Stuessy, TF., Bayer, RJ. (2009). Systematics, evolution and biogeography of Compositae. Vienna: International Association for Plant Taxonomy. (n.d.-o).

Ghedadba, N., Bousselela, H., Hambaba, L., Benbia, S., & Mouloud, Y. (2014). Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des feuilles et des sommités fleuries de *Marrubium vulgare* L. *Phytothérapie*, 12(1), 15-24. (n.d.-d).

Gheffour, K., Boucherit, K., & Boucherit-Otmani, Z. (2015). Étude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante des extraits d'*Echinops spinosus*. *Phytothérapie*, 13(5), 288-294. (n.d.-e).

Ghestem A., Seguin E., Paris M., and Orecchioni A.M. (2001). Le préparateur en pharmacie dossier 2èmeEd TEC&DOC. Paris. pp275. (cited in Djemai Zoueglache S, 2008). (n.d.-f).

Grimaud F. (2009). Les astéracées du ladakh dans la médecine tibétaine, Springer. 7, 255-261. (n.d.-g).

Références

Hajjaj, G. (2017). Screening phytochimique, étude toxicologique et valorisation pharmacologique de *matricaria chamomilla* L. et de *l'ormenis mixta* L.(*asteraceae*). (n.d.-b).

Hajjaj, G. (2017). Screening phytochimique, étude toxicologique et valorisation pharmacologique de *matricaria chamomilla* L. et de *l'ormenis mixta* L.(*asteraceae*). Action des poudres et des huiles de quelques plantes aromatiques sur les paramètres biologiques du bruché de Haricot *acanthoscelides* Sobteccusay. Hamdani D, 2012 *Coleoptera Bruchidae*. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. Mémoire en vue de l'obtention de magister en sciences biologiques. 97p . (n.d.-h).

Hanbali, F. E., Akssira, M., Ezoubeiri, A., Mellouki, F., Benherraf, A., Blazquez, A. M., & Boira, H. (2005). Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Pulicaria odora* L. *Journal of ethnopharmacology*, 99(3), 399-401. (n.d.-i).

Hennebelle, T. (2006). "Investigation chimique, chimiotaxonomique et pharmacologique de *Lamiales* productrices d'antioxydants." *Chimie Organique et Macromoléculaire*. These de Docotrat; Université de Lille1. p 303. (n.d.-j).

Ionescu D., Negru G., Oprea M., Liescu H. (2009). Fungicide action of certain biological. (n.d.-k).

Ito C., Itoigawa M., Onoda S., Hosokawa A., Ruabgrungsi N., Okuda jardine de France entre rêve et cauchemar Romain Manceau Ingénieur en horticulture. (n.d.-c).

Koehler-Ramonatxo C. (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*. 20, 165–177. (n.d.-l).

Lamarti A., Badoc A., Deffieux G. and Carde J .P. (1994). Biogénèse des monoterpènes localisation le rat Wistar », Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen, P :1-13. (n.d.-a).

Li, W. H., Chang, S. T., Chang, S. C., & Chang, H. T. (2008). Isolation of antibacterial diterpenoids from *Cryptomeria japonica* bark. *Natural product research*, 22(12), 1085-1093. (n.d.-m).

Références

Macheix, J. J., Flouriet, A., Jay-Allemand, C., (2005). Les composés phénoliques des végétaux un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Edition Press polytechniques et universitaires romandes. Lousanne. p. 192. . (n.d.-n).

Mariani, T.J., Zelko, I.N., Folz, R.J. (2014). Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression, *Free Radic. Biol. Med.*;33(3):p. 337. (n.d.-o).

Martinez, M. T. (2004). Valorisation d'hydrolysats de co-produits de crevettes : étude de l'activité antiradicalaire et antioxydante, fractionnement des substances actives. Effet de la glycation. These Doctorat;188. (n.d.-d).

McCall, M.R., Frei, B. (1999). Can antioxidant vitamins materially reduce oxidative damage in humans. *Free Radic. Biol. Med.*;26(7-8):1034-1053. (n.d.-e).

N. Kirimer, Z. Tunalier, K. H. Can Başer, et I. Cingi, « Antispasmodic and spasmogenic effects of *Scolymus hispanicus* and taraxasteryl acetate on isolated ileum preparation », *Planta Medica*, vol. 63, no 6, p. 556-558, déc. 1997. (n.d.-a).

Ozkol H., Tuluce Y., Dilsiz N., Koyuncu S. (2013). Therapeutic potential of some plant *P. Naegeli* et G. Weber, « The total synthesis of racemic davanone », *Tetrahedron Letters*, vol. 11, no 12, p. 959-962, janv. 1970. (n.d.-g).

Panfili, G., Fratianni A., Irano, M. (2003). Normal phase high-performance liquid chromatography method for the determination of tocopherols and tocotrienols in cereals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*;51(14):3940-3944. (n.d.-h).

Phondani, P. C., Bhatt, A., Elsarrag, E., & Horr, Y. A. (2016). Ethnobotanical magnitude towards sustainable utilization of wild foliage in Arabian Desert. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 6(3), 209-21.. (n.d.-i).

Quezel P., Santa S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques Rebiahi, S. A. (2012). Caractérisation de souches de *Staphylococcus aureus* et étude de leur antibiorésistance au niveau du centre hospitalo-universitaire de Tlemcen. Thèse de doctorat. Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement. Université de Tlemcen, Algérie. 131p. (n.d.-j).

Références

Sannomiya M., Fonseca V-B., Da silva M-A., Rocha LRM. Dos Santos L-C, Hiruma-Selvaraj, N., Bobby, Z., Sathiyapriya. V. (2006). Effect of lipid peroxides and antioxydants on glycation of hemoglobin: an in vitro study on human erythrocytes. Clin Chim Acta, 366, 190-195. (n.d.-c).

Semaoui, M. (2021). Extraction et caractérisation des constituants contenus dans les extraits de *Scolymus grandiflorus*, *Carduncellus pinnatus* et *Salvia argentea*: évaluation de leurs activités biologiques (Doctoral dissertation, Université Pascal Paoli; Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen (Tlemcen, Algérie)). (n.d.-k).

Serrano E, Diaz J, Acosta F, Palenciano CG, Parrilla P, Carbonell LF: Oxidative stress during ischemia-reperfusion in liver transplantation. Transplant Proc 2000, 32(8):265. (n.d.-l).

Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S., Pessarakli, M. (2012). Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. Journal of Botany; 25:1-26. (n.d.-m).

Solbrig OT. (1977). Chromosomal cytology and evolution in the family Compositae. In: Heywood VH, Harborne JB, Turner BL, eds. The biology and chemistry of the Compositae. London: Academic Press, 267–281. (n.d.-n).

Spichiger R E, Savolainen V V, Figeat M, Jeanmonod D. (2004). Botanique Systématique des plantes à fleurs. 3ème édition, Presses Polytechniques Universitaires Romandes, Lausanne, Suisse. pp. 348-349. (n.d.-o).

Tavares-Carreón F, De Anda-Mora K, Rojas-Barrera IC, Andrade A. *Serratia marcescens* antibiotic resistance mechanisms of an opportunistic pathogen: a literature review. PeerJ. 2023 Jan 5;11:e14399. doi: 10.7717/peerj.14399. PMID: 36627920; PMCID: PMC9826615. (n.d.-a).

Taviano, MF., Marino, A., Trovato, A., Bellinghieri, V., Melchini, A., Dugo, P., Cacciola, F., Donato, P., Mondello, L., Guvenc, A., De-Pasquale, R., Miceli, N.(2013). *Juniperus oxycedrus* L. subsp. *oxycedrus* and *Juniperus oxycedrus* L. subsp. *macrocarpa* (Sibth. & Sm.) Ball. “berries” from Turkey: Comparative evaluation of phenolic profile, antioxidant, cytotoxic and antimicrobial activities. Food and Chemical Toxicology, 58, 22-29. (n.d.-c).

Références

Teuscher E., Anton R. and Lobstein A. (2005). Plantes aromatiques, Épices, aromates, condiments et huiles essentielles, Tec & Doc : Paris. (n.d.-d).

U. Gerhard, S. Thomas, et R. Mortishire-Smith, « Accelerated metabolite identification by “Extraction-NMR” », Journal of pharmaceutical and biomedical analysis, vol. 32, no 3, p. 531-538, 2003. (n.d.-e).

Uttara B, Singh AV, Zamboni P, et al (2009) .Oxidative stress and neurodegenerative diseases: a review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options. Curr Neuropharmacol 7: 65–74. (n.d.-f).

Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic M., MazurM. (2006).Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer.Chemico-Biological Interactions;160(1):140. (n.d.-g).

Vazquez F.M. (2000). the Genus Scolymustourn. EX L. (Asteraceae) taxonomy and végétaux, un exemple de métabolites secondaires d’importance économique. (n.d.-h).

Verpoorte, R., Alfermann, A. W., (2000). Metabolic engineering of plant secondary metabolism. Edition Kluwer Academic. p. 1-23. (n.d.-i).

Wang G, Zhao G, Chao X, Xie L, Wang H. The Characteristic of Virulence, Biofilm and Antibiotic Resistance of Klebsiella pneumoniae. Int J Environ Res Public Health. 2020 Aug 28;17(17):6278. doi: 10.3390/ijerph17176278. PMID: 32872324; PMCID: PMC7503635. (n.d.-j).

Wardman, P., Candeias, L. P. (1996). Fenton chemistry;An introduction. Radiation Research;145(5):523-531. (n.d.-k).

Wilfred .V et Ralph .N. (2006). Phenolic compound biochemistry Ed Springer .USA. 24p
Wolff SP, Jiang ZY, Hunt JV: Protein glycation and oxidative stress in diabetes mellitus and ageing. Free Radic Biol Med 1991, 10(5):339-352. (n.d.-l).

Wollgast J., et Anklam E.,(2000). Review on polyphenols in Theobromacacao:Younis, S. I., & Adam, S. E. I. (2008). Evaluation of toxicity of Rhanterium epapposum in Wistar rates. J Pharmacol Toxicol, 3, 134-140. (n.d.-m).

Zaabat, N., (2011). Thèse de doctorat, Université Mentouri- Constantine. (n.d.-b).

Site web :

Références

<https://resize.prod.docfr.docmedia.fr/rcrop/480,363,centermiddle/ext/eac4ff34/content/2022/7/3/staphylocoque-86d2d74380cad927.jpeg>. (n.d.).

http://www.rmliege.be/docs/RBP_Diabete2_recommandations_SSMG.pdf. (n.d.).

<http://www.cdc.gov/hai/organisms/pseudomonas.html>. (n.d.).

<https://www.francebleu.fr/emissions/minute-papillon/e-coli-listeria-salmonelle-les-bacteries-sont-elles-toutes-nos-ennemies>. (n.d.).

<https://www.jardiner-autrement.fr/les-substances-naturelles>. (n.d.).