



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministre de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Echahid Cheikh 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 : Toxicologie

Thème :

**Étude de certaines activités biologiques d'une
plante médicinale appartenant au genre
*Centaurea.***

Présenté et soutenu par :

Bouthaina MOKADEM

Safa BOUTERAA

Devant le jury composé de :

Président : Pr. Rachid ROUABHI

Université Larbi Tebessi-Tebessa

Promotrice : Dr. Nadia DJERMANE

Université Larbi Tebessi-Tebessa

Examineur : Dr. Hindel FATMI

Université Larbi Tebessi-Tebessa

Année universitaire : 2023 / 2024

بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ

REMERCIEMENT

Tout d'abord, Nous remercions DIEU pour nous avoir donné la santé, la volonté et le courage pour affronter la pression, continuer et réussir nos études, comme nous l'avons toujours souhaité.

Nos premiers remerciements iront à notre promotrice Mme **DJERMANE Nadia** (Maitre conférence A à l'université de TEBESSA), qui a su nous conseiller efficacement tout en nous laissant travailler librement. Pour son humanité et sa confiance, sa patience et ses remarques avisées toute notre reconnaissance lui est acquise.

Nous remercions notre professeur Mr **ROUABHI Rachid** et Mr **FATMI Hindel** d'avoir bien voulu nous faire l'honneur d'examiner, juger et d'évaluer notre mémoire.

Nos remerciements aussi l'équipe de l'hôpital Khaldi Abdelaziz Tébessa et 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.

Nous tenons aussi à remercier l'ensemble de nos enseignants qui nous ont transmis leur savoir et leur expérience durant tout notre cursus universitaire et permis ainsi d'atteindre le niveau scientifique nécessaire pour la réalisation de ce travail.

Enfin, à ceux de près ou de loin qui m'ont aidé et encouragé dans la concrétisation de ce projet, trouvent notre gratitude et nos sincères remerciements.

DÉDICACE

Louange à ALLAH maître des mondes de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve.

Du profond de mon cœur, avec mes sentiments de gratitude les plus profonds, et avec un vaste cœur plein de joie, je tiens à dédier ce modeste travail :

A L'homme de ma vie, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, mon plus haut exemple éternel, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir à toi papa chéri

J'espère que tu sois fier de ta fille.

*A celle qui m'a donné la vie, m'a élevé Mais m'as surtout aimé, ma source de tendresse, de noblesse et d'affection, il n'y a pas assez de mots pour décrire à quel point tu es importante pour moi « **Je t'aime maman** ».*

A la mémoire de mes chères grands-mères et chers grands-pères qu'ils me manquent trop, que Dieu les garde dans son vaste paradis.

*A la mémoire de mon deuxième père **Rachid ASSAL** l'homme au bon cœur, noble, généreux, l'homme qui me traitait comme sa petite-fille. Que Dieu le garde dans son vaste paradis.*

*A mes très chères sœurs **Ikram, Rahma, Rahil***

Je voudrais vous remercier d'être les meilleures sœurs du monde, que Dieu vous garde pour moi et je vous souhaite une vie pleine de joie et de succès.

*A la moitié de mon âme, ma source de la joie et du bonheur, ma plus belle cousine au monde **Manel** que Dieu te préserve pour moi.*

*A Mes cousines d'Amour **Nihel, Fadoua, Nesrine, Hadjer, Chahd, Sahar** pour leur amour, leurs conseils, aides, et encouragements.*

*A mes chers oncles **Taha, Lotfi***

*A mes chères tantes **Nacera, Houria, Karima, Yamina, Hayet, Fatma, Souad, Amel, Ilhem**. Aucun langage ne saurait exprimer mon respect et ma considération pour votre soutien et encouragements de l'amour que vous m'offrez quotidiennement et votre bonté exceptionnelle. Que Dieu le Tout Puissant vous garde et vous procure santé et bonheur.*

*A Mon binôme **Safa** d'être une sœur avant d'être une amie ou binôme, mon partenaire d'aventures et de défis. Ta présence à mes côtés me rend plus forte.*

*A Mes chères amies **Hana, Amira, Aya, Lina, Ouafa, Hadil, Narimene et Douaa.***

*A Mes chers amis **Abderrazak, Tarek, Iskander et Abderrahmane.***

Pour leurs encouragements, leur amour, ainsi que pour les moments inoubliables qu'on a vécus ensemble durant ces années.

A tous les professeurs qui m'ont enseigné tout au long de mon parcours.

A Tout ceux qui m'aiment et que j'aime.

Bouthaina.

Dédicace

Cet humble travail est dédié avec un grand amour, sincérité et de fierté.

Avant tout je remercie mon DIEU tout puissant, qui m'a donné, la volonté, le courage et la patience et qui a guidé mes pas vers le droit chemin durant mes années d'études.

Avec un très grand honneur que je dédie ce travail aux personnes les plus chères au monde :

A mon très cher père Abdelmadjid

Grâce à toi papa j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité. Je voudrais te remercier pour ton amour, ta générosité, ta compréhension... Ton soutien fut une lumière dans tout mon parcours. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour toi, J'espère que tu sois fière de ta fille

A ma très chère mère Melouka

Pour son affection, sa patience, sa compréhension, sa disponibilité, son écoute permanent et son soutien sans égal dans les moments les plus difficiles de ma vie et son aide si précieuse qui a rendu possible la soutenance de ce mémoire.

A ma grand-mère Mabrouka

Ceci est ma profonde gratitude pour ton éternel amour, que ce rapport soit le meilleur cadeau que je puisse t'offrir.

A vous mes chers frères : Khaled et Hamza qui m'ont toujours soutenu et encouragés durant ces années d'étude.

A mon petit frère Abderrahmane

A ma chère sœur Rahma : Qui n'a pas cessée de me conseiller, encourager, et soutenir tout au long de mes études. Et sa petite famille son époux Toufik et ses enfants Iyed et Jad.

A mon oncle : qui a été le deuxième père et son épouse ma deuxième mères qui nous a quitté pour pas Longtemps, qui aurait été si fier me voir réussir...

A Mon cher cousin : Mouhamed le deuxième frère et son épouse chère Salma et ses enfants Barae et Achrakat et Meriem.

A mer chères cousines : les deuxièmes sœurs ; l'adorable Ismaïen, la charmante Nabila, ma grande princesse Hamida, mon coup de cœur Zohra, la plus proche Awatef ; avec leurs épouses et enfants.

Mes amoureuses : Ritej, Sara, Mayar, Anfel, Riheb, Joulia

Mes amoureux : le plus adorable Sadjí, Iyess, Rayan, Farid, Amine, Racim.

A mon cher cousin : Toufik, son épouse chère sœur Marwa, ses chères filles Imen, et Doua, et son fils Mohammed, et le petit prince Islam.

*Ma partenaire en tout, ma moitié, ma sœur, mon binôme **Bouthaina** pour tous les moments inoubliables qu'on a passés ensemble pendant toute la période de nos amitiés et la période éducatives.*

A tous mes chères amies ; Hana, Amira, Lina et, Aya.

À tous les professeurs qui m'ont enseigné du début à la fin de ma carrière.

A tous ceux qui m'aime A tous ceux que j'aime

Enfin, je me dédie également ce travail, et je dis : "j'ai pu, et avec la permission de Dieu, j'ai réussi"

Safa

ملخص

في هذا البحث، تم تقييم بعض الأنشطة البيولوجية في المختبر باستخدام مستخلصات خام مختلفة تم تحضيرها من الجزء الهوائي لنبات *Centaurea pubescens* الذي تم حصاده من منطقة بئر رقعة بولاية أم البواقي. في البداية، تم تحضير المستخلصات العضوية عن طريق النقع البسيط في أربعة مذيبات ذات قطبية مختلفة (الميثانول، والبيوتانول، واسيتات الإيثيل، والكلوروفورم). أظهر مستخلص الميثانول أعلى مردود استخلاص (15.1%)، يليه مستخلص البيوتانول واسيتات الإيثيل، وأخيراً مستخلص الكلوروفورم. في الجزء الثاني، تم إجراء الأنشطة البيولوجية، تم تقييم النشاط المضاد للبكتيريا بطريقة الأقراص ضد تسع سلالات بكتيرية: *Salmonella enterica* ATCC 13076، *Bacillus cereus* ATCC 10876، *Escherichia coli* Clinique، *Escherichia coli* ATCC 25922، *Staphylococcus aureus* ATCC 25923، *Clinical Staphylococcus aureus*، *Pseudomonas aeruginosa*، *Proteus mirabilis*، وطريقة الاتصال المباشر مع سلالتين فطريتين *Fusarium oxysporum* و *Botrytis sp.*

كما تم تقييم النشاط المضاد للأوكسدة باستخدام أربع طرق: طريقة الكسح الجذري DPPH، وطريقة الكسح الجذري للكاثيونات الجذرية ABTS+، وطريقة الطاقة المختزلة (FRAP)، وطريقة اختزال الحديد بواسطة طريقة الفينانترولين. أظهر تقييم النشاط المضاد للبكتيريا أن المستخلصات المختلفة لها نشاط مثبط ضد سبع سلالات بكتيرية من تسعة تم اختبارها، تم تسجيل قطرها من أعلى منطقة تثبيط بواسطة مستخلص الميثانول متبوعاً بمستخلص أسيتات الإيثيل ضد سلالة *Bacillus cereus* ATCC 10876، وكشف عن نشاط كبير مضاد للفطريات ضد السلالتين الفطريتين المختبرتين اللتين تم تسجيل أعلى معدل تثبيط لهما بواسطة مستخلص بوتانوليك *Botrytis sp.* فيما يتعلق بالنشاط المضاد للأوكسدة، فإن المستخلصات لها نشاط جيد في اختباري ABTS و DPPH، ونشاط متوسط في اختبار FRAP، ونشاط منخفض في اختبار الفينانترولين. كما تم تقييم النشاط الوقائي الضوئي للمستخلصات من خلال تحديد عامل الحماية من الشمس، وأظهرت النتائج أن مستخلص أسيتات الإيثيل له أعلى نشاط حركي ضوئي، وبالنسبة للنشاط المضاد لمرض الزهايمر، أثبتت جميع المستخلصات أنها غير نشطة مقابل أستيل كولين ستيراز.

الكلمات المفتاحية: *Centaurea pubescens*، المستخلصات العضوية، النشاط المضاد للبكتيريا، النشاط المضاد للفطريات، النشاط المضاد للأوكسدة، النشاط الوقائي الضوئي، النشاط المضاد لمرض الزهايمر.

Résumé

Dans le présent travail, certaines activités biologiques ont été évaluées *in vitro* par différents extraits bruts préparés à partir de la partie aérienne de la plante *Centaurea pubescens*, récoltée de la région de Bir-rojaa, wilaya d'Oum El Bouaghi. Dans un premier temps, des extraits organiques ont été préparés par une simple macération dans quatre solvants de polarité différente (méthanol, n-butanol, acétate d'éthyle, et chloroforme), l'extrait méthanolique présente le meilleur rendement d'extraction avec un taux de (15,1%) suivi par l'extrait butanolique et acétate d'éthyle, et en dernier l'extrait chloroformique. Dans un second partie, des activités biologiques ont été réalisées, l'activité antimicrobienne a été évaluée par la méthode de disques vis-à-vis neuf souches bactériennes, il s'agit de *Salmonella enterica* ATCC 13076, *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* clinique, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* clinique, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, et *Klebsiella pneumoniae*, et la méthode de contact direct vis-à-vis deux souches fongiques *Fusarium oxysporum* et *Botrytis 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 différents extraits ont une activité inhibitrice contre sept souches bactériennes sur neuf testées, dont le diamètre de la zone d'inhibition le plus élevé a été enregistré par l'extrait de méthanol suivi par l'extrait d'acétate d'éthyle contre la souche *Bacillus cereus* ATCC 10876, 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 butanolique au contact de champignon *Botrytis sp.* Concernant l'activité antioxydante, les extraits ont une bonne activité de piégeage d'ABTS et de DPPH, une activité modérée par le test FRAP, et une activité faible par le test phénantroline. L'activité photoprotectrice des extraits a été également évaluée en déterminant le FPS, les résultats ont montré que l'extrait d'acétate d'éthyle possède l'activité photoprotectrice la plus élevée, et pour l'activité anti-Alzheimer, tous les extraits s'avèrent inactifs vis-à-vis de l'acétylcholinestérase.

Mots clés : *Centaurea pubescens*, Extraits organiques, Activité antimicrobienne, Activité antifongique, Activité anti-antioxydant, Activité photoprotectrice, Activité anti-Alzheimer.

Abstract

In the present work, certain biological activities have been evaluated in vitro by various crude extracts prepared from the aerial part of the *Centaurea pubescens* plant, harvested from the region of Bir-roгаа, wilaya of Oum El Bouaghi. Firstly, organic extracts were prepared by a simple maceration in four solvents of different polarity (methanol, n-butanol, ethyl acetate and chloroform), the methanolic extract shows the best extraction yield with a content of (15.1%) followed by the butanolic extract and ethyl acetate, and finally the chloroform extract. In a second part, biological activities were carried out, the antimicrobial activity was evaluated by the detection method with respect to nine bacterial strains, these are *Salmonella enterica* ATCC 13076, *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, and *Klebsiella pneumoniae*, and the method of direct contact with two fungal strains *Fusarium oxysporum* and *Botrytis sp*. The antioxidant activity was evaluated by four methods, namely the DPPH radical scavenging method, the ABTS*+ radical cation scavenging method, the reducing power method (FRAP), and the iron reduction method with phenantroline. The evaluation of the antimicrobial activity showed that the various extracts have an inhibitory activity against seven bacterial strains out of nine tested, the diameter of the inhibition zone of which was the highest recorded by the methanol extract followed by the ethyl acetate extract against the *Bacillus cereus* strain ATCC 10876, and revealed a significant antifungal activity against the two fungal strains tested whose inhibition rate the highest was recorded by the butanolic extract in contact with *Botrytis sp* fungus. Regarding the antioxidant activity, the extracts have a good ABTS and DPPH trapping activity, moderate activity by the FRAP test, and low activity by the phenantroline test. The photo-protective activity of the extracts was also evaluated by determining the SPF, the results showed that the ethyl acetate extract has the highest photoprotective activity, and for the anti-Alzheimer activity, all the extracts are inactive with respect to acetylcholinesterase.

Key words: *Centaurea pubescens*, Organic extracts, Antimicrobial activity, antifungal Activity ,anti-antioxidant activity , photo-protective activity, Anti-Alzheimer activity.

Sommaire

Remerciements

Dédicace

الملخص

Résumé

Abstract

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale1

PREMIERE PARTIE

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : La famille des astéracées et la plante étudiée

Centaurea pubescens

I.1. Généralités sur les plantes médicinales.....	4
I.2. Définition des plantes médicinales	4
I.3. Origine des plantes médicinales.....	5
I.4. La famille Astéracées	5
I.4.1. Généralité sur les astéracées	5
I.4.2. Classification classique	5
I.4.3. Distribution géographique	6
I.4.4. Description botanique	6
I.4.4.1. Appareil végétatif.....	7
I.4.4.2. Appareil sécréteur.....	8

I.4.4.3. Appareil reproducteur.....	8
I.4.5. Utilisation et intérêt des astéracées.....	9
I.4.5.1. Économique	9
I.4.5.2. Écologique	9
I.4.5.3. Thérapeutique	9
I.5. Le genre <i>Centaurea</i>	10
I.5.1. Description botanique.....	10
I.5.2. Distribution géographique.....	10
I.5.3. Propriétés thérapeutiques du genre <i>Centaurea</i>	11
I.5.4. Les principaux constituants chimiques du genre <i>Centaurea</i>	12
I.5.5. L'espèce de <i>Centaurea pubescens</i>	14
I.5.5.1. Description botanique.....	14
I.5.5.2. Distribution géographique.....	15
I.5.5.3. Classification classique.....	15
I.5.5.4. Utilisation.....	15

Chapitre II: Les substances bioactives et les activités

Biologiques étudiées.

II.1. Les Métabolites secondaires.....	17
II.1.1. Définition	17
II.1.2. Classification des métabolites secondaires.....	17
II.1.2.1. Les composés phénoliques	17
II.1.2.1.1. Généralités	17
II.1.2.1.2. Biosynthèse des composés phénoliques	17
a. La voie de shikimate.....	18
b. La voie d'acétate malonate	18
II.1.2.1.3. Classification des composés phénoliques	18
a. Acides phénoliques	18

b. Flavonoïdes	19
c. Coumarines	20
d. Tanins	21
e. Anthocyanes	22
f. Lignanes.....	22
II.1.2.2. Les composés terpéniques.....	22
II.1.2.2.1. Généralités	22
II.1.2.2.2. Biosynthèse des terpènes	23
II.1.2.2.3. Classification des composés terpéniques.....	23
II.1.2.2.4. Les huiles essentielles	23
II.1.2.3. Les alcaloïdes	23
II.1.2.3.1. Généralités.....	24
II.1.2.3.2. Biosynthèse des alcaloïdes	24
II.2. Les activités biologiques étudiées.....	24
II.2.1. Activité antioxydant	24
II.2.1.1. Définition du stress oxydant	24
II.2.1.2. Origine du stress oxydatif.....	24
II.2.1.3. Les causes du stress oxydatif.....	25
II.2.1.4. Les radicaux libres	25
II.2.1.4.1. Définition	25
II.2.1.4.2. Source des radicaux libres	25
II.2.1.4.3. Les rôles biologiques du radical libres	26
II.2.1.4.4. Toxicité des radicaux libres	26
II.2.1.5. Les systèmes antioxydants	27
II.2.1.5.1. Définition d'un antioxydant.....	27
II.2.1.5.2. Les types des systèmes antioxydants	27
a. Les systèmes antioxydants enzymatiques	27
b. Les systèmes antioxydants non enzymatiques	27
II.2.2. Activité antimicrobienne.....	29

II.2.2.1. Les microorganismes étudiés	29
II.2.2.1.1. Les souches bactériennes.....	29
II.2.2.1.2. Les souches fongiques.....	29
II.2.2.2. Les antimicrobiens.....	31
I.2.3. Activité photo protectrice	32
II.2.3.1. Effet des radiations UV sur la peau	32
II.2.3.2. Détermination de l'efficacité des produits solaires.....	33
II.2.3.2.1. Notion SPF.....	33
II.2.3.2.2. Catégories de photo protecteurs utilisées dans les écrans solaires.....	33
II.2.4. Activité anti Alzheimer.....	34
II.2.4.1. Définition de la maladie d'Alzheimer.....	34
II.2.4.2. Traitement de la maladie d'Alzheimer.....	34

DEUXIEME PARTIE

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre III : Matériel & Méthodes

III.1.Rappels des objectifs	38
III .2.Matériel et Méthodes.....	38
III .2.1. Matériel.....	38
III .2.1.1. Matériel végétal.....	38
III.2.1.2.Matériel du test de l'activité antimicrobienne	39
III.2.1.2.1. Les souches microbiennes.....	39
III.2.1.2.2. Les milieux de culture.....	40
III.2.1.3. Produits et Matériel des activités antioxydant, anti-Alzheimer et photoprotectrice..	40
III.2.2.Méthodes.....	40
III.2.2.1. Préparation des extraits végétaux par macération.....	40
III.2.2.2. Calcul du rendement d'extraction.....	41
III.2.2.3.Evaluation <i>in vitro</i> de l'activité antimicrobienne.....	41
III.2.2.3.1. Activité antibactérienne.....	41
III.2.2.3.2. Activité antifongique.....	43
III.2.2.4.Evaluation <i>in vitro</i> de l'activité antioxydant.....	45

III.2.2.4.1. Test de piégeage du radical libre DPPH.....	45
III.2.2.4.2. Test de piégeage du radical cation ABTS.....	46
III.2.2.4.3. Test du pouvoir réducteur (FRAP).....	46
III.2.2.4.4. Test de Phenanthroline.....	47
III.2.2.5.Évaluation <i>in vitro</i> de l'activité enzymatique.....	48
III.2.2.6.Évaluation <i>in vitro</i> de l'activité photoprotectrice (SPF)	49

Chapitre IV : Résultats et Discussions

IV. Résultats et discussion	52
IV.1. Rendement d'extraction	52
IV.2. Résultats des activités biologiques.....	53
IV.2.1. Activité antibactérienne	53
IV.2.2. Activité antifongique	57
IV.2.3. Résultats de l'activité antioxydante.....	59
IV.2.4. Résultats de l'activité SPF	63
IV.2.5. Résultats de l'activité enzymatique (anti-Alzheimer).....	64
Conclusion générale	67
Références bibliographiques.....	69

Liste d'abréviation

µl: Microlitre

Abs: absorbance of sunscreen product

ABTS : Sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)

AChE : Acétylcholinestérase

ADN : Acide désoxyribonucléique

C : Centaurea

CF : correction factor (= 10)

CP : Centaurea pubescens

DMSO : Diméthyle sulfoxyde

DPPH : α , α -diphenyl- β -picrylhydrazyl E-D: ether di-éthylique

DTNB: 5,5-dithio-bis-(2-nitrobenzoic acid)

E AcD : Extrait d'acétate d'éthyle.

E BuOH : Extrait n-butanolique.

E ChL : Extrait chloroformique

E MeOH : Extrait méthanolique

EE : érythème effect spectrum

ERO : Espèces réactives d'oxygène

Fe: Fer

FRAP: Ferric Reducing Antioxidant Power

G : Gramme

GN : Gentamicine

GPx : Glutathion peroxydase

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

HO₂• : Radical perhydroxyle

HOCl : Acide hypochlorique

I: solar intensity spectrum

Mg: Milligramme

MH: Muller Hinton

Min : Minute

ml : Millilitre

mm : Millimètre

O₂ : L'oxygène.

O₂⁻ : Radical superoxyde l'anion.

PDA: Potatoes dextrose agar

PE : poids d'extrait obtenu

PP : poids de la poudre végétale.

PPS : produit de protection solaire

Rayons UVB : B comme dans « brûlures » ou « bronzage »

ROS : Espèces réactives de l'oxygène

SOD : Superoxyde dismutase.

SPF : Sun protection factor

UV : Ultraviolet

Liste de figures

Titre de Figure	Page
Fig.I.1. La répartition géographique mondiale de la famille des Asteraceae. [25].	6
Fig.I.2. Exemple des feuilles de <i>centaurea pullata</i> [45]	7
Fig.I.3. Exemple des racines de <i>centaurea cyanus</i> [60].	7
Fig.I.4. Exemple de Tige de <i>Centaurea pectinata</i> [45].	8
Fig.I.5. Description d'une espèce du genre <i>Centaurea</i> [25].	10
Fig.I.6. L'espèce <i>Centaurea pubescens</i> [Rebbas, 2023].	14
Fig. II.1. Acides hydroxycinnamiques (C6-C3) [11]	18
Fig. II.2. Acides hydroxy benzoïques (C6-C1) [12].	18
Fig. II. Structure chimique de base des flavonoïdes [15].	19
Fig. II.4. Structure chimique de base des coumarines [8].	20
Fig. II.5. Structure chimique des tanins hydrolysables [23]	21
Fig. II.6. Structure chimique des tanins condensés [24]	21
Fig. II.7. Différentes classes de l'anthocyane [25].	22
Fig. II.8. Structure chimique de base des terpènes (Isoprène)	23
Fig. II.9. Les causes du stress oxydant [42].	25
Fig. II.10. Pénétration des rayonnements solaires en fonction de la longueur d'onde [66]	32
Fig. III.1. Plan de la partie expérimentale.	38
Fig.III.2. Localisation de la région de récolte.	39
Fig. III .3. Préparation de l'inoculum bactérien.	41
Fig. III.4 Ensemencement de bactéries	42
Fig. III.5. Dépôts des disques et l'injection des extraits	42
Fig. III.6. Lecture de l'activité antibactérienne	43
Fig. III.7. Préparation du milieu de culture PDA.	44
Fig. III.8. La mise en œuvre de l'activité antifongique.	44
Fig. III.9. Protocole du test de DPPH	45
Fig. III.10. Protocole du test d'ABTS	46
Fig. III.11. Protocole du test du pouvoir réducteur	47
Fig. III.12. Protocole du test de phenantroline.	48
Fig. III.13. Protocole de l'activité anti-acétylcholinestérase	48
Fig. III.14. Protocole de l'activité SPF .	50

Fig.IV.1. Histogramme représente le rendement d'extraction de différents extraits de <i>C.pubescens</i>	52
Fig.IV.2. Photographies montrant l'effet de différents extraits de <i>C.pubescens</i> sur la croissance des souches bactérienne ATCC testées.	54
Fig.IV.3. Photographies montrant l'effet de différents extraits de <i>C.pubescens</i> sur la croissance des souches bactériennes cliniques testées.	55
Fig.IV.4. Photographies montrant l'effet de différents extraits de <i>Centaurea pubescens</i> sur la croissance de champignon <i>F. oxysporum</i> .	58
Fig.IV.5. Photographies montrant l'effet de différents extraits de <i>Centaurea pubescens</i> sur la croissance de champignon <i>Botrytis. Sp.</i>	58
Fig.IV.6. Courbe d'étalonnage de Trolox	60
Fig.IV.7. Résultat de l'activité antioxydant de différents extraits de <i>C. pubescens</i> sur microplaque.	60
Fig.IV.8. Comparaison de l'activité antioxydant des différents extraits de <i>C.pubescens</i> par quatre tests antioxydants .	61
Fig.IV.9. Test SPF sur microplaque.	63
Fig.IV.10. Test d'acétylcholinestérase (AChE) sur microplaque.	64

Liste de tableaux

Titre de Tableau	Page
Tableau I.1. Classification systématique des Astéraceae [16]	6
Tableau I.2. Localisation mondiale de quelques espèces du genre <i>Centaurea</i> . [41].	11
Tableau I.3. Propriétés pharmacologiques de quelques espèces du genre <i>Centaurea</i>	11
Tableau I.4. Exemple des Lactones sesquiterpéniques isolés du genre <i>Centaurea</i>	12
Tableau I.5. Exemple des flavonoïdes isolés du genre <i>Centaurea</i>	13
Tableau I.6. Classification systématique de l'espèce <i>Centaurea pubescens</i>	15
Tableau II.1. Les principales classes de flavonoïdes [16].	19
Tableau II.2. Les principales sources des radicaux libres [47].	26
Tableau II.3. Les principaux systèmes antioxydants enzymatiques [47].	27
Tableau II.4. Les principaux systèmes antioxydants non enzymatiques [52] ; [47], [53].	28
Tableau III.1. Les souches microbiennes testées.	39
Tableau.III.2. Fonction normale de produit utilisée dans le calcul de la SPF.	50
Tableau.III.3. Pourcentage des rayons UVB bloqués.	50
Tableau.IV.1 : Rendement de différents extraits de <i>C. pubescens</i>	52
Tableau.IV.2. Diamètres des zones d'inhibitions de différents extraits de <i>C. pubescens</i>	53
Tableau IV.3. Pourcentage d'inhibition de la croissance fongique induite par différents extraits de <i>C. pubescens</i>	57
Tableau.IV.4. Valeurs du facteur de protection solaire des extraits de <i>Centaurea pubescens</i> .	63
Tableau.IV.5. Pourcentage des rayons UVB bloqués.	64
Tableau.IV.6. Résultats de l'Anti-Acétylcholinestérase des extraits de <i>C. pubescens</i> .	65

INTRODUCTION GENERALE

Depuis la plus haute antiquité, les gens se sont soignés avec les plantes, la plupart de ces plantes présentes à travers le monde ont des propriétés thérapeutiques, car elles renferment des substances bioactives qui agissent directement sur l'organisme [1].

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé, 80% de la population mondiale utilise la médecine traditionnelle est généralement dans les milieux ruraux, en raison de la proximité et de l'accessibilité de ce type de soins au coût abordable et surtout en raison du manque d'accès à la médecine moderne [2].

De même il s'est avéré, que les principes actifs des plantes médicinales sont souvent liés à leurs métabolites secondaires. En règle générale, les métabolites secondaires sont présents dans toutes les parties de la plante et sont des molécules à répartition restreinte, mais leur distribution varie en fonction de leurs fonctions. Cette répartition diffère d'une plante à une autre. On les considère comme des composés essentiels pour la plante afin de la préserver des agressions extérieures. Ils ne sont pas nécessairement indispensables à la survie de la plante, mais ils sont fréquemment employés en thérapie comme anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants, antimicrobiens, antiseptiques etc. [3].

L'Algérie se distingue par sa grande diversité de climats, ce qui favorise le développement d'une flore riche et variée [4]. Effectivement, l'Algérie possède de vastes ressources végétales. Il est crucial de prendre en compte ces ressources naturelles pour l'économie du pays et pour préserver l'équilibre écologique de la région [4].

Environ 3000 espèces de différentes familles botaniques sont présentes dans la flore algérienne [5]. Les astéracées (composées) sont l'une des familles les plus nombreuses et les plus étudiées. Ainsi, le genre *Centaurea* a fait l'objet de nombreuses activités biologiques durant plusieurs années [6-7]. C'est dans ce contexte que notre travail s'inscrit et vise à la valorisation d'une espèce de *Centauree* (*C. pubescens*) en basant sur ces activités biologiques dans le but de rechercher des nouvelles substances bioactives à intérêts thérapeutiques.

Le travail que nous avons effectué dans le cadre de notre mémoire de Master est reporté dans ce manuscrit et subdivisé en deux parties :

La première partie est bibliographique articulée en deux chapitres, le premier chapitre expose des généralités sur la famille des Astéracées et la plante sélectionnée, et le deuxième chapitre expose des généralités sur les substances bioactives et les activités biologiques étudiées.

La deuxième partie est expérimentale articulée également en deux chapitres, le premier chapitre renferme les travaux expérimentaux effectués sur l'espèce sélectionnée.

INTRODUCTION GENERALE

- ✓ Préparation de différents extraits bruts en utilisant des solvants à polarité croissante : Chloroforme, Acétate d'éthyle, n-Butanol et Méthanol
- ✓ Evaluation de l'activité antibactérienne en utilisant la méthode de diffusion en milieu gélosé.
- ✓ Evaluation de l'activité antifongique en utilisant la méthode de contact direct
- ✓ Evaluation de l'activité antioxydant en utilisant quatre méthodes différentes : DPPH.ABTS, FRAP, et Phenanthroline.
- ✓ Evaluation de l'activité photo protectrice (FPS) en déterminant le spectre d'absorption en (290 à 320nm).

Le deuxième chapitre consiste en une analyse des résultats obtenus et une discussion, Enfin, le manuscrit a été terminé par une conclusion générale qui permettra de tirer quelques perspectives de prolongement à ce travail.

CHAPITRE I :
LA FAMILLE DES ASTERACEAE
ET LA PLANTE ETUDIÉE

I.1. Généralités sur les plantes médicinales

Les plantes médicinales englobent toutes les plantes qui ont été séchées ou traitées selon des méthodes spécifiques, puis utilisées dans la fabrication de médicaments [8]. L'utilisation thérapeutique des plantes est documentée dans les anciennes littératures arabes, chinoises, égyptiennes, hindoues, grecques et romaines. Depuis toujours, les plantes constituent une source essentielle de médicaments, se présentant sous forme de principes actifs d'huiles, d'extraits, de solutions aqueuses ou organiques, voire utilisées telles quelles [9].

L'usage empirique des diverses préparations traditionnelles de plantes revêt une importance capitale pour une sélection efficace, étant donné que la plupart des métabolites secondaires des plantes sont employés en médecine moderne [10].

À travers les âges, les traditions humaines ont valorisé les propriétés apaisantes et analgésiques des plantes, développant ainsi la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales [11]. L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est étroitement liée à l'évolution des civilisations, et dans toutes les régions du monde, ces plantes ont toujours joué un rôle prépondérant en médecine [12].

L'utilisation des plantes à des fins curatives remonte à la préhistoire, et tous les peuples, sur tous les continents, ont recours à ce remède ancestral. Malgré les avancées des chimistes, plus de 25% des médicaments prescrits dans les pays développés sont directement ou indirectement dérivés des plantes [13].

Aujourd'hui, les plantes ont démontré leur efficacité thérapeutique avérée et leurs bienfaits indiscutables pour la santé [14]. En Algérie, les travaux les plus récents sur les plantes médicinales sont rapportés dans les ouvrages de Beloued en 1998 et Baba Aissa en 1999.

L'Algérie compte plus de 600 espèces de plantes médicinales et aromatiques [15]. Cependant, malgré son riche potentiel, l'Algérie demeure un importateur net de plantes aromatiques et médicinales, acquérant la plupart de ses besoins à des prix modiques, alors que les produits finis sont importés à des coûts exorbitants. Il est donc impératif pour l'Algérie de valoriser le marché des plantes médicinales en en faisant une filière à part entière, à l'instar des autres pays du Maghreb [15].

I.2. Définition des plantes médicinales

Les plantes médicinales font référence aux matières premières botaniques, également désignées sous le terme d'herbes médicinales. Elles sont principalement utilisées à des fins thérapeutiques, aromatiques, culinaires, ou en tant que constituants dans la fabrication de cosmétiques, médicaments, aliments naturels, et autres produits de santé naturels. Ces plantes

servent également de base pour la création de produits naturels transformés à valeur ajoutée, tels que les huiles essentielles, les extraits secs et liquides, ainsi que les oléorésines [16].

I.3. Origine des plantes médicinales

Les plantes médicinales ont deux origines principales. Tout d'abord, les plantes spontanées, également appelées "sauvages" ou de cueillette, puis, en second lieu, les plantes cultivées [17]. Les plantes spontanées peuvent également être désignées sous le terme de « plantes adventices ». On les définit comme la flore qui pousse naturellement sans intervention humaine, maintenant ainsi un processus naturel de colonisation. Une plante spontanée se distingue ainsi de la flore cultivée ou plantée, dont le développement dépend directement de l'intervention humaine [18].

I.4. La famille des *Astéraceae*

I.4.1. Généralités

La famille des Astéracées, également connue sous le nom de "famille de l'Aster" ou "Composées", tire son appellation du mot grec "Aster" signifiant étoile, en référence à la forme caractéristique de la fleur [19]. Cette famille est la plus étendue parmi les plantes à fleurs, suivie seulement par les Orchidacées.

Les Astéracées sont une famille majeure parmi les Dicotylédones, se distinguant par leur incroyable diversité avec plus de 1600 genres et 23 500 espèces répartis à travers le monde, dont environ 109 genres et 408 espèces sont recensés en Algérie [20]. Selon **Funk et al. (2005)** [21], cette famille comprend entre 1600 et 1700 genres ainsi que 24 000 à 30 000 espèces. En tenant compte du nombre total estimé d'espèces végétales dans le monde, soit environ 298 000 espèces [22], la famille des Astéracées représente entre 8% et 10% de l'ensemble des espèces végétales.

Parmi les genres les plus significatifs en termes de nombre d'espèces, on retrouve notamment *Senecio* (1500 espèces), *Vernonia* (1000 espèces), *Cousinia* (600 espèces) et *Centaurea* (600 espèces) [23].

I.4.2. Classification classique

Les Astéracées appartiennent à la catégorie des plantes à ovules et sont classifiées dans le clade des Spermatophytes. Ce groupe se subdivise en deux sous-embranchements distincts : les Gymnospermes, qui sont des plantes à ovules nus, et les Angiospermes, caractérisées par des ovules protégés dans l'ovaire et des graines enveloppées par un fruit, illustrant la présence de la double fécondation [24].

Selon [24], la classification de la famille des astéracées est comme suit :

Tableau.I.1. Classification systématique des *Astéraceae* [24]

Règne	Plantae
Sous-règne	<i>Tracheobionta</i>
Embranchement	<i>Spermaphytea</i>
Sous-embranchement	<i>Angiosperma</i>
Classe	<i>Magnoliopsida (Dicotylédonea)</i>
Sous-classe	<i>Asterideae</i>
Ordre	<i>Asterales</i>
Famille	<i>Asteraceae</i>

I.4.3. Distribution géographique

La famille des astéracées présente une répartition mondiale, s'étendant des régions polaires aux tropiques, colonisant une grande diversité d'habitats [25]. Elle est cosmopolite, avec une diversification plus prononcée dans les régions sèches, telles que le bassin méditerranéen, le sud de l'Afrique, le Mexique et l'Amérique du Sud, ainsi qu'au sud-ouest des États-Unis. On les trouve moins fréquemment dans les forêts tropicales humides [25] (**Fig.I.1**).



Fig.I.1. La répartition géographique mondiale de la famille des *Asteraceae* [32].

I.4.4. Description botanique

La famille des astéracées est la famille la plus vaste chez les Dicotylédones, comme l'ont souligné (Quezel et Santa en 1963) [20]. Ces plantes partagent la caractéristique commune d'avoir une inflorescence en capitule, ce qui signifie qu'une multitude de fleurs sans pédoncule est regroupée sur un réceptacle et entourée de bractées florales. Cette structure, en forme de coupe ou de collerette, est appelée un involucre [26].

Selon Gaussen, les Astéracées sont classées en deux types en fonction de leurs fleurs : celles avec des corolles ligulées et celles avec des corolles tubulées [27]. La plupart du temps, ce sont des plantes herbacées, des arbustes, des arbres ou des lianes [28]. La majorité des membres de cette famille sont des plantes herbacées annuelles, bisannuelles ou vivaces, bien que quelques espèces arborescentes existent. On trouve à peu près toutes les formes végétales au sein de cette famille [29].

I.4.4.1. Appareil végétatif

a. Les feuilles

Les feuilles des astéracées sont le plus souvent disposées de manière alterne, bien que des arrangements opposés ou radiaux soient également observés [30]. Parfois, elles adoptent une disposition en rosette basale, notamment chez les arbustes monocaules où elles sont terminales. Les feuilles peuvent être simples, entières ou découpées, parfois composées, et elles ne présentent généralement pas de stipules [31].



Fig.I.2. Exemple des feuilles de *Centaurea pullata* [52]

b. Les racines

Les racines des astéracées se manifestent principalement sous forme de racines pivotantes et sont souvent tubérisées, à l'instar des racines de *Dahlia sp.*



Fig.I.3. Exemple des racines de *Centaurea cyanus* [67].

c. Les tiges

Les tiges des astéracées sont généralement dressées, bien que des exceptions existent, notamment avec des plantes présentant des rhizomes, à l'instar du Topinambour (*Helianthus tuberosus*) [32].



Fig.I.4. Exemple de Tige de *Centaurea pectinata* [45].

I.4.4.2. Appareil sécréteur

Les Astéracées présentent généralement un appareil sécréteur bien développé, qui se manifeste de deux façons principales :

a. Plantes à résine ou à essences : Elles renferment dans leurs tissus des cellules ou des canaux sécréteurs à essence [33] ou des poils sécréteurs. Certains membres de cette famille sont ainsi particulièrement aromatiques et sont utilisés à cet effet, tels que la camomille, l'armoise, l'estragon, etc.

b. Plantes à latex : Les astéracées peuvent également être des plantes à latex, avec la présence de laticifères, comme c'est le cas dans le groupe des Chicorées et des plantes apparentées (par exemple, le pissenlit). Lorsqu'on brise la tige de ces plantes, un suc blanchâtre s'exsude [34].

I.4.4.3. Appareil reproducteur

Les astéracées se distinguent par plusieurs caractéristiques distinctives :

- **L'inflorescence en capitule** : Les fleurs sont regroupées de manière caractéristique en capitule.
- **Les fleurs synanthérées** : Les anthères des fleurs sont soudées entre elles, formant ce que l'on appelle des fleurs "synanthérées".
- **Le fruit en akène** : Généralement, le fruit de ces plantes prend la forme d'un akène, souvent surmonté d'une structure duveteuse appelée Pappus [30].

I.4.5. Utilisations et intérêts

I.4.5.1. Économique

Cette vaste famille revêt une importance économique significative, fournissant diverses plantes alimentaires. La laitue se distingue comme la plante la plus cultivée au sein de cette famille, suivie de l'artichaut, de l'endive, du salsifis, de la chicorée, de l'estragon et du tournesol.

De nombreuses autres espèces de cette famille sont appréciées à des fins ornementales, telles que la marguerite, le dahlia, le zinnia, le cosmos, le chrysanthème et l'aster. Par ailleurs, plusieurs espèces de cette famille sont utilisées en pharmacie, notamment l'Arnica (*Arnica montana* L.), la camomille (*Matricaria chamomilla* L. et *Anthemis nobilis* L.), le pied de chat (*Antennaria dioica* Gartn), et le tussilage (*Tussilago farfara* L.) [35].

I.4.5.2. Écologique

Les Astéracées jouent un rôle essentiel en faveur de l'environnement, étant à la fois mellifères et bénéfiques pour la préservation de la biodiversité des insectes. Leurs fleurs attirent fréquemment des insectes généralistes. Un parterre d'asters en fleurs dans les jardins constitue, par exemple, un moyen efficace de surveiller la santé et la diversité de la population d'insectes dans votre région : il devrait être constamment animé par le bourdonnement des insectes et entouré par une variété de papillons. Même les pissenlits, souvent mal considérés, représentent une source importante de nourriture pour les abeilles et autres pollinisateurs, étant présents de manière quasi continue dans le paysage, le long des routes et dans les pelouses. Les Astéracées, particulièrement diversifiées dans les régions arides, jouent un rôle crucial dans le maintien de la stabilité des milieux secs [36].

I.4.5.3. Thérapeutique

La famille des Astéracées offre un ensemble d'espèces d'une importance considérable sur le plan thérapeutique, ce qui est compréhensible compte tenu du nombre diversifié de genres qu'elle englobe. De nombreuses espèces sont exploitées dans le cadre de la médecine traditionnelle et sont associées à une gamme étendue d'activités thérapeutiques, reflétant la diversité caractéristique de cette famille. Dans de nombreux cas, l'efficacité thérapeutique de ces plantes médicinales a été liée à la présence de métabolites secondaires, tels que les lactones sesquiterpéniques, qui sont des marqueurs distinctifs de cette famille. L'un des exemples les plus célèbres est certainement celui de l'artémisinine, une lactone sesquiterpénique reconnue pour ses propriétés antipaludiques, extraite de *Artemisia annua*, une plante longtemps utilisée dans la médecine traditionnelle chinoise [37].

I.5. Le genre *Centaurea*

I.5.1. Description botanique

Les *Centaurea* sont des plantes herbacées, pouvant être annuelles, bisannuelles ou vivaces, caractérisées par des feuilles disposées de manière alternée. Comme pour toutes les plantes de la famille des composées, leurs fleurs, également appelées fleurons, se présentent sous forme de capitules multiflores homomorphes ou dimorphes, entourés d'un involucre ovoïde ou globuleux, orné de bractées imbriquées sur plusieurs rangs.

Dans le cas des espèces du genre *Centaurea*, toutes les fleurs sont tubulées, avec une structure multiflore homomorphe ou dimorphe, les fleurs périphériques (souvent stériles) s'ouvrant largement en cinq lobes. La couleur des fleurs varie principalement entre le rose, le pourpre et le violet, mais quelques espèces à fleurs jaunes existent également. Ces fleurs sont entourées d'un involucre ovoïde ou globuleux, avec des bractées imbriquées et inégales sur plusieurs rangs, ressemblant à la disposition des bractées des artichauts ; ces bractées peuvent être ciliées (ce qui est le cas le plus courant) ou épineuses.

Les fruits sont des akènes longs ou ovoïdes, lisses, avec un hile latéral profond, parfois barbu, portant une aigrette relativement courte, simple ou double, qui peut être persistante ou caduque [20].



Fig.I.5. Description d'une espèce du genre *Centaurea* [32].

I.5.2. Distribution géographique

Les *Centaurea* sont des plantes présentes dans une variété d'habitats, tels que les déserts, les semi-déserts, les pentes abruptes, les hautes montagnes, les terres cultivables, les zones sujettes aux inondations périodiques, ainsi que les zones partiellement exposées au soleil et arides [46].

Le genre *Centaurea* bénéficie d'une large distribution géographique, se retrouvant abondamment en Europe, en Asie, en Afrique, en Amérique du Nord (Canada et États-Unis) et en Australie [47]. Il est également présent sur le territoire algérien, en Europe méridionale, dans le bassin méditerranéen, à l'ouest de l'Asie et sur le continent américain [30].

Dans la nouvelle flore d'Algérie, Quezel et Santa ont répertorié et décrit 45 espèces du genre *Centaurea* sur le sol algérien, se développant de manière spontanée dans divers endroits du pays, dont 7 sont localisées dans le désert du Sahara [48].

Tableau.I.2. Localisation mondiale de quelques espèces du genre *Centaurea*.

Espèce	Localisation
<i>C. calcitrapa</i> <i>C. hololeuca</i>	Algérie
<i>C. chamaerhaponticum</i> <i>C. pullata</i>	Afrique du Nord
<i>C. maroccana</i> <i>C. ptosimopappa</i>	Toute l'Europe
<i>C. ruthencia</i> <i>C. tougourensis</i>	Sahara
<i>C. solsticiales</i> <i>C. diffusa</i>	Europe de l'Est
<i>C. pubescens</i> <i>C. musimomum</i>	Algérie

I.5.3. Propriétés thérapeutiques du genre *Centaurea*

Les espèces de ce genre ont été attribuées à un large éventail d'effets thérapeutiques dans les médecines traditionnelles du monde entier, notamment dans le traitement des maladies endocriniennes, des troubles inflammatoires, des symptômes gastro-intestinaux, des infections urogénitales, des problèmes cardio-vasculaires ainsi que dans le traitement des infections parasitaires et microbiennes [54].

Tableau. I.3. Propriétés pharmacologiques de quelques espèces du genre *Centaurea*

Espèce	Utilisation	Référence
<i>C.africana</i>	Le traitement des brûlures (34%) suivi par le traitement des plaies (28%) et escarres (26%) (la racine)	[55]
<i>C.helenioides</i> <i>Boiss</i>	Anti-inflammatoire, cardiotonique, neurocytotoxique	[56]
<i>C.solstitialis</i>	Traitement des troubles digestifs, les malaras, les ulcères	[57]

<i>C.cyanus</i>	Propriétés anti-diarrhéiques, antipyrétiques et Cardiotoniques	[58]
<i>C.incana</i>	Propriétés anti-inflammatoires et anti-oxydantes	[59]
<i>C.uniflora</i>	Utilisée contre la fièvre et pour la désintoxication	[54]
<i>C.ornato</i>	Utilisée comme dépuratif et cholagogue	[60]

I.5.4. Les principaux constituants chimiques du genre *Centaurea*

Les études phytochimiques menées sur les plantes du genre *Centaurea* ont révélé une grande richesse en métabolites secondaires, comprenant notamment des lactones sesquiterpéniques [41], des flavonoïdes [42], des composés acétyléniques [43] ainsi que des alcaloïdes et des stéroïdes [44].

Le tableau suivant présente quelques exemples de lactones sesquiterpéniques isolées à partir de quelques espèces du genre *Centaurea*.

Tab.I.4. Exemple des Lactones sesquiterpéniques isolés du genre *Centaurea*

Espèce	Origine de l'espèce	Partie étudiée	Composé isolé	Reference
<i>C.hermannii</i>	Istanbul-Turquie	Les feuilles et les fleurs (Parties Aériennes)	-Janérine -Chlorojanérine -19-désoxy chlorojanérine	[71]
<i>C.lippii</i>	L'est de l'Algérie	Parties aériennes	-Cnicine	[60]
<i>C.hierapolitana</i>	Turquie	Parties aériennes	-Hsierapolitanin A -Hierapolitanin B	[69]
<i>C.acaulis L.</i>	Mila	Parties aériennes	-14-chloro-10 β -Hydroxy-10(14) - dihydrozaluzanine D - β -cyclocostunolide - costunolide -santamarine	[70]
<i>C.musimomum</i>	Souk ahras	Parties aériennes	-13-acetoxy-11 - hydroxy-3-oxo-1 H, 4 β H, 5 H, 6 β H, 7 H-guaia-10(14) - en-6,12-olide -13,11 dihydroxy-3oxo-1 H, 4 β H, 5H,	[68]

			6 β H, 7 H-guaia-10(14) -en-6,12-olide	
<i>C.pullata</i>	'Afrique de nord	Parties aériennes	11, β 13- dihydro-ncicine	[60]

Le tableau suivant présente quelques exemples de flavonoïdes isolées à partir de quelques espèces du genre *Centaurea*.

Tab.I.5. Exemple des flavonoïdes isolés du genre *Centaurea*

Espèce	Origine de l'espèce	Partie étudiée	Composé isolé	Reference
<i>C.lippii</i>	Est de l'Algérie	Parties aériennes (Feuilles et fleurs)	6-C-glucosyl apigénine 3-O-glucosyl quercétine 3-O-rutinosyl kaempférol	[60]
<i>C.africana</i>	El Tarf (EL Kala)	Feuilles	4'- méthylgossipétine	[61]
<i>C.dimorpha</i>	Msila	Parties aériennes	-4',5,7-Trihydroxy flavone -4',5,7-trihydroxy -6methoxyflavone	[62]
<i>C. incana</i>	Sahara	Parties aériennes	- Hispiduline - Nepetine - 6-methoxykaemferol	[63]
<i>C.musimomum</i>	Souk-Ahras	Parties aériennes	- 5-hydroxy -6,7,3',4' Tétraméthoxyflavone	[64]
<i>C. sulphurea</i>	Batna	Parties aériennes (Feuilles)	-cirsilineol - jacéosidine - 5-hydroxy -6,7,3',4' Tétraméthoxyflavone -Nepetine	[65]

			-Eupatiline	
<i>C.acaulis L</i>	Mila	Parties aériennes	-patuletine7-O-β-glucopyranoside -hispiduline7-O-β-glucopyranoside -Hispiduline	[66]

I.5.5. L'espèce *Centaurea pubescens*

I.5.5.1. Description botanique

La *Centaurea pubescens* c'est une plante vivace appartenant au genre *Centaurea* et à la famille des Astéracées, se distingue par les caractéristiques suivantes :

Feuilles rugueuses au toucher, avec des basales découpées en segments étroits.

Capitules solitaires se présentant individuellement plutôt qu'en grappes ou en inflorescences plus grandes.

Bractées involucreales internes sont longues, à longue épine centrale rigide et à cils marginaux.

Fleurs peuvent être jaunes, acajou ou noirâtres, et les akènes possèdent un Pappus de soies pourpres écailleuses [52, 50].



Figure.I.4. L'espèce *Centaurea pubescens* [Rebbas, 2023].

I.5.5.2. Distribution géographique

Centaurea pubescens est une plante endémique d'Afrique du Nord, on la retrouve donc principalement dans l'Algérie, la Tunisie et surtout au Maroc, cette plante préfère les zones sèches et ensoleillées comme les terrains rocailloux ou sablonneux [51].

Elle est divisée en sous-espèces telles que *Centaurea pubescens* subsp. *Amourensis* et *Centaurea pubescens* subsp. *Sahara*, qui présentent des variations subtiles [52].

I.5.5.3. Classification classique

La classification de l'espèce *Centaurea pubescens* est comme suit :

Tab.I.6. Classification systématique de l'espèce *Centaurea pubescens*

Règne	Plantae (Plantes)
Sous-règne	<i>Tracheobionta (Plantes vasculaires)</i>
Division	<i>Magnoliophyta (Plantes à fleurs)</i>
Classe	<i>Magnoliopsida (Dicotylédones)</i>
Sous-classe	<i>Asteridae</i>
Ordre	<i>Asterales</i>
Famille	<i>Asteraceae (Astéracées)</i>
Genre	<i>Centaurea</i>
Espèce	<i>Centaurea pubescens</i>

.I.5.5.4Utilisation

L'espèce *Centaurea pubescens* a été utilisée dans la médecine populaire pour ses propriétés digestives et anti-inflammatoires. Elle permet de lutter contre la perte temporaire d'appétit, les problèmes digestifs et gastro-intestinaux. Cependant, l'absence d'études cliniques rigoureuses ne permet pas de confirmer ces usages et d'en garantir la sécurité [53].

***CHAPITRE II : LES METABOLITES
SECONDAIRES ET LES ACTIVITES
BIOLOGIQUES ETUDIEES***

II.1. Les Métabolites secondaires

II.1.1. Définition

Les plantes autotrophes produisent et accumulent en petites quantités des métabolites secondaires, qui sont des composés organiques complexes [72] [73].

Contrairement aux métabolites primaires qui incluent des protéines, des lipides et des acides nucléiques et qui soutiennent la croissance et le développement normaux des organismes [74]. Les métabolites secondaires remplissent des fonctions cruciales dans la résistance aux stress biotiques (phytopathogènes, herbivores, etc.) et abiotiques (UV, température, etc.) [75], on peut les classer en terpènes, shikimates, polykétides et alcaloïdes en fonction des voies de synthèse.

Ces métabolites secondaires peuvent être communs à plusieurs espèces ou spécifiques à une espèce particulière. Les espèces partageant des modèles de production similaires de métabolites secondaires peuvent être classées selon leurs métabolites, un processus connu sous le nom de taxonomie [76].

II.1.2. Classification des métabolites secondaires

Les composés du métabolisme secondaire sont classés en 3 grandes classes :

- **Les composés phénoliques.**
- **Les composés terpéniques.**
- **Les alcaloïdes.**

Chacune de ces classes renferme une très grande diversité des composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine [77].

II.1.2.1. Les composés phénoliques

II.1.2.1.1. Généralités

Les polyphénols sont l'un des groupes de substances les plus nombreux et les plus répandus dans le règne végétal, avec plus de 8000 structures phénoliques connues à ce jour. Ceux-ci proviennent du métabolisme secondaire des plantes et sont principalement synthétisés par deux voies : la voie du shikimate et celle de l'acétate [78].

Tous les composés phénoliques partagent la caractéristique d'avoir un ou plusieurs cycles benzéniques (C6) portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles (OH) en commun [79].

II.1.2.1.2. Biosynthèse des composés phénoliques

Les composés phénoliques sont issus par deux grandes voies biosynthétiques :

a. La voie de shikimate

La biosynthèse du noyau aromatique est principalement effectuée par la voie du phénylpropanoïde, ou voie du shikimate. Son point de départ est l'acide shikimique (acide à six carbones et un carbone), qui se transforme en acide phénylpyravique, puis en acide cinnamique (C6-C3) à partir de la phénylalanine.

b. La voie d'acétate malonate

Ce processus de formation, plus secondaire, implique la cyclisation des chaînes polypeptidiques, qui sont elles-mêmes obtenues par la condensation de groupes acétates. La condensation des groupes acétates se produit après la carboxylation de l'acétyl-CoA en malonyl-CoA [80].

II.1.2.1.3. Classification des composés phénoliques

Les composés phénoliques représentent un groupe de métabolites secondaires complexe comportant plusieurs familles.

a. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques sont parmi les composés phénoliques les plus simples et peuvent être classés en deux grands groupes distincts : les acides hydroxy cinnamiques (C6-C3) [81]. [82]. [83].

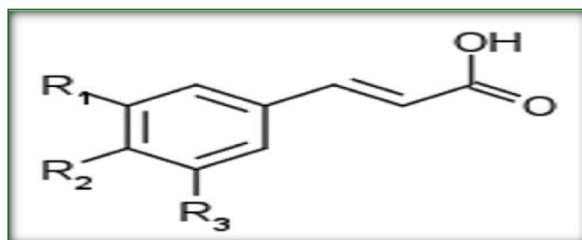


Fig. II.1: Acides hydroxy cinnamiques (C6-C3) [82]

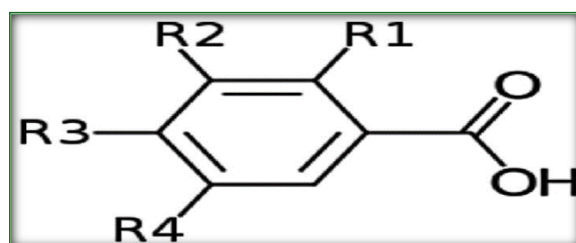


Fig. II.2: Acides hydroxy benzoïques (C6-C1) [83].

b. Les flavonoïdes

Le terme "flavonoïde" fait référence à une vaste gamme de composés naturels des polyphénols [84]. Ils sont responsables de la coloration des divers organes végétaux [85].

Les flavonoïdes sont retrouvés dans les fruits, les légumes, les boissons, et aussi dans plusieurs plantes médicinales.

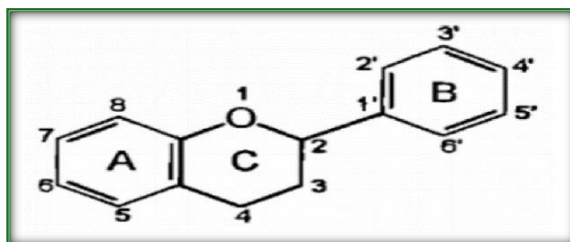


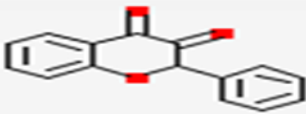
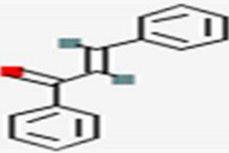
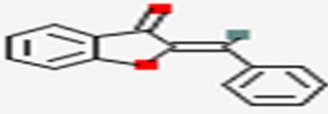
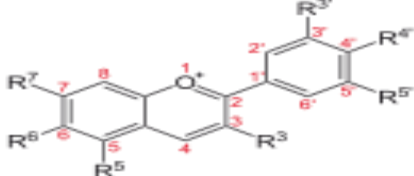
Fig. II.3 : Structure chimique de base des flavonoïdes [86].

Les flavonoïdes peuvent être classés en plusieurs catégories telles que les flavones, les flavanols, les Isoflavones, les flavonones, les flavonols, les chalcones, les aurones et les anthocyanines (Tableau II.1).

Tab II.1. Les principales classes de flavonoïdes [87].

Composé	Formule	Structure
Flavone	$C_{15}H_{10}O_2$	
Flavan-3-ol	$C_{15}H_{14}O_2$	
Isoflavone	$C_{15}H_{10}O_2$	
Flavonone	$C_{15}H_{10}O_3$	

**CHAPITRE II : LES METABOLITES SECONDAIRES ET LES ACTIVITES
BIOLOGIQUES ETUDIEES**

Flavonol	$C_{15}H_{10}O_3$	
Chalcone	$C_{15}H_{12}O$	
Aurone	$C_{15}H_{10}O_2$	
Anthocyanine	$C_{27}H_{30}O_{16}$	

c. Les coumarines

Les coumarines sont des structures hétérocycliques oxygénées basées sur le benzo-2-pyrone (squelette de base constitué de deux cycles accolés avec neuf atomes de carbone). Vogel a isolé celles-ci pour la première fois en 1820 à partir de l'espèce *Coumarouna odorata*. [88].

Les coumarines sont largement répandues chez les végétaux, notamment dans les racines et les écorces. Elles se trouvent dans la nature soit à l'état libre ou bien combiné avec des sucres sous formes des glucosides de l'acide orthohydroxycinnamique chez divers végétaux [89].

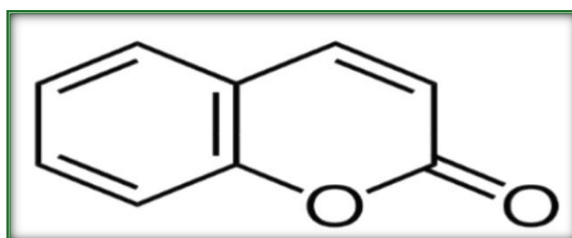


Fig. II.4. Structure chimique de base des coumarines [79].

d. Les Tanins

Les tanins sont des composés phénoliques qui sont solubles dans l'eau, avec un poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Dalton. En plus de posséder les propriétés typiques des phénols, ils ont la capacité de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines [89].

Dans la plante, le rôle biologique des tanins est lié à sa propre protection contre les infections, les insectes et les herbivores [90] ainsi qu'à la défense contre les attaques fongiques et bactériennes [91].

On distingue habituellement deux groupes différents des tanins qui sont : les tanins hydrolysables et les tanins condensés.

Les tanins hydrolysables : Sont des polyesters de glucose (ou de molécules apparentées) associés à un nombre variable d'acide phénolique. Dans le cas des tanins galliques, cet acide est l'acide gallique. Quant aux tanins ellagiques, l'acide hexahydroxydiphénique (HHDP) et ses dérivés d'oxydation en constituent la base [92] ; [93].

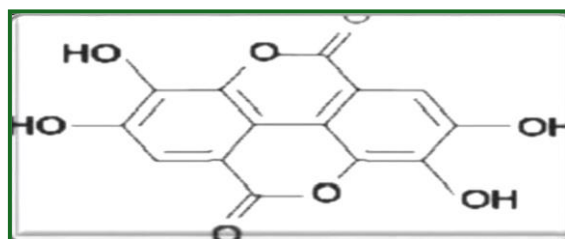


Fig. II.5. Structure chimique des tanins hydrolysables [94].

Les tanins condensés : Ce sont des dérivés non hétérosidiques qui ne possèdent pas tous des propriétés tannantes. Ils résultent de la polymérisation d'un nombre variable d'unités flavane (flavan-3-ols), le plus souvent de l'épicatéchine et de la catéchine. Le degré de polymérisation varie entre deux et plus de cinquante unités [93] ; [90].

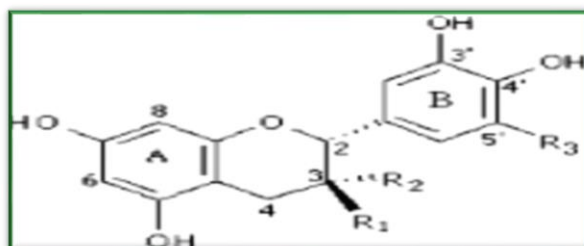


Fig. II.6. Structure chimique des tanins condensés [95].

e. Les anthocyanes

Les anthocyanes sont des pigments rouges qui deviennent bleus en milieu alcalin et qui sont largement répandus dans les fleurs et les fruits.

Les anthocyanes sont des dérivés du cation 2-phényl-1-benzopyrylium (flavylium), portant trois cycles aromatiques conjugués qui permettent l'absorption de la lumière visible.

Dans la nature, ces pigments existent sous forme d'hétérosides plutôt que sous forme d'aglycones [96].

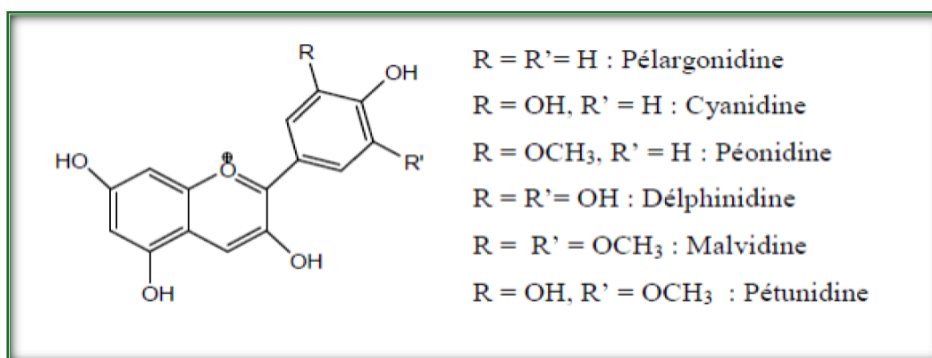


Fig. II.7. Différentes classes de l'anthocyane [96].

f. Les lignanes

Les lignanes font référence à des molécules qui résultent généralement de la liaison entre deux carbones de la chaîne latérale de deux acides hydroxy cinnamiques. Ils jouent un rôle dans les mécanismes de défense des plantes [97].

II.1.2.2. Les composés terpéniques

II.1.2.2.1. Généralités

Le terme "terpénoïde" est utilisé pour décrire tous les composés possédant une structure moléculaire construite à partir d'un monomère à 5 carbones appelé isoprène, de formule C₅H₈ [98], avec une ou plusieurs fonctions chimiques telles que les alcools, aldéhydes, cétones, acides, lactones, etc. Ils sont des hydrocarbures naturels, pouvant avoir une structure cyclique ou à chaîne ouverte ; leur formule brute est (C₅H_x)_n, où x varie en fonction du degré d'insaturation de la molécule et n peut prendre des valeurs de 1 à 8, sauf dans le cas des poly terpènes qui peuvent atteindre plus de 100 unités (comme le caoutchouc). Ces composés sont principalement d'origine végétale [99], bien qu'ils soient également synthétisés par les plantes, les organismes marins, les champignons, voire même les animaux [100].

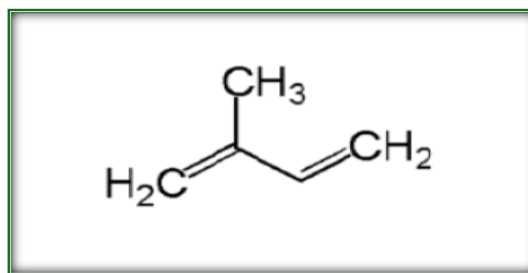


Fig. II.8. Structure chimique de base des terpènes (Isoprène)

II.1.2.2.2. Biosynthèse des terpènes

L'acide mévalonique est le précurseur universel de tous les terpènes. Il se forme à partir de la condensation de trois unités d'acétate après réduction par le NADPH. L'addition de l'unité d'isopentényl pyrophosphate (IPP), ainsi que de son isomère, forme le géranyl (C10), qui, à son tour, se condense avec une autre molécule d'IPP pour former le di phosphate de farnésyle (C15), à l'origine des sesquiterpènes [101].

II.1.2.2.3. Classification des composés terpéniques

Les terpènes affichent une remarquable diversité structurale selon le nombre d'entités isoprène ils sont divisés en hemiterpènes (C5), monoterpènes (C10), sesquiterpènes (C15), diterpènes (C20), triterpènes (C30), tetraterpènes (C40) et polyterpènes (C>500) [98].

Dans le cas des huiles essentielles, seuls seront retrouvés les terpènes les plus ~~vds~~ les mono terpènes et sesquiterpènes.

II.1.2.2.4. Les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des extraits végétaux constitués de mélanges de composés volatils et parfumés présents dans les végétaux [92]. Elles sont également connues sous le nom de substances organiques aromatiques liquides. Elles se trouvent naturellement dans différentes parties des arbres, des plantes et des épices. Ces huiles sont réagies à la chaleur, et elles ne contiennent pas de corps gras [102]. Elles sont extraites soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, soit par distillation sèche [103].

II.1.2.3. Les alcaloïdes

II.1.2.3.1. Généralités

Les alcaloïdes constituent un groupe diversifié de composés à faible poids moléculaire, contenant de l'azote et dérivés principalement d'acides aminés, présents dans environ 20% des espèces végétales [104]. Ils peuvent être présents dans tous les organes de la plante, rarement

trouvés à l'état libre, ils sont le plus souvent combinés à des acides organiques ou à des tanins [105].

Les alcaloïdes ont présenté pour le pharmacien un intérêt exceptionnel en raison de leurs propriétés toxiques ou médicamenteuses [106], ils ont des effets antispasmodique, mydriatique, anesthésique locale ou analgésique et narcotique [107].

II.1.2.3.2. Biosynthèse des alcaloïdes

La plupart des alcaloïdes proviennent d'acides aminés (tryptophane, lysine, phénylalanine, tyrosine). Ces acides aminés sont décarboxylés afin de créer des amines, qui sont ensuite intercalées avec d'autres squelettes carbonés [108]. Ils sont généralement classés en fonction du système cyclique qu'ils présentent tels que les systèmes indolizidine, quinolizidine, quinoléine, quinazoline et acridones [109].

II.2. Les activités biologiques étudiées

II.2.1. Activité antioxydant

II.2.1.1. Définition du stress oxydatif

Le stress oxydatif (le stress oxydant) se manifeste lorsque l'équilibre entre la production des espèces radicalaires et les capacités de défense antioxydante de l'organisme est perturbé ou bien déséquilibré [110].

Lorsque la production d'espèces réactives de l'oxygène dépasse un certain seuil et qu'il n'y a pas de mécanismes de défense adéquats, cela peut être nocif pour l'organisme. Ce phénomène est connu sous le nom de stress oxydatif. Il peut contribuer au développement de diverses pathologies telles que les cancers, les maladies cardiovasculaires et les maladies dégénératives, ainsi qu'à un vieillissement prématuré. L'une des réponses principales déclenchées par le stress oxydatif est la mort cellulaire programmée ou apoptose [111].

II.2.1.2. Origines du stress oxydatif

Le stress oxydatif peut découler de diverses sources, notamment un déficit nutritionnel en antioxydants, une surproduction endogène inflammatoire, une intoxication aux métaux lourds tels que le mercure, le cadmium et le plomb, des anomalies génétiques telles qu'un mauvais codage pour une protéine, ainsi que des expositions à des rayonnements UV, aux rayons X, et autres formes d'irradiation [112].

II.2.1.3. Les causes du stress oxydatif

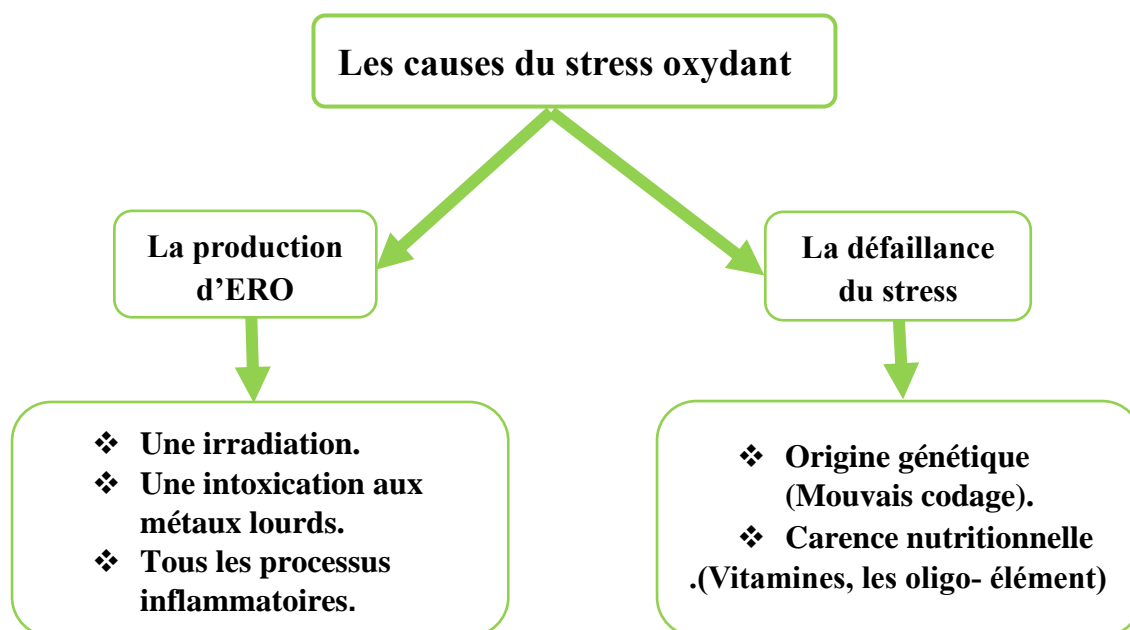


Fig. II.9. Les causes du stress oxydatif [113].

II.2.1.4. Les radicaux libres

II.2.1.4.1. Définition

Un radical libre est une espèce chimique « libre » contenant un ou plusieurs électrons non appariés dans son orbite atomique externe. Ces électrons célibataires lui confèrent une grande réactivité. Les radicaux libres peuvent exister de manière indépendante mais ont une durée de vie très courte, de l'ordre de quelques millisecondes voire quelques nanosecondes. Les électrons sont des particules chargées électriquement qui effectuent un mouvement de rotation sur eux-mêmes [114].

II.2.1.4.2. Source des radicaux libres

Les radicaux libres sont à l'origine de la génération d'un stress oxydatif et peuvent provenir de sources endogènes ou exogènes :

a. Sources endogènes

Les mécanismes internes qui produisent des espèces réactives de l'oxygène (ROS) sont souvent bénéfiques pour les cellules car ils jouent un rôle crucial dans de nombreux processus biologiques. Par exemple, dans des conditions physiologiques, l'auto-oxydation des aldoses

CHAPITRE II : LES METABOLITES SECONDAIRES ET LES ACTIVITES BIOLOGIQUES ETUDIEES

entraîne une réduction de l'oxygène moléculaire, ce qui génère des alpha-acétaldéhydes, du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et des radicaux intermédiaires. [115].

a. Sources exogènes

Il y a aussi des sources exogènes de ROS telles que les polluants photochimiques, le tabac, les drogues et les radiations ionisantes, qui pénètrent dans l'organisme par la respiration, l'alimentation ou les muqueuses. [116]. La surproduction de ROS peut également être déclenchée par des processus tels que l'ischémie-reperfusion, qui contribuent à une partie des rejets de greffes [117].

Tableau II.2. Les principales sources des radicaux libres [118].

Sources endogène	Sources exogènes
NADPH oxydase	Toxiques environnementaux
Chaines respiratoires mitochondriales	Radiations ionisantes
Peroxisomes	Radiations UV
Cytochromes P450	Champ électrique
Xanthine Oxydase	Xénobiotique pro-oxydants
Cyclo-oxygénases	Cytokines pro-inflammatoires
Lipo-oxygénases	Métaux lourds

II.2.1.4.3. Les rôles biologiques du radical libres

Certaines espèces réactives de l'oxygène (ERO) assument diverses fonctions physiologiques vitales, elles servent de bouclier de défense contre les agents pathogènes, tels que dans le processus de phagocytose des bactéries par les cellules polynucléaires, et sont supposées participer à la régulation des réponses de croissance cellulaire en tant que seconds messagers [119]. Elles sont également impliquées dans la régulation des gènes et contribuent au fonctionnement de diverses enzymes. Elles interviennent dans des processus tels que la vasodilatation capillaire, le fonctionnement neuronal, la fécondation de l'ovule et, enfin, l'élimination par apoptose des cellules tumorales, des processus naturels qui dépendent de la présence de radicaux libres [120].

II.2.1.4.4. Toxicité des radicaux libres

L'action des radicaux libres sur l'ADN, les protéines, les lipides et les glucides entraîne une dégradation directe des composants cellulaires. Les conséquences biologiques de cette activité toxique peuvent varier selon la quantité et le type de cellule exposée [120].

II.2.1.5. Les systèmes antioxydants

II.2.1.5.1. Définition d'un antioxydant

Un antioxydant est une molécule dotée de la capacité de capturer ou de piéger les radicaux libres produits spontanément et de manière continue dans l'organisme vivant [121].

II.2.1.5.2. Les types des systèmes antioxydants

a. Les systèmes antioxydants enzymatiques

Les principaux systèmes enzymatiques antioxydants chez les mammifères et les plantes, on retrouve la superoxyde dismutase, la catalase et le glutathion peroxydase. Ces enzymes sont essentielles pour protéger les cellules contre les dommages causés par les radicaux libres et le stress oxydatif, contribuant ainsi au maintien de la santé et de la fonction cellulaire [122].

Tableau II.3. Les principaux systèmes antioxydants enzymatiques [118].

Système antioxydant enzymatique	Le rôle majeur
La superoxyde dismutase (SOD)	Catalyser la dismutation des ions superoxydes en peroxyde d'hydrogène et en oxygène moléculaire
La catalase	Présente dans les peroxysomes et dans les érythrocytes, il est capable de transformer le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire
Le glutathion peroxydase (GPx)	Détoxifier le peroxyde d'hydrogène et d'autres hydroperoxydes d'origine lipidique en couplant la réduction de l'hydroperoxyde avec l'oxydation d'un substrat réducteur.

b. Les systèmes antioxydants non enzymatiques

Notre organisme possède des antioxydants non enzymatiques qui sont d'origine interne (Le glutathion, l'acide lipoïque, l'acide urique, la bilirubine, les mélanines et la mélatonine), et externe, comme la vitamine E, la vitamine C, les caroténoïdes, les flavonoïdes [123] ; [118]. [124].

Tableau II.4. Les principaux systèmes antioxydants non enzymatiques

**CHAPITRE II : LES METABOLITES SECONDAIRES ET LES ACTIVITES
BIOLOGIQUES ETUDIEES**

Système antioxydant enzymatique	Le rôle majeur
Le glutathion	Le glutathion qui est le thiol le plus abondant dans l'organisme, joue un rôle dans les mécanismes antioxydants en réagissant avec différents radicaux et en détoxifiant les peroxydes.
L'acide lipoïque	Un autre thiol important, possède des propriétés antioxydantes en capturant les radicaux, en se liant aux métaux et en régénérant d'autres antioxydants
L'acide urique, la bilirubine, les mélanines et la mélatonine	Les composés comme l'acide urique, la bilirubine, les mélanines et la mélatonine possèdent des propriétés antioxydantes contre certains types de radicaux. Ces thiols ont un rôle crucial dans la préservation de l'organisme contre les dommages oxydatifs
La vitamine E	La forme principale de vitamine E présente dans le sang est l' α -tocophérol, qui détient une activité biologique significative chez l'homme. Il est le principal antioxydant liposoluble présent dans toutes les membranes cellulaires. Son rôle principal est d'empêcher la peroxydation des lipides en capturant les radicaux peroxydes, formant ainsi un radical tocophéroxyle qui est ensuite réduit de nouveau en α -tocophérol grâce à l'acide ascorbique.
La vitamine C	La vitamine C (acide ascorbique) occupe une place centrale dans la lutte contre les Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO). Elle est régénérée par la Glutathion Peroxydase (GPx), qui utilise le glutathion (GSH) comme donneur d'électrons.
Les caroténoïdes	Les caroténoïdes agissent comme des agents de capture des radicaux peroxydes au sein des membranes biologiques, ce qui les rend capables d'inhiber les réactions en chaîne de peroxydation lipidique.
Les flavonoïdes	Les flavonoïdes sont des composés polyphénoliques présents en abondance dans les plantes. Leurs propriétés antioxydantes proviennent de leur capacité à chélater les métaux redox-actifs, ce qui empêche la formation d'Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO).

II.2.2. Activité antimicrobienne

II.2.2.1. Les microorganismes étudiés

II.2.2.1.1. Les souches bactériennes

a. *Escherichia coli* (*E. coli*)

L'espèce *Escherichia coli* est une bactérie présente naturellement dans la flore intestinale, où elle représente jusqu'à 80 %. Cependant, différentes souches d'*E. coli* existent, certaines étant inoffensives et nécessaires au bon équilibre du microbiote intestinal en prévenant la prolifération d'autres bactéries et en contribuant à la production de vitamine K. Néanmoins, certaines souches, bien que moins courantes, peuvent être plus nocives et provoquer diverses infections, notamment les infections urinaires et intestinales, de gravité variable. Cependant, toute personne est susceptible de contracter une infection à *E. coli*, car la contamination se fait par voie oro-fécale. Il est possible de contracter une intoxication alimentaire en consommant de la viande contaminée, des fruits et légumes lavés avec de l'eau contaminée, ainsi que des produits laitiers non pasteurisés ou des jus de fruits crus [125].

b. *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae est un agent pathogène opportuniste à Gram négatif qui est responsable d'une gamme d'infections incluant 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 préoccupations 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* [126].

c. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa est la plus fréquemment rencontrée en pathologie infectieuse parmi les espèces du genre *Pseudomonas*. Elle est ubiquitaire, tout comme les autres espèces de ce genre. Ces bactéries ont des besoins nutritionnels minimes et peuvent survivre dans divers environnements tels que l'eau, les surfaces, l'air et les aliments, en particulier dans des milieux humides. *P. aeruginosa* est classé parmi les pathogènes opportunistes, pouvant être à l'origine d'infections d'origine endogène ou exogène.

Dans les infections communautaires, elle est principalement associée à des broncho-pneumopathies chroniques chez les patients atteints de mucoviscidose et aux affections

CHAPITRE II : LES METABOLITES SECONDAIRES ET LES ACTIVITES BIOLOGIQUES ETUDIEES

respiratoires liées à la dilatation des bronches, ainsi qu'à des otites externes, des endophtalmies post-traumatiques et des infections cutanées dans les ulcères [127].

c. *Proteus mirabilis*

Proteus mirabilis est une bactérie de type bacille à Gram négatif appartenant aux entérobactéries et au genre *Proteus*. Elle est naturellement présente dans le tube digestif des humains et des animaux, ainsi que dans l'environnement. *Proteus mirabilis* est connue pour être l'une des principales causes d'infections urinaires, mais peut également être responsable d'infections cutanées. *Proteus mirabilis* est capable de produire de l'uréase, une enzyme qui hydrolyse l'urée, alcalinisant ainsi l'urine et favorisant la formation de calculs de struvite. En laboratoire, *Proteus mirabilis* dégage une forte odeur qui rappelle celle du poisson pourri [128].

d. *Staphylococcus aureus*

L'espèce *Staphylococcus aureus*, plus couramment appelée staphylocoque doré, est une bactérie pathogène majeure pour l'homme. Elle est responsable d'infections suppuratives à la fois superficielles et profondes, ainsi que de syndromes associés à l'action de toxines. On la retrouve régulièrement sur la peau et les muqueuses des humains et des animaux à sang chaud, ce qui la place en première ligne pour provoquer des toxémies telles que le syndrome de choc toxique, des intoxications alimentaires et des infections opportunistes telles que les furoncles simples, l'endocardite et la septicémie. Ce large éventail d'infections est lié aux facteurs de virulence de cette bactérie [129].

e. *Bacillus cereus*

Bacillus cereus est une bactérie ubiquitaire connue pour causer des toxi-infections alimentaires ainsi que des infections opportunistes, locales ou systémiques. Les toxi-infections alimentaires présentent deux principaux tableaux cliniques selon le type de toxine produite : un syndrome diarrhéique et un syndrome émétique. Les infections locales et systémiques surviennent chez des individus prédisposés, tels que ceux avec des plaies opératoires, des blessures ou des affections cutanées pour les infections locales, ainsi que les personnes immunodéprimées et/ou cathétérisées pour les infections systémiques [130].

II.2.2.1.1. Les souches fondiques

a. *Fusarium oxysporum f. s. lycopersici*

Fusarium oxysporum c'est un champignon répandu dans le sol cause la maladie de fusariose, c'est une maladie dévastatrice pour le système racinaire de tomate. Elle entraîne des

perdes importantes, en particulier chez les variétés de tomates sensibles et dans les régions où les températures du sol et de l'air restent élevées pendant une grande partie de la saison, comme c'est le cas dans les climats chauds [131].

a. *Botrytis sp.*

Les espèces de *Botrytis* sont des parasites polyphages qui peuvent se comporter soit comme saprophytes, en se nourrissant de matières organiques en décomposition, soit comme parasites ou semi-parasites. Elles ont la capacité d'alterner entre ces différents comportements et produisent des toxines ainsi que des enzymes capables de dégrader les parois cellulaires des plantes [132].

II.2.2.2. Les antimicrobiens

a. Les antibiotiques

Les antibiotiques, dans leur forme la plus stricte, sont des substances fabriquées par des micro-organismes, mais on regroupe aussi souvent les dérivés semi-synthétiques et les produits entièrement synthétiques.

Les agents antibiotiques ciblent des organismes qui participent aux processus physiologiques ou métaboliques de l'organisme. Les antibiotiques peuvent entraver la synthèse des acides nucléiques (ADN et ARN), mais leurs principales cibles sont la paroi cellulaire et les ribosomes bactériens [133].

Les antibiotiques sont classés en fonction de leur spectre d'action, de leur cible ou de leur famille chimique.

Les principales familles chimiques des antibiotiques sont :

- ✓ **Bêtalactamines** : pénicilline et céphalosporines.
- ✓ **Aminosides** : streptomycine, gentamycine ; Chloramphénicol et thiamphénicol.
- ✓ **Cyclines** : tétracyclines, doxycycline.
- ✓ **Macrolides et apparentés** : érythromycine, oléandomycine [134].

b. Phytothérapie antimicrobienne

Au cours des dernières années, la recherche de nouveaux antimicrobiens a suscité un vif intérêt en raison d'une augmentation inquiétante du nombre d'infections par les microorganismes résistants aux antibiotiques. La recherche systématique de substances

biologiquement actives implique le criblage des micro-organismes ou des plantes, qui sont des sources de nombreux agents thérapeutiques bénéfiques.

Plus précisément, la capacité antimicrobienne des huiles et des extraits de plantes a été utilisée dans de nombreuses applications, telles que la pharmacie, la médecine, la thérapie naturelle et la préservation des aliments [135].

II.2.3. Activité photo protectrice

La protection contre la lumière englobe tous les moyens naturels et/ou artificiels. Ils peuvent faire face aux conséquences néfastes du soleil. Elle est basée sur l'utilisation de vêtements et les produits de protection solaire (PPS) utilisés [136].

II.2.3.1. Effet des radiations UV sur la peau

Les rayons UV entraînent une multitude de dégâts sur la peau. Les conséquences des radiations solaires sur la peau varient en fonction de divers éléments :

- ✓ Le niveau d'absorption d'énergie
- ✓ La profondeur de la pénétration, qui est liée à la longueur d'onde.
- ✓ Les rayons infrarouges passent au-delà de l'hypoderme, les rayons UV atteignent le milieu du derme et les rayons UVB atteignent la jonction dermo-épidermique [137].

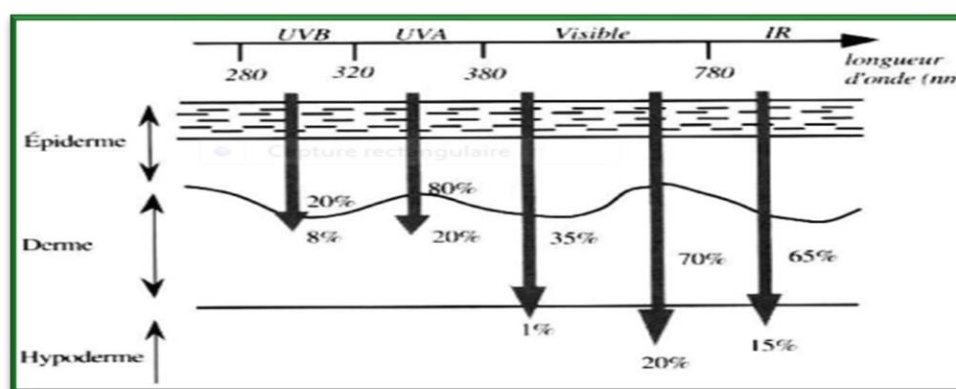


Figure II.10. Pénétration des rayonnements solaires en fonction de la longueur d'onde [137].

II.2.3.2. Détermination de l'efficacité des produits solaires

II.2.3.2.1. Notion SPF

Le Sun Protection Factor (SPF), aussi appelé Facteur de Protection Solaire (FPS) ou Indice de Protection (IP), a une relation avec l'efficacité de protection contre les UVB d'un produit. Il y a aussi depuis quelques années des moyens d'évaluer l'indice de protection contre les UVA.

Le SPF est une évaluation de l'efficacité d'une protection contre les rayons du soleil. Ce facteur peut être évalué par la surveillance de la sensibilité individuelle aux érythèmes solaires à l'aide de radiations UV, avec ou sans produit solaire utilisé. [138].

II.2.3.2.2. Catégories de photo protecteurs utilisées dans les écrans solaires

a. Filtre chimique (organique)

Les filtres organiques sont des composants actifs qui ont la capacité d'absorber les rayons UV. Les rayons UV entraînent l'activation des électrons de la molécule, d'un état fondamental à un état excité. Quand on revient à un état stable, on émet de l'énergie sous forme de chaleur ou de radiations fluorescentes. Afin d'être efficace, il est essentiel que le filtre soit photochimiquement stable, qu'il se dissout ou se disperse facilement dans l'excipient et qu'il reste à la surface de la peau par contact avec l'eau. Finalement, il est important que les filtres ne soient pas toxiques, ni provoquent d'irritation ou d'allergie de contact [139].

L'oxybenzone (C₁₄H₁₂O₃) est un composé chimique souvent utilisé dans les filtres chimiques, il offre une protection à la fois contre les rayons UVA et UVB [140].

b. Filtre minéral (inorganique, physique)

Les filtres minéraux, aussi connu sous le nom de filtre physique ou inorganique, ce type de filtre solaire agit différemment des filtres chimiques. Il est composé d'un ensemble de nanoparticules de minéraux inertes et opaques qui dispersent la lumière et renvoient les UV comme une barrière physique. Les filtres minéraux sont efficaces dès leur application et moins susceptibles de provoquer des allergies. Les principaux composants incluent l'oxyde de zinc (ZnO), le dioxyde de titane (TiO₂), le silicate de magnésium ou talc (Mg₃H₂(SiO₃)₄), le silicate d'aluminium (kaolin) et l'oxyde de mica (silicate d'aluminium et de potassium). Ces pigments blancs agissent comme des miroirs, réfléchissant et diffusant les UVA et UVB. Le complexe mica-titane est largement utilisé en raison de sa transparence et de son pouvoir réfléchissant, qui bloque également les rayons infrarouges [141].

II.2.4. Activité anti Alzheimer

II.2.4.1. Définition de la maladie d'Alzheimer

La maladie d'Alzheimer est une maladie neurodégénérative qui entraîne une diminution progressive des capacités cognitives, en particulier de la mémoire, ainsi que des problèmes de comportement. Le psychiatre et anatomopathologiste allemand Aloïs Alzheimer a décrit la maladie pour la première fois en 1906 dans une publication qui décrit les modifications anatomiques du cerveau d'une patiente âgée de 51 ans, Auguste D. Depuis lors, les études n'ont cessé de progresser et permettent de voir aujourd'hui la maladie d'Alzheimer comme la principale cause de démence chez les personnes âgées [142].

II.2.4.2. Traitement de la maladie d'Alzheimer

a. Les anticholinestérasiques :

Les anticholinestérasiques, (inhibiteurs de l'acétylcholinestérase), sont un des principaux types de médicaments utilisés pour traiter la maladie d'Alzheimer. Leur principal objectif est de ralentir la progression des symptômes en améliorant la communication entre les cellules nerveuses du cerveau. [143].

:Principaux anticholinestérasiques utilisés

- **Donepezil (Aricept) :** Utilisé pour traiter les stades légers, modérés et sévères de la maladie d'Alzheimer.
- **Rivastigmine (Exelon) :** Utilisé pour les stades légers à modérés de la maladie d'Alzheimer, ainsi que pour la démence associée à la maladie de Parkinson.
- **Galantamine (Reminyl) :** utilisé pour les stades légers à modérés de la maladie d'Alzheimer

Les anticholinestérasiques ne sont pas une cure pour la maladie d'Alzheimer, mais ils peuvent apporter des améliorations modestes et temporaires dans les symptômes cognitifs et comportementaux. Leur efficacité varie d'un patient à l'autre, et certains patients peuvent ne pas ressentir d'amélioration significative. Toutefois, ces médicaments peuvent permettre à certains patients de maintenir leurs fonctions cognitives et leurs activités quotidiennes pendant une période plus longue

b. Les antiglutamates

Les antiglutamates, (antagonistes des récepteurs NMDA (N-méthyl-D-aspartate), sont utilisés dans le traitement de la maladie d'Alzheimer pour moduler l'activité du glutamate, un neurotransmetteur clé dans le cerveau [144].

:Principal antiglutamate utilisé

- **Mémantine (Namenda)** : Utilisée pour traiter les formes modérées à sévères de la maladie d'Alzheimer.

c. Les phytomolécules

Le traitement de la maladie d'Alzheimer par les phytomolécules, ou composés d'origine végétale, est une approche de plus en plus explorée. Ces composés, issus de plantes médicinales, présentent des propriétés neuroprotectrices, antioxydantes et anti-inflammatoires, qui pourraient être bénéfiques dans la gestion de la maladie d'Alzheimer [145].

:Principles phytomolécules étudiées

- **Curcumine** : La curcumine possède des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires. Elle peut également inhiber l'agrégation des protéines bêta-amyloïdes, une caractéristique pathologique de la maladie d'Alzheimer.
- **Ginkgo biloba** : Les extraits de Ginkgo biloba (en particulier l'extrait EGb761) améliorent la circulation sanguine cérébrale, possèdent des propriétés antioxydantes, et peuvent moduler les neurotransmetteurs. Certains essais cliniques ont montré que le Ginkgo biloba peut avoir des effets bénéfiques sur la mémoire et les fonctions cognitives chez les patients atteints de démence légère à modérée.
- **Galantamine** : La galantamine est un alcaloïde qui agit comme un inhibiteur de l'acétylcholinestérase et modulateur allostérique positif des récepteurs nicotiques. Elle améliore la transmission cholinergique dans le cerveau. Utilisée en clinique pour traiter les symptômes de la maladie d'Alzheimer, la galantamine améliore les fonctions cognitives et les capacités de la vie quotidienne.
- **Resvératrol** : Des études précliniques indiquent que le resvératrol peut réduire les dépôts amyloïdes et l'inflammation dans le cerveau. Les essais cliniques sont en cours pour évaluer son efficacité chez les patients atteints d'Alzheimer.

CHAPITRE II : LES METABOLITES SECONDAIRES ET LES ACTIVITES BIOLOGIQUES ETUDIEES

- **Huile de noix de coco :** Les triglycérides à chaîne moyenne (MCT) présents dans l'huile de noix de coco sont convertis en cétones, une alternative aux glucoses comme source d'énergie pour le cerveau. Cela pourrait être bénéfique pour les cellules nerveuses endommagées par la maladie d'Alzheimer.

CHAPITRE III :
MATEREL ET METHODES

III.1. Rappels des objectifs :

Au cours de notre stage qui a duré un mois au sein de laboratoire de bactériologie, de l'hôpital Khaldi Abdelaziz et quinze jours au sein de laboratoire de mycologie et laboratoire de biochimie du centre de recherche en biotechnologie de Constantine (CRBt). 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 :

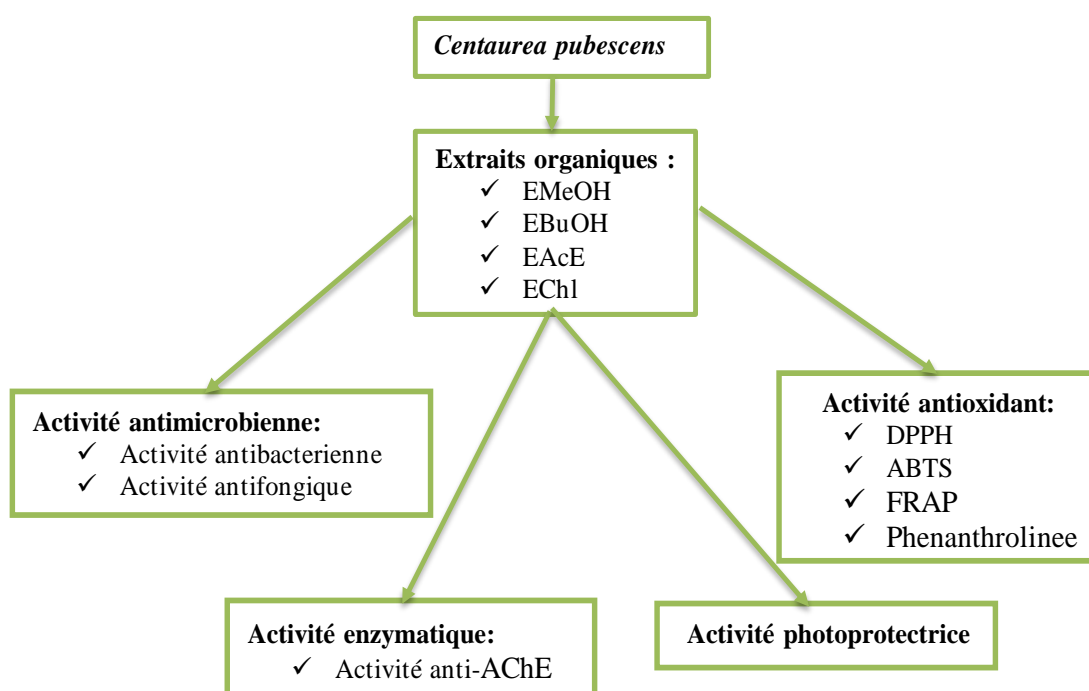


Fig. III.1. Plan de la partie expérimentale.

III .2. Matériel et Méthodes

III .2.1. Matériel

III .2.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal choisi dans le présent travail est représenté par la plante *Centaurea pubescens*. L'identification et la récolte de la partie aérienne (fleurs, feuilles et tiges) de la plante ont été réalisées au début du mois de juin, 2023 dans la région de Bir Rogaa, dans la wilaya d'Oum El Bouaghi par le professeur **Rebbas Khalef**, membre du laboratoire d'Agro-Biotechnologie et de nutrition en zones arides, université Ibn Khaldoun, Tiaret, Algérie. La plante fraîchement récoltée a été débarrassée des impuretés et séchée pendant plusieurs jours à

l'ombre dans un endroit sec et aéré puis broyées en poudre fine et conservée jusqu'à l'utilisation.

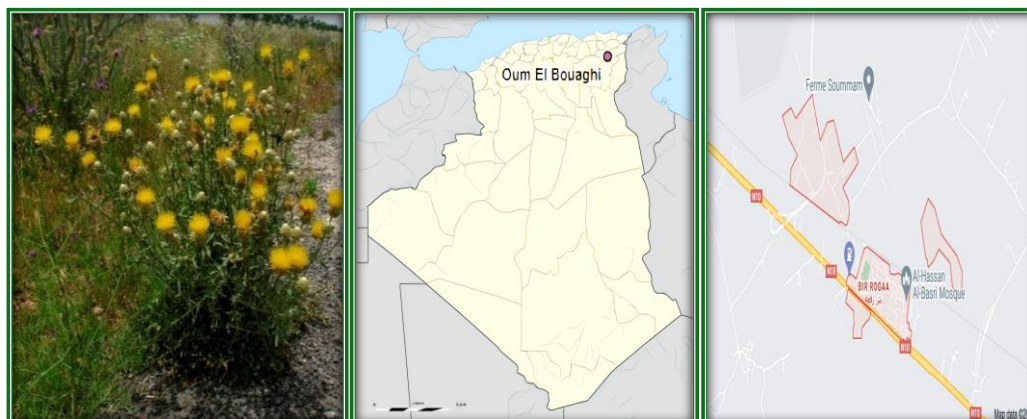


Fig.III.2. Localisation de la région de récolte.

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

III.2.1.2.1. Les souches microbiennes

L'activité antimicrobienne des différents extraits bruts de la partie aérienne de la plante *Centaurea pubescens* a été évaluée sur de onze souches microbiennes dont neuf bactériennes et deux fongiques. Ces souches ont été choisies pour leur pouvoir pathogène, leur résistance naturelle au différents types d'agents antimicrobiens, et pour leur fréquence élevée à contaminer les aliments. Les souches bactériennes appartenant à l'American Type Culture Collection (ATCC) ont été fournis par l'Institut Pasteur d'Alger, les souches bactériennes d'isolement cliniques proviennent du laboratoire de bactériologie de l'hôpital Khaldi Abdelaziz, Tébessa, par contre les souches fongiques sont fournies par laboratoire de mycologie au centre de recherche en biotechnologie, Constantine.

Tableau III.1. Les souches microbiennes testées

Souches testée	Type de souche	ATCC/Clinique
<i>Escherichia coli</i>	Bactérie à Gram négatif	ATCC 25922
<i>Escherichia coli</i>	Bactérie à Gram négatif	Clinique
<i>Salmonella enterica</i>	Bactérie à Gram négatif	ATCC 13076
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Bactérie à Gram négatif	Clinique
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Bactérie à Gram négatif	Clinique
<i>Staphylococcus aureus</i>	Bactérie à Gram positif	ATCC 25923

<i>Staphylococcus aureus</i>	Bactérie à Gram positif	Clinique
<i>Proteus mirabilis</i>	Bactérie à Gram positif	Clinique
<i>Bacillus cereus</i>	Bactérie à Gram positif	ATCC 10876
<i>Fusarium oxysporum</i>	Moisissure	Clinique
<i>Botrytis. Sp</i>	Moisissure	Clinique

III .2.1.2.2.Les milieux de culture

Les milieux de culture ont été choisis selon les souches microbiennes sélectionnés :

- ✓ Le milieu Chromagar a été utilisé pour la réactivation des souches bactériennes
- ✓ Le milieu MH (Muller Hinton) a été utilisé pour le test antibactérien.
- ✓ L'eau distillée stérile a été utilisé pour préparer l'inoculum bactérien
- ✓ Le milieu PDA (Potato Dextrose Agar) a été utilisé pour préparer pour le test antifongique.
- ✓ Le DMSO pour préparer les solutions de différents extraits végétaux.

III.2.1.3. Produits et Matériel des activités antioxydant, anti-Alzheimer et photoprotectrice

Les produits chimiques utilisés dans les tests antioxydant, anti-acétylcholinestérase, et photo protectrice proviennent du laboratoire Sigma Aldrich et Fluka. Le spectrophotomètre utilisé est un lecteur de microplaques à 96 puits d'une marque Spectra Max 340PC384.

III.2.2. Méthodes

III.2.2.1. Préparation des extraits végétaux par macération

La macération est la méthode d'extraction solide/liquide la plus simple. Elle consiste a mise en contact du matériel végétal avec le solvant, à température ambiante et à l'obscurité pour une durée déterminée. Cinquante gramme du matériel végétal broyé en poudre fine est soumis à macérer à une température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 3 jours dans quatre solvants de polarité différente (Méthanol, Butanol, Acétate d'éthyle, Chloroforme). Le solvant doit être en quantité suffisante pour maintenir la matrice immergée pendant toute la durée de l'extraction. Après la macération, les extraits sont filtrés par un papier filtre, les filtrats obtenus sont ensuite évaporés sous pression dans un évaporateur rotatif, à une température comprise entre 35 et 60°C. Les extraits secs obtenus ont été conservés à 4°C jusqu'à leur utilisation.

III.2.2.2. Calcul du rendement d'extraction

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.

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

Dont : **PE** : poids d'extrait obtenu, et **PP** : poids de la poudre végétale.

III.2.2.3. Evaluation *in vitro* de l'activité antimicrobienne

Il est essentiel de travailler dans des conditions d'asepsie rigoureuses pour évaluer l'activité antimicrobienne, afin d'éviter toute contamination. De plus, il est nécessaire de procéder à la stérilisation du matériel, des solutions et des milieux de culture par autoclavage.

III.2.2.3.1. Activité antibactérienne

La méthode de diffusion en milieu gélosé (ou méthode des disques) a été utilisée pour étudier l'inhibition de la croissance bactérienne *in vitro*, comme décrite par [146] avec quelques modifications.

a. Préparation des suspensions bactériennes.

Après la stérilisation de zone de travail avec l'eau de javel, on a cultivé les germes bactériens à tester dans des boîtes de pétri contenant le chromagar durant une incubation de 18 heures à une température de 37 °C.

A l'aide d'une pipette pasteur, quelques colonies bien isolées et identiques de chaque souche bactérienne à tester sont alors raclées, puis déchargées dans un écouvillon contenant 9 ml d'eau distillé stérile, puis homogénéisées à l'aide d'un vortex afin d'obtenir des suspensions bactériennes d'une densité optique de 0,5 Mc Ferland.



Fig. III .3. Préparation de l'inoculum bactérien.

b. Ensemencement

L'ensemencement des bactéries a été effectué par la technique d'écouvillonnage dans un milieu stérile en présence de bec benzène.

Un écouvillon stérile doit être trempé dans la suspension bactérienne.

L'essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube.

Établir des stries serrées sur toute la surface gélosée en frotter l'écouvillon de haut en bas.

Répéter l'opération trois fois en tournant la boîte de Pétrie de 60° à chaque fois



Fig. III.4 Ensemencement de bactéries.

a. Dépôts des disques et l'injection des extraits

À l'aide d'une pince stérilisée au bec bunsen les disques d'antibiotiques vierges de 6 mm de diamètre sont placés sur la surface de la gélose ensemencée

On a ajouté 20µl d'extraits dilués dans DMSO (16 mg/ml) sur les disques à l'aide d'une micro pipette

Chaque quatre disques ont été déposés dans la même boîte de chaque bactérie, on a mis quatre extraits différents (EMeOH, EBUOH, EAcd, EChL) dans la boîte (cette étape a été refaite trois fois pour la confirmation).

Des disques imprégnés de DMSO ont été utilisés comme Témoin négatif

Des disques de la gentamicine « antibiotique de référence » ont été utilisée comme témoin positifs.



Fig. III.5. Dépôts des disques et l'injection des extraits

a. Incubation et lecture

Une fois que les extraits ont été placés, les boîtes sont placées dans une étuve à une température de 37°C pendant une période de 18 à 24 heures.

La lecture des antibiogrammes a été faite à l'aide d'une règle.

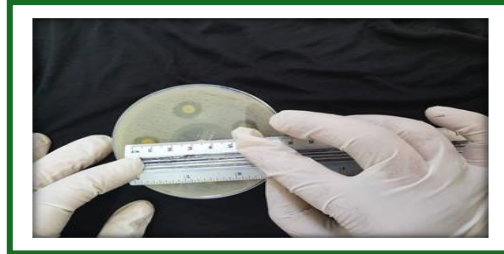


Fig. III.6. Lecture de l'activité antibactérienne

III.2.2.3.2. Activité antifongique

L'activité antifongique de différents extraits de notre plante a été évaluée *in vitro* vis-à-vis deux souches fongiques phytopathogène (*Fusarium oxysporum* et *Botrytis* sp.). La méthode utilisée est décrite par] 147 [avec certaines modifications.

a. Préparation du milieu de culture PDA (Potato Dextrose Agar)

280 g de pomme de terre lavé, épluché et découpé en petites tranches sont mélangés avec 1400 ml d'eau distillé.

Bouillir le mélange à 100° C pendant 20 minutes.

Recueillir l'eau de la pomme de terre.

27 g de dextrose sont ajoutés à l'eau récupéré avec une agitation de 10 min.

21 g d'agar sont ajoutés au mélange en gardant l'agitation pour éviter la solidification du milieu.

Mettre le mélange dans des Erlen Meyer.

Mettre ensuite les Erlen Meyer dans l'autoclave pour stériliser le milieu de culture PDA à 121°C pendant 2 heures et 30 minutes (**Fig.III.7**).

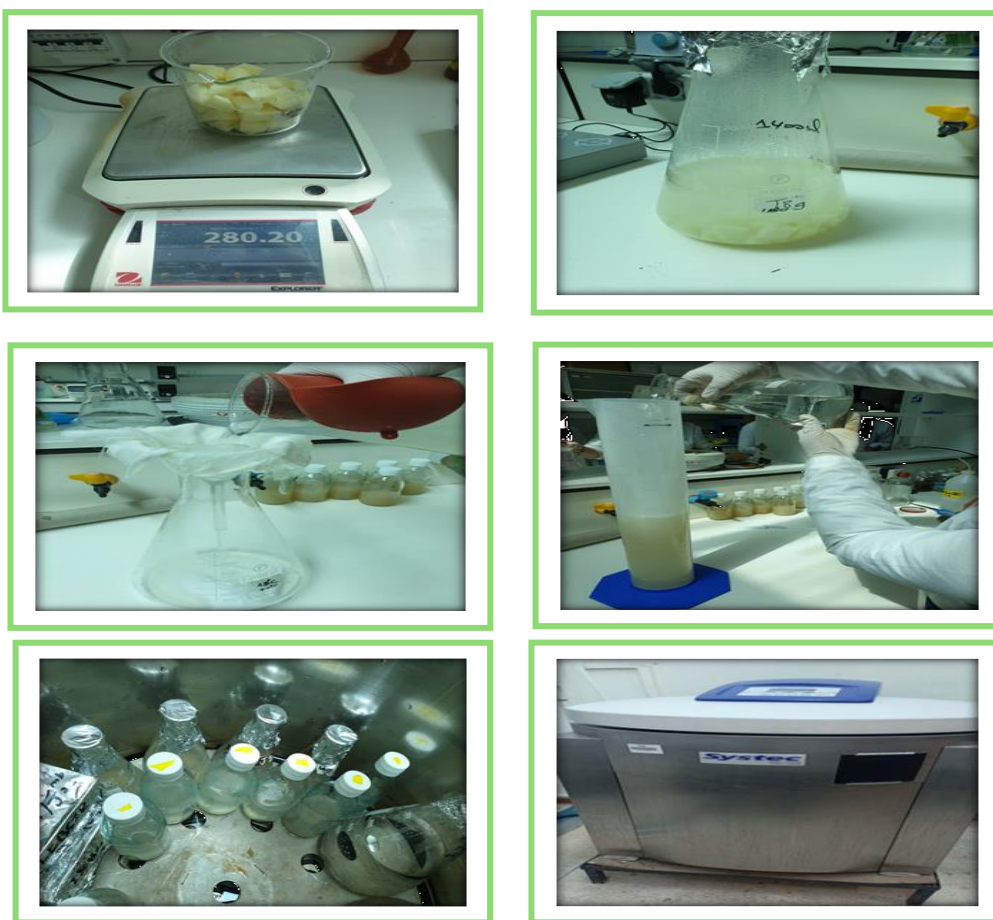


Fig. III.7. Préparation du milieu de culture PDA.

b. La mise en œuvre de l'activité antifongique

Un disque de 6 mm de diamètre pris d'une culture de 7 jours de champignon est déposé aseptiquement au centre de la boîte de pétri contenant la gélose PDA. Ensuite un volume de 35 microlitre d'extrait dilué dans le DMSO est déposé sur le disque fongique. Après une incubation de boîtes dans une étuve pendant 48 heures à une température de 35C°, la croissance mycélienne du champignon est mesurée à l'échelle millimétrique à l'aide d'une règle. L'expérience est répétée trois fois pour chaque extrait et chaque souche fongique testée. Le témoin est préparé de la même manière de l'expérience en remplaçant l'extrait par le solvant





DMSO.

Fig. III.8. La mise en œuvre de l'activité antifongique.

L'activité antifongique est exprimée en pourcentage et calculée selon la formule :

$$I (\%) = (D \text{ Témoin} - D \text{ Test}) / (D \text{ Témoin}) \times 100$$

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

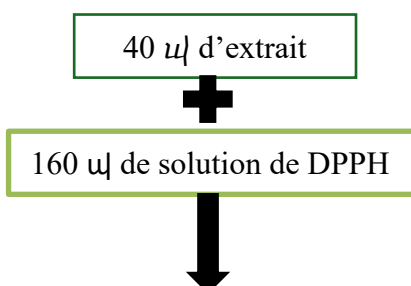
III.2.2.4. Evaluation *in vitro* de l'activité antioxydante

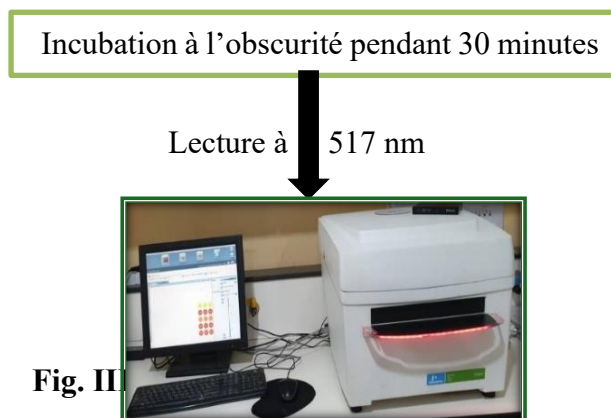
Quatre méthodes ont été utilisées pour évaluer *in vitro* de l'activité antioxydante de différents extraits organiques de notre plante : Test de piégeage du radical libre DPPH, test de piégeage du radical cation ABTS, test pouvoir de réduction du Fer et test de Phenanthroline.

III.2.2.4.1. Test de piégeage du radical libre DPPH

Le DPPH est un radical stable libre à base d'azote de couleur violette, il se transforme en jaune après réduction par transfert d'hydrogène ou d'électron. Le test DPPH est une méthode basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazil (DPPH), cette molécule présente une absorbance à 517 nm sous forme radicalaire, mais elle disparaît après l'absorption d'un radical électronique ou hydrogène d'un composé antioxydant pour devenir une molécule diamagnétique stable [148].

L'activité antioxydant de nos extraits a été déterminée par spectrophotométrie par le dosage du DPPH selon le protocole de [149], en y apportant quelques modifications (**Fig.III.9**) Le Trolox a été utilisé comme standard antioxydant et les résultats ont été exprimés en milligramme d'équivalent Trolox par gramme d'extrait sec (mg ET/g).





III.2.2.4.2. Test de piégeage du radical cation ABTS

Le test repose sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique (ABTS•+) de couleur bleu-vert en le transformant en ABTS+ incolore à 645, 734 et 815 nm, en piégeant un proton par l'antioxydant [150,151]. Il est nécessaire de régénérer ce radical en arrachant un électron à un atome d'azote de l'ABTS incolore en utilisant divers réactifs tels que le persulfate de potassium (K₂S₂O₈), le dioxyde de manganèse ou le peroxyde d'hydrogène [151].

L'activité antioxydant de nos extraits a été déterminée par spectrophotométrie par le dosage du cation ABTS selon le protocole de [152], en y apportant quelques modifications (Fig. III.10). Le Trolox a été utilisé comme standard antioxydant et les résultats ont été calculées en milligramme d'équivalent Trolox par gramme d'extrait sec (mg ET/g).

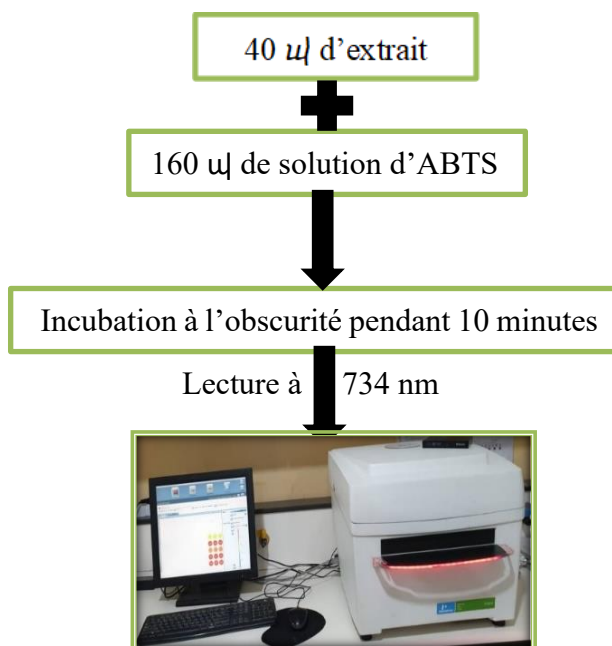


Fig. III.10. Protocole du test d'ABTS

III.2.2.4.3. Test du pouvoir réducteur (FRAP)

Le test repose sur le changement de couleur lors de la diminution du fer après un certain temps. Le transfert d'électrons se produit lorsque l'ion ferrique (Fe^{3+}) est échangé avec l'ion ferreux (Fe^{2+}). Lorsque l'absorbance augmente à 593 nm, les résultats sont obtenus et peuvent être exprimés en équivalents. Micromolaires de Fe^{2+} ou en comparaison avec un étalon antioxydant. La mesure de la capacité de réduction ne correspond pas forcément à l'activité antioxydant. Plutôt que cela, il offre une quantité « totale » d'antioxydants très avantageuse, sans mesurer ni rassembler la quantité de tous les antioxydants impliqués. Initialement utilisée pour le plasma, la méthode a été élargie à d'autres fluides biologiques tels que les aliments, les extraits de plantes, les jus, etc.... [153].

L'activité antioxydant de nos extraits a été déterminée par spectrophotométrie par le test du pouvoir réducteur selon le protocole de [154], en y apportant quelques modifications (Fig. III.11). L'activité antioxydant a été exprimée en milligramme équivalent Trolox par gramme d'extrait sec (mg ET/g).

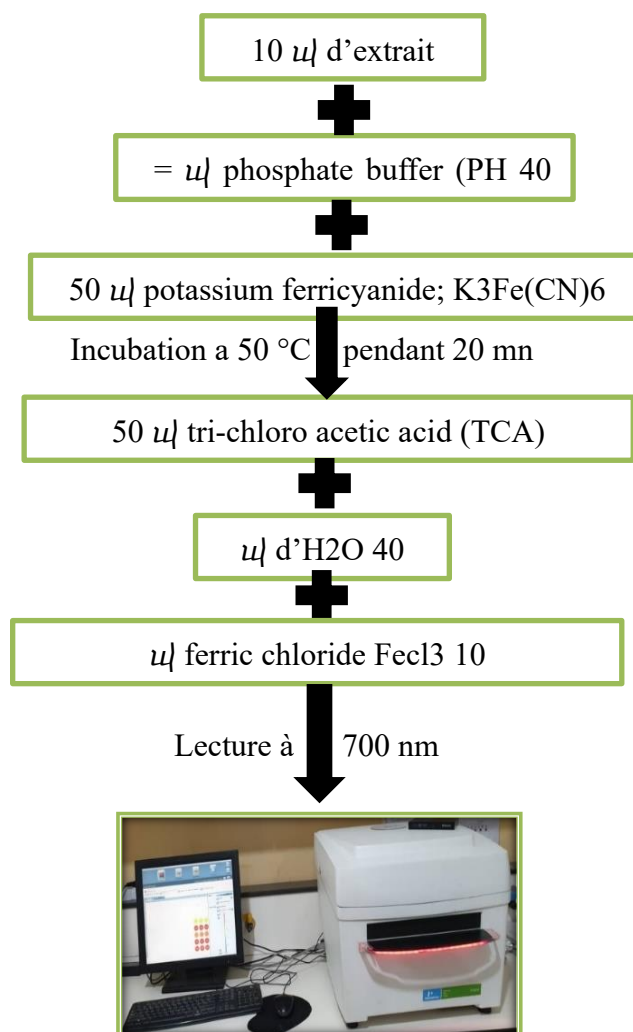


Fig. III.11. Protocole du test du pouvoir réducteur

III.2.2.4.4. Test de Phenanthroline

Le test repose sur la diminution de Fe^{+3} par un agent antioxydant afin de produire l'ion Fe^{+2} , qui réagit ensuite avec la phénanthroline pour créer un complexe de couleur rouge orangé qui absorbe à 510 nm [154].

L'activité antioxydant de nos extraits a été déterminée par spectrophotométrie par le test de phénanthroline selon le protocole [155], en y apportant quelques modifications (Fig.III.12). L'activité antioxydant a été exprimée en milligramme équivalent Trolox par gramme d'extrait sec (mg ET/g).

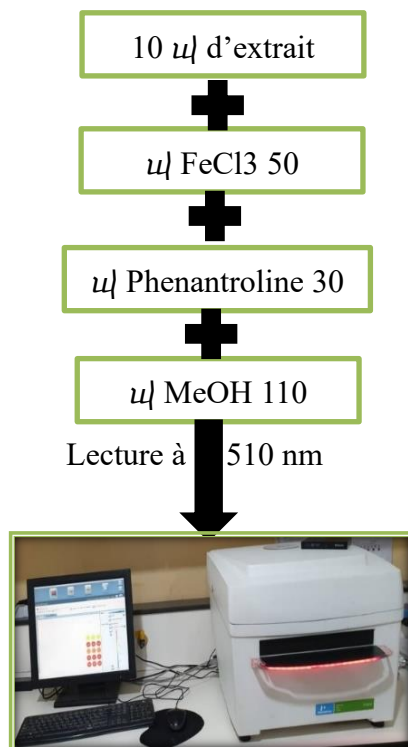
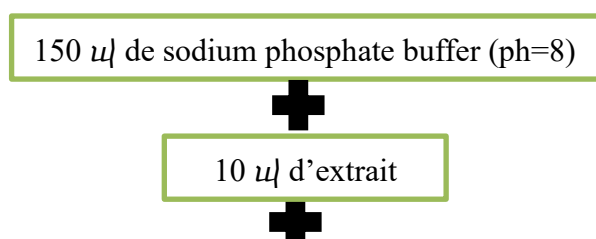


Fig. III.12. Protocole du test de phénanthroline

III.2.2.5. Évaluation *in vitro* de l'activité enzymatique

L'activité enzymatique de nos extraits a été déterminée vis-à-vis l'enzyme acétylcholinestérase selon le protocole [156], en y apportant quelques modifications.

Ce protocole repose sur la dégradation du substrat acétylthilcholine par l'enzyme acétylcholinestérase, ce qui libère de l'acétate et de la thiocholine, qui réagit avec le 5,5'-dithiobisnitrobenzoate (DTNB) pour former un complexe jaune avec une absorbance à 412 nm. (Fig.III.13).



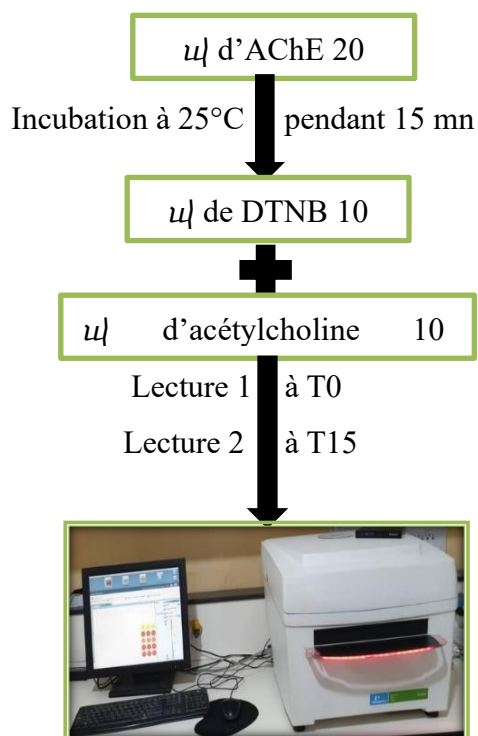


Fig. III.13. Protocole de l'activité anti-acétylcholinestérase

III.2.2.6. Evaluation *in vitro* de l'activité photoprotectrice (SPF)

L'activité photoprotectrice de nos extraits a été déterminée par le protocole de [12] (fig.III.14)

Le Facteur de Protection Solaire (Sun Protection Factor SPF) est une mesure de l'efficacité des photos protectrices vis-à-vis des effets à court terme des rayonnements UV.

Cet indice indique le taux de protection contre les rayonnements UVB conférée par l'extrait. Celui-ci est mesuré par l'équation mathématique suivante :

$$SPF = CF \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \times I(\lambda) \times Abs(\lambda)$$

EE : érythème effect spectrum

I: solar intensity spectrum

Abs: absorbance of sunscreen product

CF : correction factor (= 10)

Les valeurs de $(\lambda) \times I(\lambda)$ sont des constantes déterminées par [157] (Tableau. III.2.)

Tableau. III.2. Fonction normale de produit utilisée dans le calcul de la SPF

Longueur d'onde λ (nm)	EE $(\lambda) I(\lambda)$ (normes)
290	0,00150
295	0,0817
300	0,2847
305	0,3278
410	0,1864
415	0,0837
420	0,0180
Total	1

Le pourcentage de rayons UVB bloqués par une crème solaire est directement lié à son Facteur de Protection Solaire (FPS ou SPF). Le tableau.III.3: présente comment cela fonctionne .

Tableau.III.3. Pourcentage des rayons UVB bloqués [158].

Facteur de protection solaire (FPS)	Pourcentage des UVB
2	%50
15	%93
20	%95
30	%97
50	%98

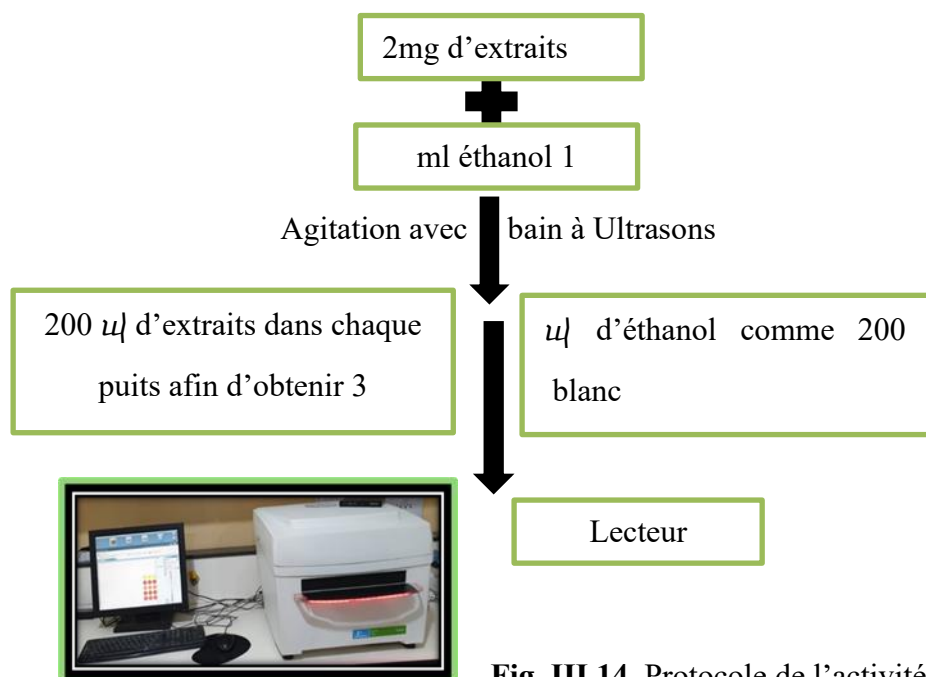


Fig. III.14. Protocole de l'activité SPF.

CHAPITRE IV :
RESULTATS & DISCUSSIONS

IV.1. Rendement d'extraction

La préparation de différents extraits de notre plante a été réalisée par une macération simple en utilisant la partie aérienne de la plante pendant la période de floraison, et des solvants de polarité différente (chloroforme, acétate d'éthyle, méthanol et butanol). Le rendement d'extraction a été calculé en pourcentage en fonction de la matière végétale sèche utilisée, (Tableau IV.1 et la fig. IV.1) représentent les rendements d'extraits obtenus.

Tableau.IV.1 : Rendement de différents extraits de *C. pubescens*

Extrait testé	Extrait chloroformique	Extrait d'acétate d'éthyle	Extrait butanolique	Extrait méthanolique
Rendement en %	4.41	2	5.06	15.1

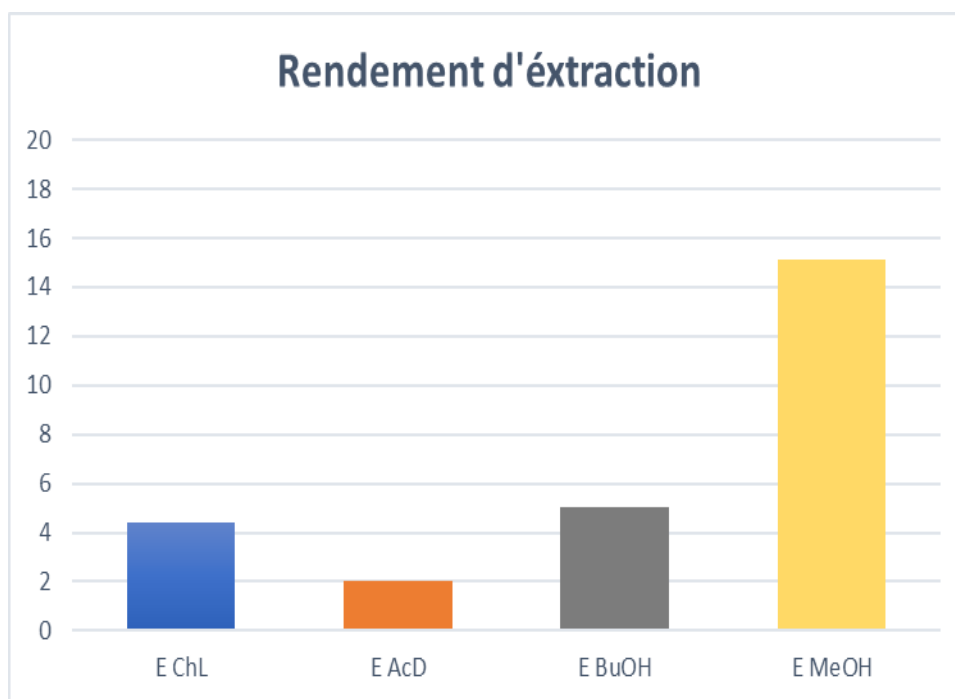


Fig. IV.1. Histogramme représente le rendement d'extraction de différents extraits de *C. pubescens*

D'après les résultats obtenus, l'extrait méthanolique offre le meilleur rendement avec un taux de (15,1%), suivi par l'extrait butanolique (5,06%), puis l'extrait chloroformique (4,412%) tandis que l'extrait d'acétate d'éthyle offre le taux de rendement le plus faible (2%). Ces résultats signifient que les rendements dépendent de type des solvants mis en oeuvre.

Le but de l'extraction avec des solvants de polarité différente est la désorption de toutes les substances bioactives de la matrice végétale. Les solvants polaires sont utilisés généralement pour l'extraction des composés phénoliques, et les solvants apolaires sont utilisés pour

recupérer sélectivement les acides tanniques de haut poids moléculaires, et les arômes des dérivés des acides hydroxycinématiques tels que le solvant de chloroforme et d'éther diéthylique [159].

Le méthanol (70 %) a donné le meilleur rendement comparativement au butanol et aux autres solvants organiques. Ceci est confirmé par de nombreuses études antérieures qui ont montré que un rapport de (70/30 : v/v) de méthanol a été utilisé généralement pour l'extraction optimale des composés, particulièrement les flavonoïdes (catéchines ou épicatechines), les acides-phénoliques et leurs dérivés et plusieurs autres sous groupes de flavonoïdes [160].

IV.2. Résultats des activités biologiques

IV.2.1. Activité antibactérienne

L'activité antimicrobienne de différents extraits de la partie aérienne de la plante *Centaurea pubescens* contre les microorganismes testés dans cette étude a été évaluée par la méthode de diffusion en milieu solide ou la méthode de disques, c'est une méthode permettant d'avoir une idée préliminaire sur la capacité d'un produit à inhiber la croissance microbienne. La lecture des résultats est réalisée par la mesure des zones d'inhibition, qui sont représentés par une zone claire formée autour de chaque disque.

Selon [161], la souche bactérienne est :

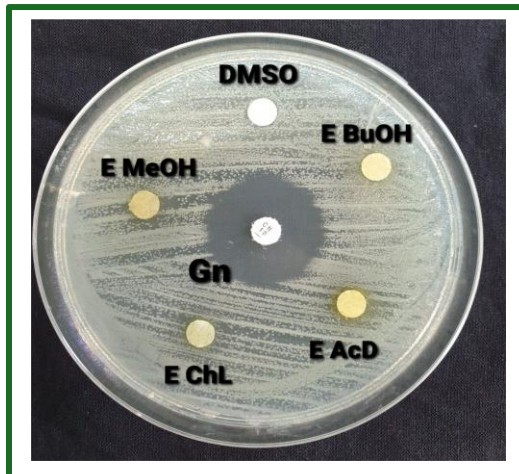
- ✓ Non sensible (-) ou résistante : Diamètre moins de 8 mm
- ✓ Sensible (+) : Diamètre entre 9 à 14 mm
- ✓ Très sensible (++) : Diamètre compris entre 15 à 19 mm
- ✓ Extrêmement sensible (+++) : Diamètre plus de 20 mm

Les résultats de l'activité antibactérienne obtenus sont présentés dans (la **figure.IV.2** et la **figure.IV.3** et le **tableau IV.2**)

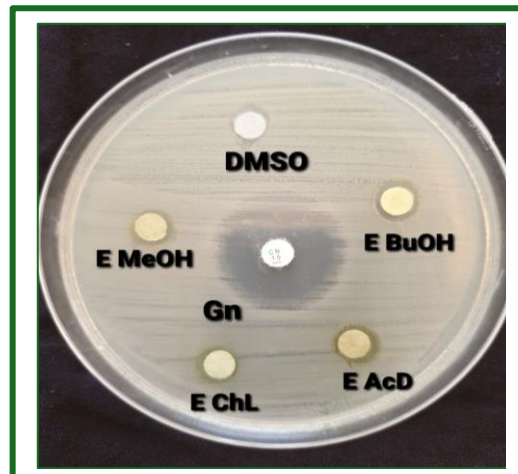
Tableau.IV.2. Diamètres des zones d'inhibitions de différents extraits de *C. pubescens*.

Les souches bactériennes	EMeOH	EBuOH	EChL	EAcD	DMSO	Gentamicine
	Diamètres des zones d'inhibitions (mm)					
<i>S.enterica</i> ATCC 13076	12 ± 1.00	10±0.00	12±0.5	11±0.00	-	23 ±1.00
<i>B. cereus</i> ATCC 10876	14 ±0.50	12±0.50	12±0.5	13±0.50	-	28±0.00
<i>E.coli</i> ATCC 25922	9 ±0.00	11±0.00	8±0.00	-	-	22±0.00
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	-	-	-	-	-	30 ±1.00
<i>P. aeruginosa</i>	11±0.00	8 ±0.00	10±0.0	11±0.00	-	22 ±1.00
<i>P. mirabilis</i>	8 ±0.00	-	-	11±0.00	-	30 ±1.00
<i>S. aureus</i>	-	-	-	-	-	28 ±0.00
<i>K. pneumoniae</i>	10 ±0.00	11±0.00	-	-	-	10 ±0.50
<i>E. coli</i>	-	9±0.00	8±0.00	-	-	28 ±1.00

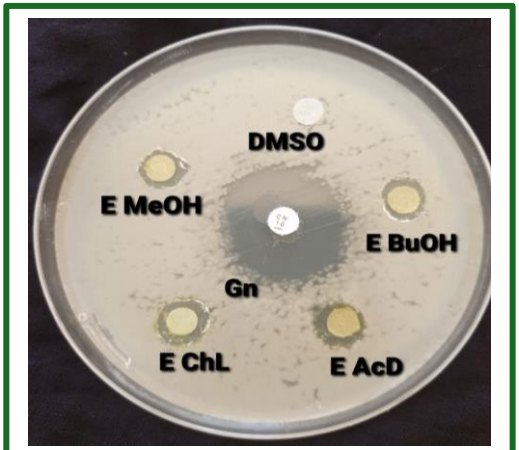
(-) : pas de zone d'inhibition, chaque valeur représente la moyenne de trois essais±écart-type (SD), **DMSO** : control négatif ; **Gentamicine** : control positif



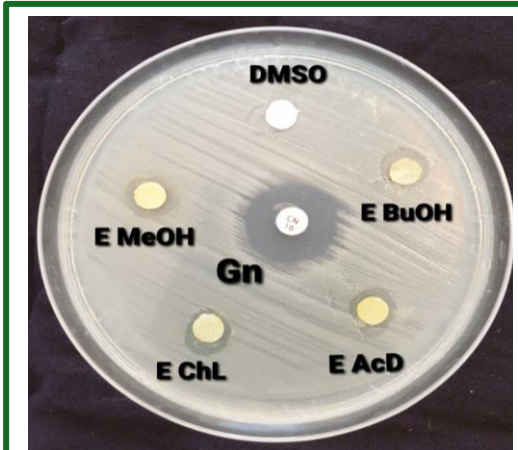
Staphylococcus aureus ATCC 25923



Escherichia coli ATCC 25922

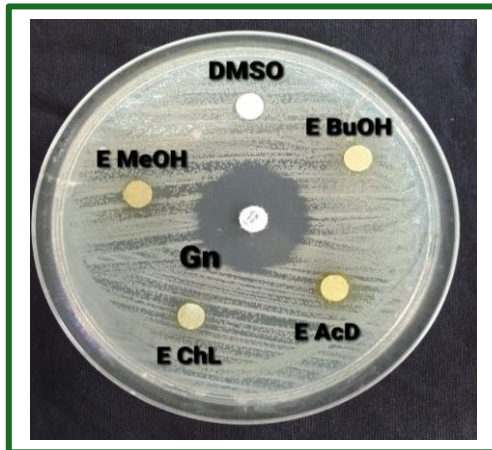


Bacillus cereus ATCC 10876

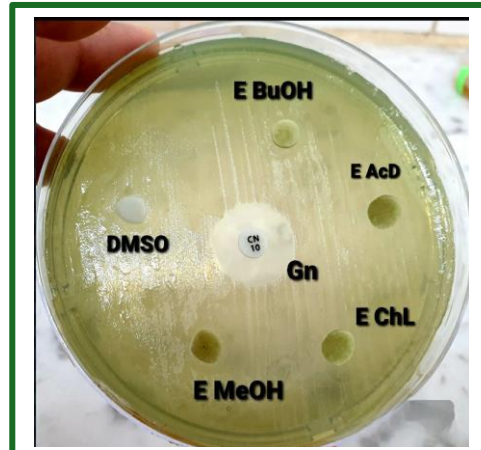


Salmonella enterica ATCC 13076

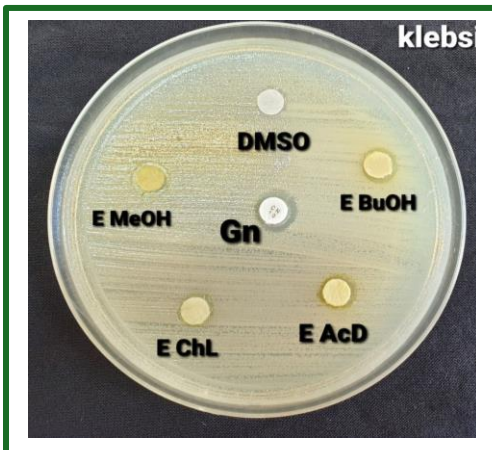
Figure IV.2. Photographies montrant l'effet de différents extraits de *C. pubescens* sur la croissance des souches bactérienne ATCC testées.



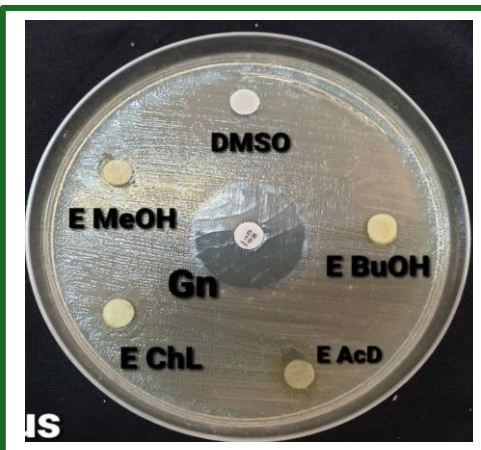
Staphylococcus aureus



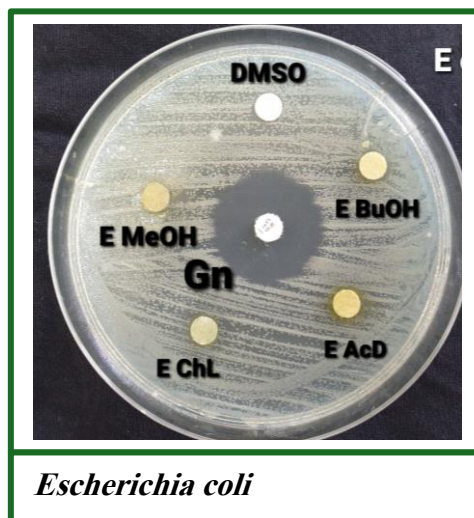
Pseudomonas aeruginosa



Klebsiella pneumoniae



Proteus mirabilis



Escherichia coli

Figure IV.3. Photographies montrant l'effet de différents extraits de *C. pubescens* sur la croissance des souches bactériennes cliniques testées.

Les résultats de l'activité antibactérienne de différents extraits bruts de la partie aérienne de la plante *centaures pubescens* obtenus par la méthode de diffusion sur milieu gélosé ont montré que ces extraits ont une activité inhibitrice contre sept souches bactériennes sur neuf testées, dont le diamètre de la zone d'inhibition est variable selon le germe ciblé (8 à 14mm).

L'activité inhibitrice la plus importante a été remarquée avec l'extrait de méthanol suivi par l'extrait d'acétate d'éthyle vis-à-vis la bactérie à Gram positif *Bacillus cereus* ATCC 10876 avec des diamètres de la zone d'inhibition de 14 et 13 mm respectivement, mais cette souche reste moins sensible comparativement à la gentamycine qui a induit un diamètre de 28 mm.

Tekeli et al. (2011), [162] ont testés l'activité antibactérienne de l'extrait de méthanol de huit espèces de *Centaurea* (*C. balsamita*, *C. calolepis*, *C. cariensis* ssp. *maculiceps*, *C. cariensis* ssp. *Microlepis*, *C. kotschy* var. *kotschy*, *C. solstitialis* ssp. *Solstitialis*, *C. urvillei* ssp. *Urvillei* et *C. virgate*) contre quatre bactéries (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus cereus* ATCC 14579, *Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923), ces auteurs ont signalé que cet extrait a montré une activité inhibitrice vis-à-vis toutes les souches testées, dont la souche *B. cereus* a été inhibé par deux des espèces de *Centaurea* étudiées (*C. cariensis* sous-espèce. *maculiceps* et *C. cariensis* subsp. *Microlepis*).

Une activité inhibitrice intermédiaire a été enregistrée avec les extraits EMeOH contre les souches : *S. enterica* ATCC 13076 (12mm), *P. aeruginosa* (11mm), *K. pneumonia* (10mm) ; EBUOH contre les souches : *B. cereus* ATCC 10876 (12mm), *P. aeruginosa* (11mm) et *K. pneumonia* (11mm) ; EChL contre les souches: *S. enterica* ATCC 13076 (12mm), *B. cereus* ATCC 10876 (12mm), *P. aeruginosa* (10mm); et EAcD contre les souches *S. enterica* ATCC 13076, *P. aeruginosa* et *P. mirabilis* avec une zone d'inhibition de 11mm.

Une activité inhibitrice faible a été remarquée avec les extraits EMeOH, EBUOH et EChL vis-à-vis les souches *E. coli* clinique, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* et *P. mirabilis* avec des zones d'inhibition entre 8 et 9 mm du diamètre.

Aucune activité n'a été observée avec tous les extraits de la plante centaurée vis-à-vis la souche ATCC et la souche clinique *staphylococcus aureus*.

En outre, aucune activité n'a été observée avec le DMSO vis-à-vis des souches bactériennes testées. Cependant, l'antibiotique standard la gentamycine a montré une activité inhibitrice importante vis-à-vis toutes les souches bactériennes testées, avec des diamètres des zones d'inhibition allant de 22 à 30 mm, à l'exception de la souche *K. pneumoniae* qui a démontré une grande résistance (10mm).

D'après ces résultats, on constate généralement que le diamètre de la zone d'inhibition est varié d'un extrait à un autre et d'une souche bactérienne à une autre. La variation de l'activité antibactérienne des extraits explique les variations de leurs compositions chimiques. Ceci est confirmé par plusieurs investigations qui relient le pouvoir antimicrobien de différents extraits des espèces de *Centaurea* à leurs compositions chimiques, principalement les lactones sesquiterpéniques et les composés phénoliques contenant des groupes hydroxyle [163].

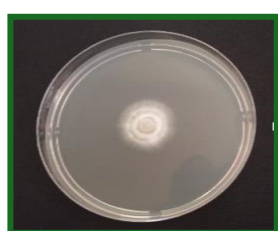
On constate également que les zones d'inhibition étaient inférieures à celle d'antibiotique standard la gentamicine, qui a montré des zones d'inhibition larges par rapport à celles obtenues avec les différents extraits de notre plante. Cette différence pourrait être expliquée par la concentration, le degré de pureté et la toxicité de l'antibiotique. De plus, cette différence pourrait être due à l'absence des oligomères phénoliques dans les extraits testés. Le mécanisme de toxicité des composés phénoliques pour les microorganismes se fait soit par la privation d'ions métalliques tels que le fer, soit par des interactions non spécifiques telles que les liaisons hydrogènes avec les protéines de la paroi cellulaire des bactéries [164].

II.2.2. Activité antifongique

L'activité antifongique de différents extraits de notre plante a été testée sur deux souches fongiques, il s'agit de *Fusarium oxysporum* et *Botrytis sp.* Les valeurs de pourcentages d'inhibitions de la croissance mycélienne de deux champignons sont représentées dans (le tableau IV.3 et les figures IV.4 et IV.5)

Tableau.IV.3. Pourcentage d'inhibition de la croissance fongique induite par différents extraits de *C. pubescens*

Extrait testé	Extrait chloroformique	Extrait d'actéte d'éthyle	Extrait butanolique	Extrait méthanolique
Souche testée	Pourcentage d'inhibition			
<i>F. oxysporum</i>	31.24	33.18	33.68	31.57
<i>Botrytis. Sp</i>	76.47	58.82	82.35	70.58



EMeOH



EBuOH



EAcE

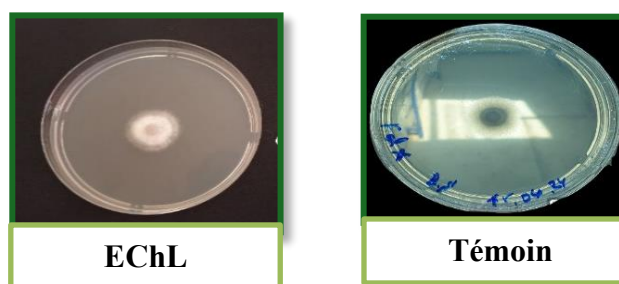


Figure.IV.4. Photographies montrant l'effet de différents extraits de *Centaurea pubescens* sur la croissance de champignon *F. oxysporum*.

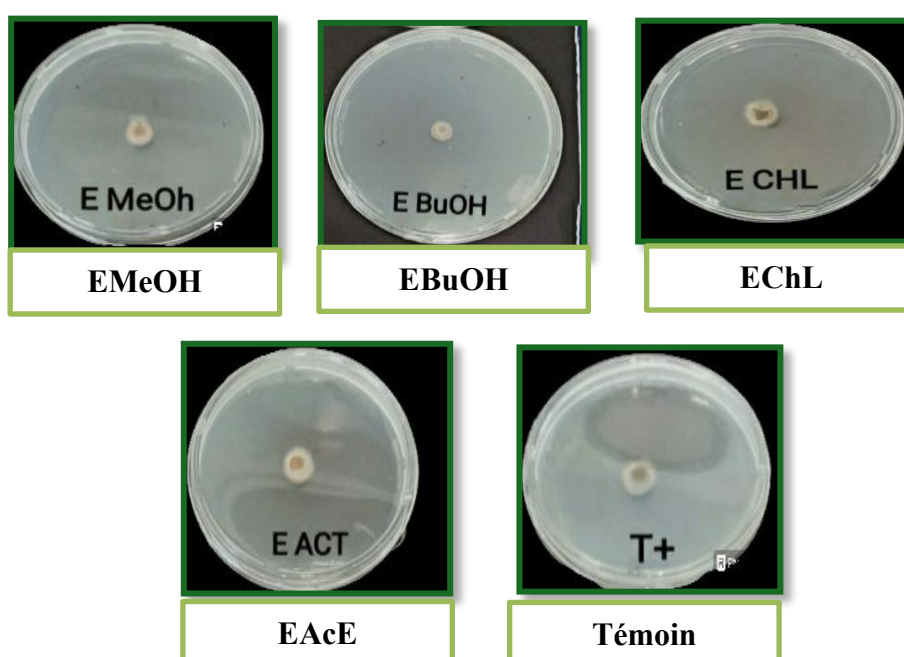


Figure.IV.5. Photographies montrant l'effet de différents extraits de *Centaurea pubescens* sur la croissance de champignon *Botrytis. Sp.*

Les résultats de l'activité antifongique obtenus ont montré que tous les extraits bruts de la partie aérienne de la plante *Centaurea pubescens* dotés un pouvoir inhibiteur sur la croissance mycélienne des deux champignons testés.

En revanche, ces extraits sont plus actifs sur la souche *Botrytis sp* que sur la souche *Fusarium oxysporum*, dont le pouvoir inhibiteur de l'extrait butanolique est plus important que les autres extraits avec un taux d'inhibition de 82.35%, suivi par l'extrait méthanolique et l'extrait chloroformique avec un pourcentage d'inhibition de 76.47 % et 70.58 % respectivement, et en dernier l'extrait d'acétate d'éthyle avec un pourcentage d'inhibition de

58.82 %. Ces résultats signifient que l'activité antifongique mise en évidence dépend du type du solvant d'extraction utilisé.

Concernant l'espèce fongique *Fusarium oxysporum*, l'activité antifongique a été enregistrée également pour tous les types d'extraits sur ce champignon, cependant cette activité n'a pas été significative, dont le pourcentage d'inhibition était 31 et 33 %.

D'après une étude réalisée par (Abou-Jawdah et al. (2020) , [165] dans le but de rechercher d'autres possibilités de lutte biologique contre les champignons phytopathogènes, Ces auteurs ont effectué des tests du pouvoir antifongique de différents extraits de neuf espèces de plantes parmi elles une espèce de centaurée, vis-à-vis huit espèces fongiques et parmi elles la souche *Fusarium oxysporum*, Leurs résultats ont révélé que *Fusarium oxysporum* est la souche la moins sensible des souches sélectionnées aux extraits de l'espèce *Centaurea pallezens*. Cela concorde avec notre résultat.

II.2.3. Activité antioxydant

L'action antioxydante désigne la capacité à diminuer les radicaux libres, ces radicaux sont très critiqués dans différentes affections. Afin de compenser le système de défense interne, les études se tournent vers la découverte de molécules bioactives antioxydantes. Pour cette raison, dans ce travail, l'activité antioxydant de différents extraits de la partie aérienne de la plante *C. pubecens* a été évaluée en utilisant quatre méthodes différentes : DPPH, ABTS, FRAP, et Phenanthroline, le Trolox a été utilisé comme un antioxydant de synthèse.

Les résultats de l'activité antioxydante obtenus ont été exprimés en milligramme équivalent Trolox par gramme de l'extrait sec (mg ET/g), et sont illustrés dans (les Fig.IV.6, Fig.IV.7 et Fig.IV.8).

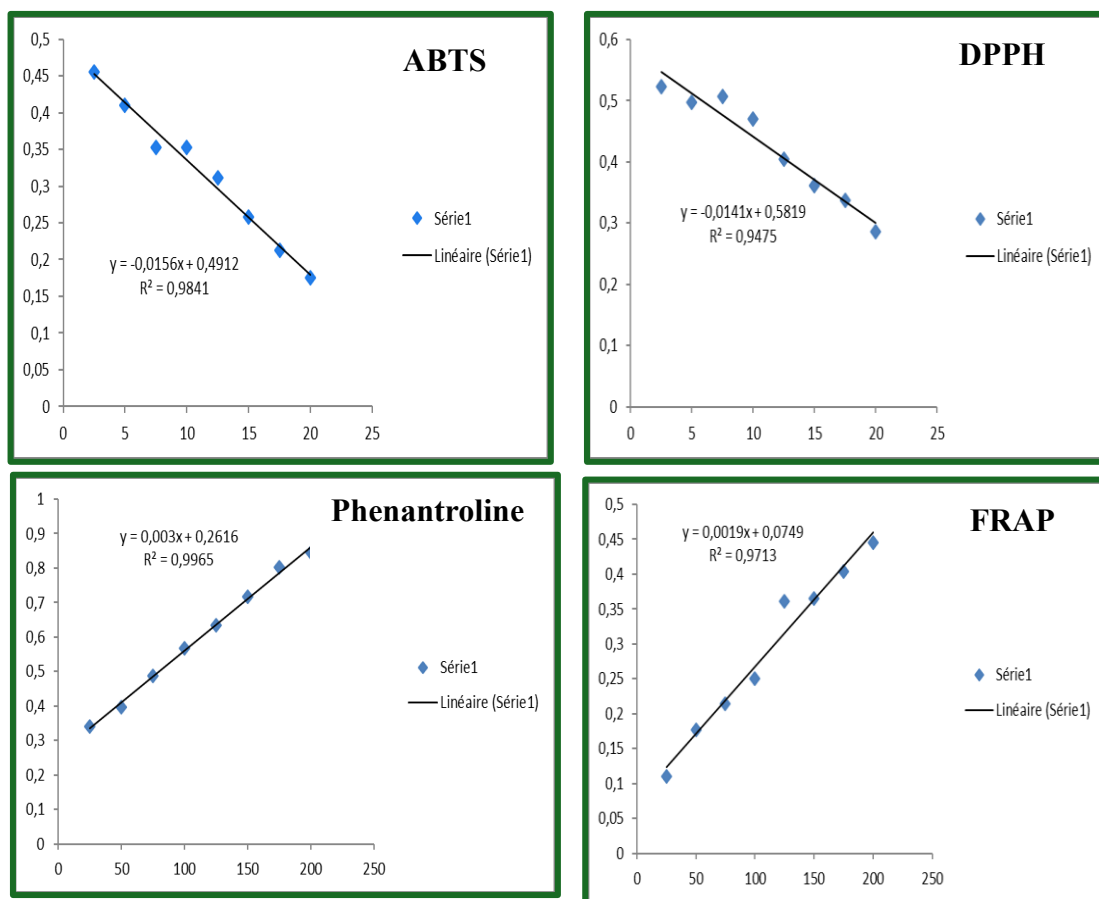


Fig. IV.6. Courbe d'étalonnage de Trolox.

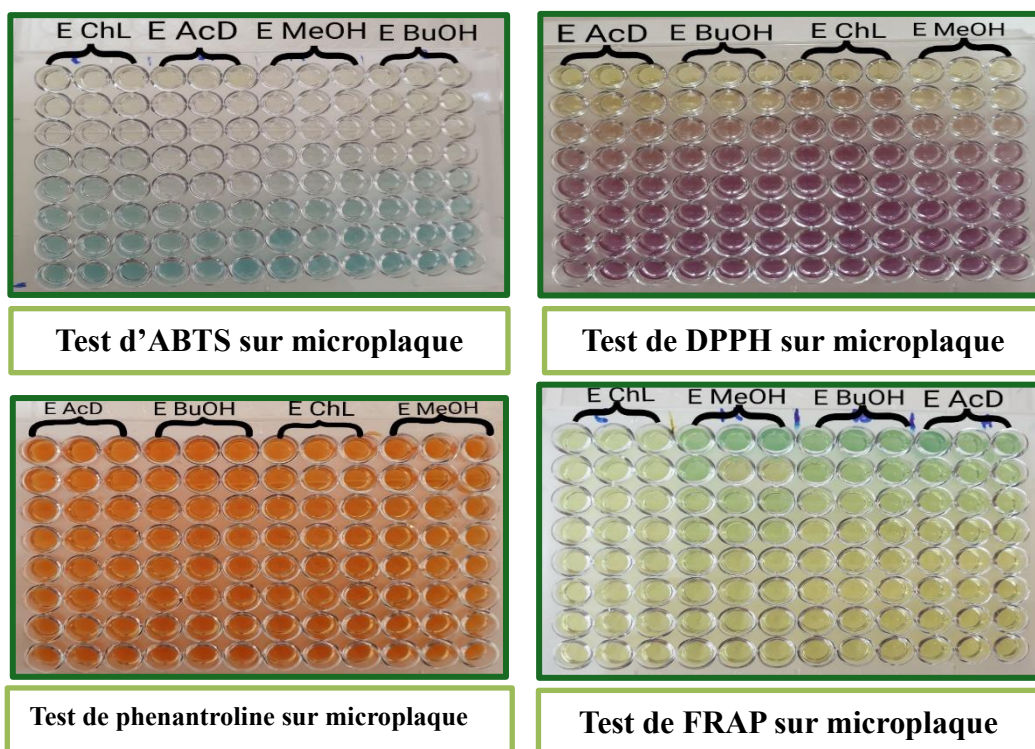


Fig. IV.7. Résultat de l'activité antioxydant de différents extraits de *C. pubescens* sur microplaque.



Fig.IV.8. Comparaison de l'activité antioxydant des différents extraits de *C. pubescens* par quatre tests antioxydants.

D'après les résultats obtenus, Les extraits bruts de la plante *Centaurea pubescens* ont montré une activité importante de piégeage du radical ABTS enregistrée avec l'extrait méthanolique avec une valeur de (107,85 mg ET/g d'extract), suivi par l'extrait butanolique et d'acétate d'éthyle (88,34 et 86, 63 mg ET/g d'extract) respectivement, tandis que l'extrait chloroformique a montré une activité faible de piégeage de ce radical (27,74 mg ET/g d'extract).

Les extraits de *C. pubescens* ont également montré une activité intéressante de piégeage du radical DPPH remarquée avec l'extrait méthanolique (103,55 mg ET/g d'extract) suivi par l'extrait butanolique (47,49 mg ET/g d'extract), l'extrait chloroformique a montré une faible

activité antiradicalaire ABTS de l'ordre de (35,60 mg ET/g d'extrait), cette activité est proche de celle de l'extrait d'acétate d'éthyle (35,45 mg ET/g d'extrait).

A partir de ces résultats, on peut conclure que nos extraits ont une bonne activité de piégeage d'ABTS et de DPPH, on peut conclure également que les extraits qui possèdent les meilleurs pouvoirs piègeurs vis-à-vis du radical libre DPPH montrent également les meilleurs pouvoirs piègeurs vis-à-vis du radical libre ABTS, il s'agit des extraits polaires méthanoliques et butanoliques. Ce pouvoir antioxydant pourrait être lié à la richesse de ces extraits en composés phénoliques.

En ce qui concerne le test FRAP, le changement de la couleur du jaune au bleu observé dans la microplaque indique la présence de substances possédant une capacité à transférer un électron aux les extraits étudiés, entraînant ainsi la réduction du Fe^{3+} en Fe^{2+} . Les résultats obtenus ont montré que le pouvoir réducteur du fer de différents extraits de *C. pubescens* était dans l'ordre suivant : EAcd > EChl > EMeOH > EbuOH, elles correspondent aux valeurs suivantes : (108,51 > 107,83 > 82,78 > 13,89 mgET/ mg ET/g d'extrait). Ces résultats signifient que les extraits des solvants moyennement et faiblement polaires qui sont l'acétate d'éthyle et le chloroforme ont donné la meilleure activité réductrice du fer par le test FRAP suivis par les extraits des solvants polaires qui sont le Méthanol, et le n-butanol.

L'activité antioxydant par le test de phénanthroline est caractérisée par une réaction de réduction des ions Fe^{3+} en ions Fe^{2+} . Les résultats de ce test ont montré une activité moyenne dans la réduction du fer par la phénanthroline enregistré avec l'extrait méthanolique (50,47 mg ET/g d'extrait), et une activité très faible obtenue par l'extrait d'acétate d'éthyle (12,01 mg ET/g d'extrait). Tandis que, Aucune activité réductrice n'a été observée avec les extraits butanolique et chloroformique.

Des études antérieures ont montré également un effet antioxydant important de différents extraits issus de différentes espèces du genre *Centaurea* par les quatre tests étudiés, l'extrait d'acétate d'éthyle de *C. choulettiana* Pomel a donné l'effet le plus puissant de piégeage du radical DPPH avec un pourcentage d'inhibition de (96,54%) [166] (Azzouzi et al., 2016), l'extrait butanolique de *C. tougourensis* Boiss. & Reut. A exercé un grand effet antiradicalaire contre l'ABTS avec une valeur d'IC50 de $8,04 \pm 0,21 \mu\text{g/mL}$, et une grande activité réductrice du fer par le test FRAP et le test de phénanthroline avec des valeurs d' $A_{0,50}$ de ($11,16 \pm 0,64 \mu\text{g/ml}$) et ($4,46 \pm 0,55 \mu\text{g/ml}$) respectivement [167]. (Bensaad et al., 2021), les extraits méthanoliques de *C. polypodiifolia* var. *pseudobehen*, *C. pyrrhoblephara*, et *C. antalyense* ont montré un pouvoir antioxydant important par le test DPPH, ABTS et FRAP.

[168] (Aktumsek et al., 2013). Cet effet antioxydant des espèces de centaurée est lié à la présence des composés phénoliques et des flavonoïdes qui sont connus par leur potentiel antioxydant élevé.

IV.2.4. Activité photoprotectrice

L'activité photoprotectrice traduit la capacité des produits à filtrer efficacement les radiations UV, l'évaluation de cette activité *in vitro* est basée sur la mesure du FPS un facteur universel de la performance photoprotectrice des écrans solaires contre les rayons UV. Plus le facteur de protection solaire est élevé, plus une protection contre les rayons UV est offerte par un écran solaire.

Dans notre étude, le FPS de différents extraits bruts de la partie aérienne de *C. pubescens* a été évalué *in vitro* par spectrophotométrie UV (290 à 320 nm). En appliquant l'équation mathématique de Mansur et al (1986) [169]. Les valeurs du facteur de protection solaire (FPS) obtenus par les extraits de notre plante sont présentées dans le tableau IV.4.

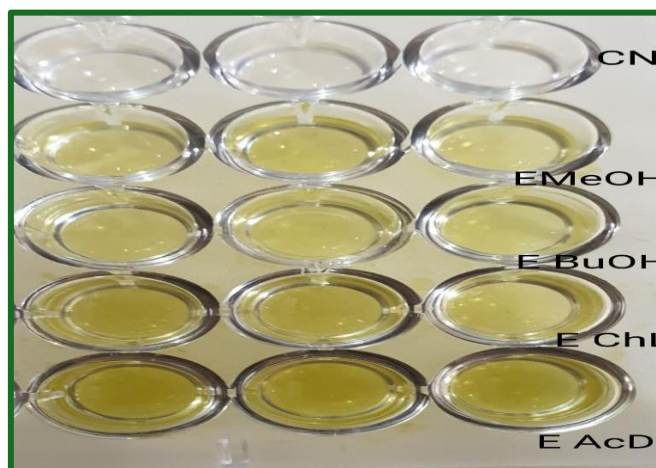


Fig. IV.9. Test SPF sur microplaque.

Tableau.IV.4. Valeurs du facteur de protection solaire des extraits de *Centaurea pubescens*.

Extrait testé	EMeOH	EBuOH	EChL	EAcE
FPS	15.03	10.62	20,25	33.36
Activité	Modérée	Minimum	Modérée	Élevée
% des UV bloqués	93 %	50 %	95%	97 %

D'après les résultats obtenus, les valeurs de FPS montrent clairement que l'extrait d'acétate d'éthyle possède une activité photoprotectrice élevée, l'extrait chloroformique et méthanolique ont montré une activité photoprotectrice modérée, alors que l'extrait butanolique a présenté une activité photoprotectrice faible.

En comparant les valeurs de FPS des extraits étudiés avec celles citées par **Eskenazi, (2017) [170]** dans le **tableau.IV.4**, il est évident que ces extraits auront la propriété de bloquer respectivement environ 97%, 95%, 93% et 50% des rayonnements UV. Cela peut être expliqué par la richesse des extraits de *C. pubescens* en flavonoïde.

Des études antérieures, qui ont porté sur certains extraits de plantes, ont montré une relation entre les composés phénoliques, l'activité antioxydante et l'activité photoprotectrice (FPS). En effet, les composés phénoliques en particulier les flavonoïdes sont connus pour leur absorption significative dans les zones ultraviolettes A (UVA) et ultraviolette B (UVB), en raison de leur composition chimique avec des liaisons doubles conjuguées, cette propriété de flavonoïdes potentialise la protection UV en modulant la réponse cellulaire et en piégeant les radicaux libres oxygénés [171-172].

A partir de résultats obtenus, on peut conclure que les extraits de notre plante ont une activité photoprotectrice prononcée et peuvent être utilisés dans des formulations d'écrans solaires pour protéger la peau des coups de soleil.

Tableau.IV.5. Pourcentage des rayons UVB bloqués [170].

Facteur de protection solaire (FPS)	Pourcentage
2	des UVB %50
15	des UVB %93
20	des UVB %95
30	des UVB %97
50	des UVB %98

IV.2.5. Activité anti-Alzheimer

L'activité anti Alzheimer de différents extraits bruts de la partie aérienne de la plante *C. pubescens* a été évaluée vis-à-vis de l'enzyme acétylcholinestérase par un test colorimétrique sur microplaque. Les résultats obtenus sont exprimés en termes d'IC₅₀ et sont représentés dans (le Fig. IV.10 et le Tableau.IV.5)

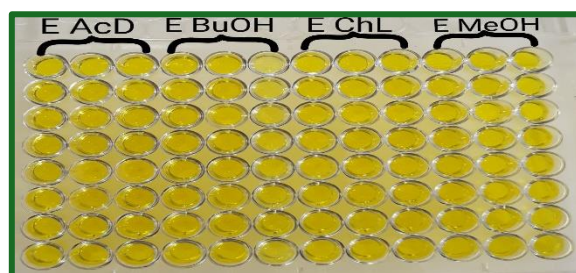


Fig. IV.10. Test d'acétylcholinestérase (AChE) sur microplaque.

Tableau.IV.6. Résultats de l'Anti-Acétylcholinestérase des extraits de *C. pubescens*

Extrait	IC50 µg/ml
Extrait méthanolique	NA
Extrait butanolique	NA
Extrait acétate d'éthyle	NA
Extrait chloroformique	NA
Galantamine	6.27±1.15

D'après les résultats obtenus, tous les extraits de la plante *C. pubescens* sont inactif vis-à-vis l'enzyme acétylcholinestérase.

En raison de l'absence d'études qui ont réalisé l'activité anti Alzheimer des extraits de *C. pubescens*, nos résultats ne peuvent être comparés avec ceux d'autres études.

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

L'appréciation des plantes médicinales en raison de leurs propriétés biologiques a connu une augmentation significative à travers le monde. Cette démonstration démontre que les molécules extraites de ces plantes sont certainement intéressantes pour être employées comme thérapie alternative ou comme modèle pour la production de nouvelles substances.

Cette étude a pour objectif d'évaluer de certaines activités biologiques de la plante *Centaurea pubescentis* à savoir l'activité antioxydant, l'activité antimicrobienne, l'activité anti-Alzheimer et l'activité photo protectrice.

Le déroulement de cette étude est envisagé selon deux volets, dans un premier volet, différents extraits bruts ont été préparé à partir de la partie aérienne de notre plante en utilisant quatre solvants de polarité différente. Selon les résultats obtenus, l'extrait méthanolique offre le meilleur rendement avec un taux de (15,1%), suivi par l'extrait butanolique (5,06%), puis l'extrait chloroformique (4,412%) tandis que l'extrait d'acétate d'éthyle offre le taux de rendement le plus faible (2%).

Dans un second volet, certaines activités biologiques de ces extraits ont été évaluées, l'activité antioxydant en utilisant quatre tests antioxydants différents (DPPH, ABTS, FRAP et phénantroline), cette activité indique que les extraits polaires représentent l'activité la plus élevée comparativement aux autres extraits en particulier avec les tests ABTS et DPPH.

L'activité antimicrobienne a été recherchée pour neuf souches bactériennes, et deux souches fongiques phytopathogènes, en utilisant la méthode de disques et la méthode de contact direct. Les résultats montrent que les différents extraits de centaurée inhibent la croissance de toutes les bactéries testées excepté la souche *Staphylococcus aureus*, et dotés un pouvoir inhibiteur sur la croissance mycélienne des deux champignons testés en particulier la souche *Botrytis* sp.

L'activité photo protectrice a été évaluée *in vitro* par spectrophotométrie en déterminant le spectre d'absorption en (290 à 320nm), les résultats montrent que l'extrait d'acétate d'éthyle possède une activité photoprotectrice élevée, l'extrait chloroformique et méthanolique ont montré une activité modérée, alors que l'extrait butanolique a présenté une activité faible.

En ce qui concerne l'activité anti-Alzheimer, les résultats montre que les différents extraits de notre plante sont inactifs vis-à-vis de l'enzyme acétylcholinestérase.

Nos résultats pourraient constituer une base ou une première étape permettent d'ouvrir de nouvelles perspectives pour d'autre études dans le futur, telle que :

- ✓ Des études expérimentales « *in vivo* » pour valider nos résultats réalisés *in vitro*.
- ✓ Etudier d'autres activités biologiques notamment l'activité anti-inflammatoire...etc.

CONCLUSION GENERALE

- ✓ Réaliser une étude phytochimique approfondie qui consiste à la purification, l'identification et la caractérisation des composés actifs
- ✓ Tester la toxicité de la plante.
- ✓ Essayer d'autres techniques et solvants d'extraction et leurs impacts sur la performance et la productivité.
- ✓ Identifier les molécules responsables des activités.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques :

- [1] P. Iserin., M. Masson, J. P. rousse Encyclopédie des plantes médicinales, Identification, Préparations, soins. (2001).
- [2] Zeggwagh A., lahlou Y., bousliman Y. (2013). Enquête sur les aspects toxicologiques de la phytothérapie utilisée par un herboriste à Fes, Maroc ; Pan Afr Med Journal ; 14 :125.1746
- [3] Ouelbani R., Bensari S., Mouas T.N., Douadi K. (2016). Ethnobotanical investigations on plants used in folk medicine in the regions of Constantine and Mila (North-East of Algeria). Journal of Ethnopharmacology. 194 ; 196-218.
- [4] Azzouzi Djihane. (2017). Investigation phytochimique et recherche d'activité biologique de deux espèces du genre *Centaurea*, (Asteraceae).
- [5] Kennouche Samira. (2017). Etude phytochimique et biologique des espèces *Chrysanthemum segetum* L. (Asteraceae) et *Limonium pruinosum* (L.) Chaz (Plumbaginaceae), Université des frères Mentouri CONSTANTINE.
- [6] Quezel, P. and Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome I, C.N.R.S. Paris.
- [7] Nacer, A., Merza, J., Kabouche, Z., Rhouati, S., Boustie, J., Richomme, p. (2012). Sesquiterpene lactones from *Centaurea tougourensis*. Biochemical Systematics and Ecology 43, p 163-165.
- [8] Thurzova, L., 1978. Les plantes_ santé qui poussent autour de nous. Ed : Elsevier Séquoia Bruxelles
- [9] Iserin, P.D. P (1996). Encyclopédie des plantes médicinales.
- [10] Farnsworth.N.R., Akerele.O., Bingel.A., Soejarto.DD., EtGuo.Z.,1986 : Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. Bulletin de l'organisation mondiale de la santé, 64(2) : 159-164.
- [11] Gurib-Fakim.A.,2006. Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of Tomorrow, Molecular Aspects of Medicine 27, 1-93
- [12] Makhoulfi, Elhani, Akkal, Salah, Medjoubi, kamel, et al. Chemical constituents of the extract Algerian *Reutera lutea* (desf.) Maire, (apiaceae). pharmacognosy communications,2013, vol.3, no 2, p.41
- [13] Omar, A., Mohammed El haykle.M., 1993. Plantes médicinales et aromatiques deuxième édition, installation connaissance D'Alexandrie, p :13-134
- [14] Newman et al.,2000. La grande Encyclopédie du Maroc : Flore et végétation 10ème journée Internationales HE, Digne-les Bains 5-6-7 Sept. P : 13-134

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [15] Mokkaedems, 1999. Cause de dégradation des plantes médicinales et aromatiques d'Algérie. *Revue Vie et Nature*, n.7, p.24-26
- [16] A. Guillouty ; Plantes médicinales et antioxydants. *Doctoral dissertation*, Université Toulouse -Paul Sabatier ; 2016
- [17] Chabrier, J. Y. (2010). Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie (Doctoral dissertation, UHP-Université Henri Poincaré)
- [18] Menozzi M., Audery Marco., sébastien Léonard.2011.les plantes spontanées en ville.Université de Provence,Marseille,p.3.
- [19] Bremer, K. & Anderberg Arne, A. (1994). *Asteraceae Cladistics and Classification*. Timber Press, Portland, Oregon. 752 p.
- [20] Quezel, P. & Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II, C.N.R.S. Paris.
- [21] Funk, V.A., Chan, L., Watson, B., Gemeinholzer, E., Schilling, J.L., Panero Baldwin, B.G. & Garcia-Jacas, N. (2005). « Everywhere but Antarctica: using a supertree to understand the diversity and distribution of the Compositae ». *Plant Diversity and Complexity*
Patterns: Local, Regional and Global Dimensions: Proceedings of an International Symposium Held at the Royal Danish Academy of Sciences and Letters in Copenhagen, Denmark, 25-28 May, 2003, 55:343.
- [22] Mora, C., Tittensor, D.P., Adl, S., Simpson, A.G.B. & Worm, B. (2011). « How many species are there on earth and in the ocean? ». *PLoS Biol* 9 (8): e100112 NUMBER OF CENTAUREA SOLSTITIALIS L. GROWN IN ALGERIA.
- [23] Cronquist, "The Evolution and Classification of Flowering Plants," The New York Botanical Garden Press, New York, 1988. - References - Scientific Research Publishing
- [24] F.Elisa. Les Astéracées : description botanique, biologique et étude de plantes médicinales et toxiques. Thèse d'exercice, Université de Limoges ; 2019.
- [25] R. E.Spichiger, V. V.Savolainen., M.Figeat-Hug, D.Jeanmonod. Botanique systématique des plantes à fleurs : une approche phylogénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicales. 3^{ème} Ed PPUR *presses polytechniques*; 2002; (3): 348; p413.
- [26] Barkely, TM., Brouillet, L., & Strother, JL. (2006). *Flora of North America- Asteraceae*.19: 3-69.
- [27] Gaussen, H., & Leroy, F. (1982). *Précis de botanique (végétaux supérieurs)* ; France ; 2^{ème} éd.424-426 ; p592

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [28] Bruneton, J. (1993). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Technique et documentation Lavoisier, Paris, 915 p.
- [29] Abbayes, H. Des., Chadefaud, M., De Ferre, Y., Feldmann, J., Gaussen, H., Grasse, P. P.,
- [30] Spichiger, E., Savolainen, V., Figeat-Hug, M. & Jeanmonod, D. (2002). Botanique systématique des plantes à fleurs : une approche phylogénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicales. 3ème Ed PPUR presses polytechniques (3): 348 .p413
- [31] Dupont, F., & Guignard, JL. (2007). Botanique Systématique moléculaire. 14ème édition révisée. Elsevier Masson SAS. (14) : 249-257
- [32] Filleul, E. (2019). Les Astéracées : description botanique, biologique et étude de plantes médicinales et toxique, Université de limoges.
- [33] Bruneton, J. (1999). Plantes toxiques. Végétaux dangereux pour l'homme et les animaux. 2ème Édition ; EDITIONS TEC & DOC Paris. (2) :153.
- [34] Guignard, JL. (2004). Biochimie végétale. 2ème édition. Dunod. 274 pages (2) :193.
- [35] H. Gaussen, F. Leroy. Précis de botanique (végétaux supérieurs) ; France ; 2e éd. ; 1982 ; 424-426; p592
- [36] <https://www.aujardin.info/plantes/famille-asteraceae.php>
- [37] R.Graziose., M.A. Lila, et I. Raskin. « Merging traditional chinese medicine with modern drug discovery technologies to find novel drugs and functional foods ». *Current drug discovery technologies* ; 2010 ; 7 (1) ; p2-12
- [38] Faye. L, Champey. Y. (2008). Plantes, médicaments et génétique, 24, p 939-946.
- [39] Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème édition, Tec & Doc. Paris.
- [40] Trease, G.F. & Evans, W.C. (1983). Pharmacognosy ;Bailliére, Tindall ; London, Philadelphia, Toronto, Mexico City, Rio De Janero, Tokyo, Hong Kong. p225- 514.
- [41] Fortuna, A.M., Riscalá, E.C., Catalan, C.A.N., Gedris, T.F. & Herz, W. (2001). Sesquiterpene Lactones from *Centaurea Tweediei*, *Biochemical Systematics and Ecology* 29; p967-971.
- [42] Flamini, G., Bulleri, C., Morelli , I. & Manunta , A. (2000).A New Flavonoid Glycoside From *Centaurea Horrida*, *J. Nat. Prod* 63, p622-663.
- [43] Bohlman, F., Burkhardt,T. & Zdero, C. (1973). Naturally Occuring Acetylenes.Academic Press London. p452.
- [44] Ahmed, F.Z., Hammoud, F.M., Rizk, A.M.&Ismail,S.L. (1970).*Planta Medica*.18,p227-231.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [45] Bellakhdar, J. (1997). La pharmacopée marocaine traditionnelle. Médecine arabe ancienne et savoirs populaires - Saint -Etienne, Edit. Ibis Press. Quezel, P., Santa, S., 1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. In: CNRS (Ed.), Vol. 1-2. Paris.
- [46] Hellwig, F.H. (2004). Centaureinae (Asteraceae) in the Mediterranean history of ecogeographical radiation. *Plant Syst. Evol.* 246. p137-p162.
- [47] Mishio, T., Houma, T. & Iwashina, T. (2006). Yellow flavonoïde in *Centaurea ruthencia* as flower pigments. *Biochemical systematics and ecology.* 34. p 180-p184.
- [48] Harborne, J.B. (1994). the flavonoids. Advances in research since 1986. Chapman & Hall, Cambridge; London.
- [49] Esra, K. A., Reyhan, A., Fatma, E., & Erdem, Y. (2009). *Journal of Ethnopharmacology*, 122, 210–215.
- [50] <https://www.floramaroccana.fr/c.-pubescens.html>
- [51] <https://www.floramaroccana.fr/c.-pubescens-saharae.html>
- [52] <https://www.tela-botanica.org/>
- [53] <https://www.floramaroccana.fr/c.-pubescens.html>.
- [54] Esra. K. A; Reyhan. A; Fatma. E et Erdem. Y, 2009, *Journal of Ethnopharmacolog* ,122, 210–215
- [55] <http://archive.ensv.dz:8080/jspui/handle/123456789/72>
- [56] Yayli N, Baltaci C, Gok Y, Aydin O., (2004). Sesquiterpène lactones from *Centaurea helenioides* Boiss . *TU`BITAK* p : 229- 233
- [57] Fujita T, et all,(1995). Traditional medicine in Turkey VII. Folk medicine in middle and west black Sea Regions. *Economic Botany.* 49 : 406- 422.
- [58] Asadipour A, Mehrabani M, Larinajafi M., (2005). Volatile oil composition of *Centaurea aucheri*. *DARU.* 13 : 160-164.
- [59] Goetz, P. (2023). *Centaurea cyanus*-Bleuet. *Phytothérapie*, 21(1), 61.
- [60] Mezache, N., Bendjeddou, D., Satta, D., Mekkiou, R., Benayache, S., & Benayache, F. (2010). Secondary metabolites from *Centaurea lippii*. *Chemistry of natural.*
- [61] Khammar, A., & Djeddi, S. (2012). Pharmacological and biological properties of some *Centaurea* species. *Eur J Sci Res*, 84(3), 398-416.
- [62] Medjroubi, K., Benayache, F., Benayache, S., Akkal, S., Kaabeche, M., Tillequin, F., & Seguin, E. (1998). Eudesmanolide from *Centaurea granata*. *Phytochemistry*, 49(8), 2425-2427.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [63] Ayad, R., Ababsa, Z. E., Belfadel, F. Z., Akkal, S., León, F., Brouard, I., & Medjroubi, K. (2012). Phytochemical and biological activity of Algerian *Centaurea melitensis*. *Int J Med Arom Plants*, 2(1), 151-154
- [64] Mouffok, S., Haba, H., Lavaud, C., Long, C., & Benkhaled, M. (2012). Chemical constituents of *Centaurea omphalotricha* Coss. & Durieu ex Batt. & Trab. *Rec. Nat. Prod.*, 6(3), 292-295.
- [65] Kabouche, A., Kabouche, Z., Touzani, R., & Bruneau, C. (2011). Flavonoids from *Centaurea sulphurea*. *Chemistry of Natural Compounds*, 46(6), 966-967
- [66] Bicha, S., Chalard, P., Hammoud, L., León, F., Brouard, I., Garcia, V. P., ... & Benayache, F. (2013). Maroccanin: A New g-lactone and Other Constituents from *Centaurea maroccana* Ball. (Asteraceae). *Records of Natural Products*, 7(2), 114.
- [67] Younsi, R., Draa, A., & Recherche, H. E. (2012). *Évaluation de l'effet protecteur et antioxydant de l'extrait méthanolique de la plante Centaurea fragilis contre la toxicité hépatique induite par le paracétamol chez le rat* (Doctoral dissertation, Université de Jijel)
- [68] Medjroubi, K., Benayache, F., Benayache, S., Akkal, S., Khalfallah, N., & Aclinou, P. (1997). Guaianolides from *Centaurea musimomum*. *Phytochemistry*, 45(7), 1449–1451.
- [69] Karamenderes, C., Bedir, E., Pawar, R., Baykan, S., & Khan, I. A. (2007). Elemanolide sesquiterpenes and eudesmane sesquiterpene glycosides from *Centaurea hierapolitana* *Phytochemistry*, 68(5), 609–615.
- [70] Bentamene, A. (2005). Thèse de doctorat, Université Mentouri Constantine 1.
- [71] Öksüz, S., SERIN, S., & Topcut, G. (1994). Sesquiterpene lactones from *centaurea hermannii*. 35(2), 435–438.
- [72] Lutge, U., Kluge, M., Bauer, G. (2002). *Botanique* (3^e éd). Technique et documentation. Lavoisier. Paris. 211p.
- [73] Marouf, A., & Reynaud, J. (2007). *La botanique d'A à Z*. Ed Dunod. Paris. 177p.
- [74] Agostini-costa, T. S., Vieira, R. F., Bizzo, H. R., Silveira, D., & Gimenes, M. A. (n.d.). (2012). Secondary Metabolites, Chromatography and Its Applications, Dr. Sasikumar Dhanarasu (Ed.) InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/chromatography-and-itsapplications/secondary-metabolites>.
- [75] Naboulsi, I. & Aboulmouhajir, A. (2018). Plants extracts and secondary metabolites, their extraction methods and use in agriculture for controlling crop stresses and improving productivity. *Acad. J. Med. Plants*, 6(8): 223–240.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [76] Mohammedi.Z., (2006). Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Mémoire de magister. Université Abou BakrBelkaïd.Tlemcen. Algerie. page : 155.
- [77] Bruneton, J. (2009). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4^{ème} Edition, Lavoisier. Paris.
- [78] Lugasi, A., Hóvári, J., Sági, K.V., & Biról. (2003). The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. Acta. Biol. Szeged., 47 : 119-125.
- [79] Bruneton, J. (1993). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Technique et documentation Lavoisier, Paris, 915 p
- [80] Merghem, R. (2009). Elément de biochimie végétale, Ed: bahaeddine.
- [81] Arimboor, Kumar K.S et al., (2008). Simultaneous estimation of phenolicacids in seabuckthorn (*Hippophaëhamnoides*) using RP-HPLC with DAD. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.; 47(1): 31-38.
- [82] Han X.H, Hong S.S, Hwang J.S, Lee M.K, Hwang B.Y, Ro J.S., (2007). Monoamine oxidase inhibitory components from *Cayratia japonica*. Archives Pharmacal Research. 30 : 6 :75-82. 07-13.
- [83] Bruneton J., (2008). Acides phénols. In : Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. Ed: Tec & Doc. Lavoisier, Paris. Pp 198-260.
- [84] Havsteen B. H., (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. Pharmacol Therap. 96 : 67-202.
- [85] Bouakaz, I., (2006). Etude phytochimique de la plante *Genista Microcephala*. Mémoire de magister, Batna. P 50.
- [86] Krishna D, Chaluvadi M, Raj N. and Sripal R., (2001). Bioflavonoid's classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. Indian J. Pharmacol. ; 33 : 2-16.
- [87] <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [88] Ford R.A., Hawkins D.R., Mayo B.C. and Api A.M. (2001). The *in vitro* Dermal Absorption and Métabolism of Coumarin by Rats and by Human Volunteers under Simulated Conditions of Use in Fragrances. *Food and Chemical Toxicology*, 39 : 153-162.
- [89] Garabeth.F.; Bouaoun.D.; Elyafi-Elzahri.G.: Etude quantitative des coumarines d'une plante sauvage Prangos asperula Boissier, *Phytothérapie*,5 :259-263, (2007).
- Guignard J.L., Cosson L. and Henry M. (1985). *Abrégé de Phytochimie*. Ed. Masson Paris, 155-174.
- [90] Khanbaba K et Ree T.R., (2001). Tannins: Classification and Definition. *Journal of Royal Society of Chemistry*,18:641-649.
- [91] Peronny S., (2005). La perception gustative et la consommation des tannins chez le MAKI (Lemur Catta). Thèse de Doctorat du Muséum national d'histoire naturelle, Discipline EcoEthologie .151p.
- [92] Bruneton J., (1999). *Pharmacognosie « Phytochimie Plantes » Médicinales 3^{ème} Ed*, Tec et Doc, Paris-P484-540.
- [93] Ghestem A, Seguin E, Paris M, Orecchioni A.M., (2001). *Le préparateur en pharmacie*. Dossier 2. Editions TEC & DOC Paris. P275.
- [94] Brouillard R., (1986). *Bull. Liaison groupe Polyphénols*,13, p76-94.
- [95] Yang B, Linko A et al., (2006). Secoisolariciresinol and matairesinol of seabuckthorn (Hippophaë rhamnoides L.) berries of different subspecies and harvesting times. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54(21):8065-8070.
- [96] Gonzalez-Burgos, E., & Gomez-Serranillos, M. P. (2012). Terpene Compounds in Nature: A Review of Their Potential Antioxidant Activity. *Current Medicinal Chemistry*, 19(31), 5319–5341.
- [97] Bezzaz.N., (2014). Détermination structurale des métabolites secondaires, et extraction des huiles essentielles de Mentha rotundifolia. Mémoire de magistère : chimie organique. M'sila : Université de M'sila. Algérie..p :14.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [98] Malecky, M. (2005). Métabolisme des terpenoïdes chez les caprins, thèse Pour obtenir le grade de docteur de l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Agro Paris Tech. P 9, 13-19, 20, 27
- [99] Benaïssa, O. (2011). Etude des métabolismes terpénique et flavonique d'espèces de la famille des composées, genres *Chrysanthemum* et *Rhantherium*. Activité Biologique, Thèse Doctorat, université Mentouri Constantine. 63p
- [100] Hininger-Favier I., (2011). Biochimie, les lipides et dérivés ; Partie 4 : les composées à caractère lipidique (lipoïde). Josef Fourier (France) : P23.
- [101] R.Merghem. Eléments de Biochimie Végétale. Ed, Bahaeddine. Algérie. Documentation. Paris : Lavoisier ; 16 ; 2009.
- [102] AFNOR, (2000). Huiles essentielles. Echantillonnage et méthodes d'analyse monographies relatives aux huiles essentielles. Volume 1 et 2, Paris, 6ème édition.
- [103] Yahyaoui N., (2005). Extraction, analyse et évaluation de l'effet insecticide des huiles essentielles de Menthe Spicata L sur *Rhyzoperlhu dominicu* (F.) (Coleoptera, Bostrychidae) et *Triboium confusm* (Duv.) (Coleoptera, Tenebrionidae). Thèse de Magister en sciences agronomiques, option Ecologie, INA, El-Harrach.
- [104] Roberts, M.F. (2013). Alkaloids: biochemistry, ecology, and medicinal applications. Springer Science & Business Media.
- [105] Ziegler J., Facchini P.J. (2008). Alkaloid Biosynthesis: Metabolism and Trafficking. Annu. Rev. Plant Biol. Vol (59): 735 – 769
- [106]. Guignard J.L., Cosson L. and Henry M. (1985). Abrégé de Phytochimie. Ed. Masson Paris, 155-174.
- [107]. Scoules M. (2006). Partitioning and Distribution of Dissolved Copper, Cadmium and Organic Matter in Mediterranean Marine Coastal areas: The Case of a Mucilage Event. *Estuarine coastal and Shelf Sciences*, 67 :484-490.
- [108] Cyril, T. (2001). Étude des métabolismes primaires et secondaires de racines transformées de *Catharanthus Roseusen*, vue du développement d'un modèle cinétique, université de Montréal. 28p

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [109] Herbert, R.B. (2003). The biosynthesis of plant alkaloids and nitrogenous microbial metabolites. *Nat. Prod. Rep.* 20: 494–508
- Roberts, M.F. (2013). *Alkaloids: biochemistry, ecology, and medicinal applications*. Springer Science & Business Media.
- [110] BEAUDEUX J-L, DURAND G. (2011). ‘‘Biochimie médicale - Marqueurs actuels et perspectives (2e ed.)’’ ; MÉDECINE SCIENCES PUBLICATIONS / LAVOISIER, Année 9/2011.
- [111] BELAÏCH, R. and BOUJRAF, S. (2016). Facteurs inflammatoires et stress oxydant chez les hémodialysés : effets et stratégies thérapeutiques. *Médecine des Maladies Métaboliques*, 10(1), pp.38-42
- [112] Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., & Defraigne, J. O. (2002). Mécanismes Physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition clinique et métabolisme*, 16(4), 233-239.
- [113] Dickinson, D. A., Forman, H. J. (2002). Cellular glutathione and thiols metabolism. *Biochemical pharmacology*, 64(5-6), 1019-1026. (n.d.-h).
- [114] Pillou, F (2014). « Radicaux libres – Définition », *Journal des Femmes*
- [115] Wolff, S. P., Jiang, Z. Y., & Hunt, J. V. (1991). Protein glycation and oxidative stress in diabetes mellitus and ageing. *Free Radical Biology and Medicine*, 10(5), 339-352.
- [116] 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).
- [117] 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).
- [118] Delattre, J., Beaudoux, J. L., & Bonnefont-Rousselot, D. (2005). Radicaux libres et stress oxydant (aspects biologiques et pathologiques).
- [119] Deby-Dupont, G., Deby, C., & Lamy, M. (2002). Données actuelles sur la toxicité de l’oxygène. *Réanimation*, 11(1), 28-39.
- [120] Favier, A. (2006, November). Stress oxydant et pathologies humaines. In *Annales pharmaceutiques françaises* (Vol. 64, No. 6, pp. 390-396). Elsevier Masson
- [121] Zaabat, N., (2011). Thèse de doctorat, Université Mentouri- Constantine. (n.d.-b).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [122] Matés, JM, Pérez-Gómez, C., & De Castro, IN (1999). Enzymes antioxydantes et maladies humaines. *Biochimie clinique*, 32 (8), 595-603.
- [123] Masella, R., Di Benedetto, R., Vari, R., Filesi, C., & Giovannini, C. (2005). Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *The Journal of nutritional biochemistry*, 16(10), 577-586.
- [124] HAMMA, P. S. A. (2020). Explorations biochimiques du stress oxydatif. *Cours destiné aux étudiants de 3ème année médecine*.
- [125] Bryant, D. W., McCalla, D. R., Leeksa, M., & Laneville, P. (1981). Type I nitroreductases of *Escherichia coli*. *Canadian Journal of Microbiology*, 27(1), 81-86.
- [126] 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).
- [127] Danielle CLAVE. Fiche technique _ Bactériologie 111. Laboratoire de Bactériologie Hygiène CHU Toulouse ;2011
- [128] <https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-maladies/2764187-proteus-mirabilis-bacterie-transmission-symptômes-traitement/>
- [129] Yan, H., Li, M., Meng, L., & Zhao, F. (2021). Formation of viable but nonculturable state of *Staphylococcus aureus* under frozen condition and its characteristics. *International Journal of Food Microbiology*, 357, 109381.
- [130] Teyssou, R., Hance, P., Nicand, E., Nizou, J. Y., & Buisson, Y. (1998). Les infections à *Bacillus Cereus* : bactériologie, clinique et traitement. *Lett Infect*, 99-104
- [131] Mandal, S., Mallick, N., & Mitra, A. (2009). Salicylic acid-induced resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in tomato. *Plant physiology and Biochemistry*, 47(7), 642-649.
- [132] Aleu, J., & Collado, I. G. (2001). Biotransformations by *Botrytis* species. *Journal of molecular catalysis B: Enzymatic*, 13(4-6), 77-93.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [133] Singh, S. B., & Barrett, J. F. (2006). Empirical antibacterial drug discovery-foundation in natural products. *Biochemical pharmacology*, 71(7), 1006-1015
- [134] Cohen Y et Jacquot C. (2001). *Pharmacologie*. 5ème Ed. Masson. Paris. 350p.
- [135] <https://www.pasteur.fr/fr/journal-recherche/actualites/molecules-naturelles-stimuler-defenses-antimicrobiennes-humaine>
- [136] Meunier, L. (2008). Photoprotection: nouvelle classification des produits de protection solaire. In *Annales de dermatologie et de vénéréologie*, 135 (2), 157-159.
- [137] Martini, M. C. (2011). *Introduction à la dermopharmacie et à la cosmétologie*. Lavoisier
- [138] Urbach, F. (2001). The historical aspects of sunscreens. *Journal of photochemistry and photobiology B*, 64 (2), 99-104.
- [139] J. Lacour, J.C. Beani. (2007). Photoprotection naturelle, photoprotection externe (topique et vestimentaire), *Ann Dermatol Venereol*, 134, 4518-4524.
- [140] Burnett, M. E., & Wang, S. Q. (2011). Current sunscreen controversies: a critical review. *Photodermatology, photoimmunology & photomedicine*, 27(2), 58-67
- [141] T. Maier, H.C. Korting. (2005). Sunscreens-which and what for, *Skin Pharmacol Physiol*, 18(6), 253-262
- [142] Lapre, E. (2010). *Maladie d'Alzheimer et thérapies non médicamenteuses : évaluation de la stimulation cognitive et de l'activité physique sur le fonctionnement exécutif (Doctoral dissertation, Bordeaux 2)*.
- [143] National Institute on Aging (NIA) - Ressources sur la maladie d'Alzheimer et ses traitements
- [144] Alzheimer's Association - Traitements alternatifs et à base de plantes
- [145] PubMed Central - [Curcumin and Alzheimer's disease: Theory, preclinical and clinical studies](#)
- [146] BAUER A.W., KIRBY W.M.M., SHERRIS T.C., and TRUCK M. (1966), Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method, *American Journal of Clinical Pathology*, 45, p. 493 - 496.
- [147] Song, W., Zhou, L., Yang, C., Cao, X., Zhang, L., and Liu, X. 2004. Tomato Fusarium wilt and its chemical control strategies in a hydroponic system. *Crop Protect.* 23: 243-247.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [148] Brand-william W, Cuvelier ME, Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 28: 25-30.
- [149] Blois, M.S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181 : 1199-1200.
- [150] Bouhadjra, K. (2011). Etude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge (Doctoral dissertation, UMMTO).
- [151] Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9-10), 1231-1237.
- [152] Antolovich, M., Prenzler, P. D., Patsalides, E., McDonald, S., & Robards, K. (2002). Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*, 127(1), 183-198.
- [153] Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese journal of nutrition and dietetics*, 44(6), 307-315.
- [154] Szydłowska-Czerniak, A., Dianoczki, C., Recseg, K., Karlovits, G., & Szlyk, E. (2008). Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta*, 76(4), 899-905.
- [155] Szydłowska-Czerniak A, Dianoczki C, Recseg K, Karlovits G, Szlyk E (2008) Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta* 76:899–905
- [156] Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres Jr, V., & Featherstone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical pharmacology*, 7(2), 88-95.
- [157] Mansur JS, Breder MN, Mansur MC, Azulay RD. Determination of Sun protection factor by spectrophotometry. *An Bras Dermatol*. 1986 ;61 :121–4.
- [158] Eskenazi Marine, 2017. Les produits de protection solaire de nouvelle génération. (Thèse, Université de Marseille, 2017). 76-77.
- [159] CollinS, Et Crouzet J. (2011). Polyphénols et Procèdes : Transformation des Polyphénols au travers des Procèdes Appliqués à l'Agroalimentaire. Lavoisier Tec et Doc. Paris. 336p
- [160] Santos-Buelga C, and Williamson G. (2003). *Methods in Polyphenol Analysis*. Eds. Royal Society of Chemistry. 383p.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [161] Ponce, A. G., Fritz, R., Del Valle, C., & Roura, S. I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT-Food Science and Technology*, 36(7), 679-684.
- [162] Tekeli-Yeşil, S., Dedeoğlu, N., Braun-Fahrlander, C., & Tanner, M. (2011). Earthquake awareness and perception of risk among the residents of Istanbul. *Natural hazards*, 59, 427-446.
- [163] Barrero et al., 2000 ; Skaltsa et al., 2000a, 2000b ; Karioti et coll., 2002 ; Saroglou et coll. 2005.
- [164] Karou, D., Dicko, M. H., Simpore, J., & Traore, A. S. (2005). Antioxidant and antibacterial activities of polyphenols from ethnomedicinal plants of Burkina Faso. *African journal of biotechnology*, 4(8), 823-828.
- [165] Abou-Jawdah, Y., Sobh, H., & Salameh, A. (2002). Antimycotic activities of selected plant flora, growing wild in Lebanon, against phytopathogenic fungi. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(11), 3208-3213.
- [166] Djihane Azzouzi¹, Kenza Bioud², Ibrahim Demirtas³, Fatih Gül³, Djamel Sarri⁴, Samir Benayache¹, Fadila Benayache¹ and Ratiba Mekkiou¹.
- [167] Bensaad, M. S., Dassamiour, S., Hambaba, L., Bensouici, C., & Haba, H. (2021). In vitro assessment of antioxidant, anti-inflammatory, neuroprotective and antimicrobial activities of *Centaurea tougourensis* Boiss. & Reut. *J. Pharm. Pharmacogn. Res*, 9(6), 790-802.
- [168] Aktumsek, A., Zengin, G., Guler, G. O., Cakmak, Y. S., & Duran, A. (2013). Antioxidant potentials and anticholinesterase activities of methanolic and aqueous extracts of three endemic *Centaurea L.* species. *Food and chemical toxicology*, 55, 290-296.
- [169] MANSUR, J. S.; BREDER, M. N. R.; MANSUR, M. C. A.; AZULAY, R. D. 1986 Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. *An. Bras. Dermatol.*, Rio de Janeiro, v. 61, p. 121-124
- [170] Eskenazi Marine, 2017. Les produits de protection solaire de nouvelle génération. (Thèse, Université de Marseille, 2017). 76-77.
- [171] Alesandra R.N., Ana Livya M.R., Dinalva B. Q., Icaro Gusmão P. V., João Francisco C. N., João Tavares C. J., Saulo R. T., Selene M. M., Henrique Douglas M. C., Photoprotective

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

potential of medicinal plants from Cerrado biome (Brazil) in relation to phenolic content and antioxidant activity. *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology*, 2018, 189, 119-123.

[172] Zhang K, Yang E-B, Tang W-Y, Wong KP, Mack P. 1997. Inhibition of glutathione reductase by plant polyphenols. *Biochem. Pharmacol.* ;54 :1047-1053.