



République algérienne démocratique et populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche
scientifique



Université Larbi Tébessi-Tébessa-
Faculté des sciences exactes et des sciences de
la nature et de la vie

Département : Sciences de la matière

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de master

Domaine : Sciences de la matière

Filière : Chimie

Option : Chimie des produits naturels

THÈME

Valorisation d'une plante poussant spontanément dans la région de Tipaza (Algérie), par l'analyse phytochimique et l'étude des activités biologiques de ses extraits.

Présenté par :

Melle KARDI CHIFA

Melle SEKIOU SALSABIL

Devant les membres du jury :

SOUDANI	Kaouthar	MAA	Université de Tébessa	Présidente
HAFSI	Yasmina	MAA	Université de Tébessa	Examinatrice
BOUDIBA	Sameh	MCA	Université de Tébessa	Encadreur

Soutenue le : 21/09/2020



Déclaration sur l'honneur de non-Plagiat
(À joindre obligatoirement au mémoire; Remplie et signée)

Nous soussignons

Nom, prénom: Sekiou Salsabil & Kandi chifa.

N° de carte d'étudiant: (1) 201534020540 (2) 104476012

Régulièrement inscrits (es) en Master au Département Sciences de la Matière

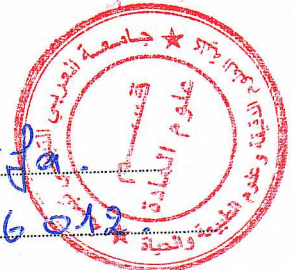
Année universitaire: 2019/2020

Domaine: Sciences de la matière

Filière: Chimie

Spécialité: chimie des produits naturels

Intitulé du mémoire: Valorisation d'une plante poussant spontanément dans la région de TIPAZA (Algérie) par l'analyse phytochimique et l'étude des activités biologiques.

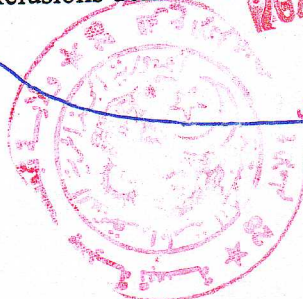


Attestons que notre mémoire est un travail original et que toutes les sources utilisées ont été indiquées dans leur totalité. Nous certifions également que nous n'avons ni recopié ni utilisé des idées ou des formulations tirées d'un ouvrage, article, ou mémoire, en version imprimée ou électronique, sans mentionner précisément leur origine et que les citations intégrales sont signalées entre guillemets.

Sanctions en cas de plagiat prouvé:

Les étudiants seront convoqués devant le conseil de discipline, les sanctions prévues selon la gravité du plagiat sont:

- L'annulation du mémoire avec possibilité de le refaire sur un sujet différent.
- L'exclusion d'une année du master.
- L'exclusions définitive.



من رئيس المجلس الشعبي البلدي
وبتفويض منه
امضاء مسؤولي لكل
من الإدارة الإقليمية

Fait à Tébessa, le: 04

Signature des étudiants (es):





Université Larbi Tébessa- Tébessa

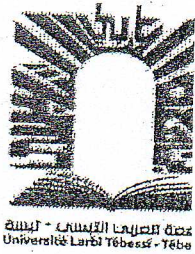
Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie

Département Science de la matière

Filière : Chimie

Spécialité : Chimie des produits naturels

Année universitaire 2019/2020



Formulaire de levée de réserves après soutenance d'un Mémoire de Master

Données d'identification du candidats(es) :

Nom et prénom du candidat : Sekiou Salsobil
..... Karoli Chifa

Intitulé du Sujet : Valorisation d'une plante poussant spontanément dans la région de Tipiza (Algérie), par l'analyse phytochimique et l'étude des activités biologiques de ses extraits.

Données d'identification du membre de jury :

Nom et prénom : Soudani Kaouthar

Grade : MAA

Lieu d'exercice : Université Larbi Tébessa- Tébessa

Vu le procès-verbal de soutenance de la thèse sus citée comportant les réserves suivantes :

..... Rien à signaler

Et après constatation des modifications et corrections suivantes :

..... Rien à signaler

Je déclare en ma qualité de président de jury de soutenance que le mémoire cité remplit toutes les conditions exigées et permet au candidat de déposer son mémoire en vue de l'obtention de l'attestation de succès.

Le 03 11 2020

Président de jury de soutenance : (Nom/Prénom et signature)

Soudani Kaouthar

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

"قل ان صلاتي ونسكي ومحياي و مماتي لله رب العالمين لا شريك له و بذلك امرت وانا اول المسلمين "

صدق الله العظيم

Dédicace

*À la couronne de ma tête "mon **père**" pour tous ce qu'il m'a fait, pour son amour, ses encouragements et son soutien moral et financier apporté depuis ma naissance à ce jour. J'implore Dieu, le tout puissant, de lui accorder une bonne santé, une longue vie et beaucoup de bonheur.*

*À la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie "ma **mère**", qui m'a apporté son appui durant toutes mes années d'étude, aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours pour elle. Puisse Dieu, le tout puissant la combler de santé, de bonheur et lui procure une longue vie*

*À mon cher et unique frère "**Housse**m", qui est présent dans tous mes moments dures par son soutien moral. Son aide et son extrême générosité ont été pour moi une source de courage, de confiance et de patience. Que Dieu le garde pour nous.*

*À mes gentilles sœurs : **Sara, Assia et Hadjer** pour leurs tendresse et leurs permanente présence à mes cotés*

*À ma 2^{ème} **mère ZOHRA** et sa familles*

*À mes jolies princesses **Khadija et Maria***

À toute ma famille

*À mon binôme **Chifa** et sa famille*

*À mes proches **Yousra, Ikhlas, Youta, Ilhem, Asma, Hanan, Zahra, Ikram**, les deux **Maroua** et **Aya***

À tous mes amis et mes collègues

Salsabil

Dédicace

À la couronne de ma tête "mon **père** " pour tous ce qu'il m'a fait, pour son amour, ses encouragements et son soutien moral et financier apporté depuis ma naissance à ce jour. J'implore Dieu, le tout puissant, de lui accorder une bonne santé, une longue vie et beaucoup de bonheur.

À la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie "ma **mère** ", qui m'a apporté son appui durant toutes mes années d'étude, aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours pour elle. Puisse Dieu, le tout puissant la combler de santé, de bonheur et lui procure une longue vie

À mon cher et unique frère " **Oussama** ", qui est présent dans tous mes moments durs par son soutien moral. Son aide et son extrême générosité ont été pour moi une source de courage, de confiance et de patience. Que Dieu le garde pour nous.

À mes gentilles sœurs : **Chaima, Ouissal, Anfel et Hadil** pour leurs tendresses et leurs permanente présence à mes cotés

À ma grande mère qui ma marquée profondément par sa sagesse et sa gentillesse, je suis reconnaissante pour tous ses efforts et conseils pour faire de moi une fille sage et éduquée

À toute ma famille sur tout Professeur **Lahmadi Fattouma** et **Asia**

À mon binôme **Salsabil** et sa famille sur tout **Hadjer**

À mes proches "Ma nounou **Sirine**, les deux **Marwa, Ilhem, Aya, Asma, Ikram, Hanen Zahra, Chams**, et Ma Sœur **Riheb**

À tous mes amis et mes collègues

Chifa

Remerciement

*Avant toute chose, on remercie **ALLAH** le tout puissant, pour nous avoir donné la force, la patience pour réaliser ce modeste travail.*

*On tient à exprimer toute notre reconnaissance à la directrice de ce mémoire, docteur **BOUDIBA Sameh**, nous la remercions pour sa patience, sa disponibilité, sa rigueur scientifique ainsi que ses conseils avisés, Merci pour votre encadrement et votre gentillesse.*

*Nos vifs remerciements à madame **Soudani Kaouthar**, enseignante à l'université de Tébessa, pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury de ce travail.*

*On souhaite vivement associer à ces remerciements ceux pour madame **Hafsi Yasmina**, enseignante à l'université de Tébessa, pour avoir accepté d'examiner ce travail et de faire partie du jury de ce mémoire.*

*En termes de reconnaissance, on tient à exprimer nos vifs remerciements au professeur **Louiza Boudiba** pour son aide en nous fournissant la plante investiguée, ainsi que madame **Sorray Hioun**, pour la réalisation de l'identification botanique de la plante étudiée.*

Par ailleurs, on tient à remercier :

*Le technicien du Laboratoire pédagogique du département des sciences de la terre et de l'Univers **M^{er} Hemaïdia Hacen**, pour son accueil chaleureux, sa disponibilité et son aide.*

*Un vif remerciement s'adresse à Madame **Benhaj Mabrouka**, de la faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie pour son remarquable aide apportée pour l'élaboration de ce travail.*

*Nous adressons nos remerciements au personnel du laboratoire de biochimie en particulier **Dr. BENCOUICI Chawki**, et **Hatem** du Centre de Recherche et Biotechnologie (**CRBT**).*

*On tient à exprimer nos remerciements à tous nos **enseignants** qui nous ont enrichis avec leurs connaissances précieuses tout le long de notre parcours d'étude.*

On remercie toute personne ayant contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

*Un grand merci à toutes nos collègues de la promotion **2019/2020**.*

A tous les chers nous vous dis merci.

Chifa § Salsabil

بهدف إكتشاف جزيئات جديدة نشطة بيولوجيًا من مصادر طبيعية، إهتمنا في هذا العمل، بتقييم الأنشطة المضادة للأكسدة ومضادات الميكروبات لمستخلصات الجزء العلوي (الأوراق والفواكه) لنبات "*Pyracantha coccinea*"، المنتمي إلى عائلة Rosaceae. أكدت سلسلة الإختبارات الكيميائية النباتية الأولية التي أجريت على جزأي النبتة المختبرة وجود مجموعة متنوعة من المركبات الكيميائية. تم الحصول على المستخلصات المختبرة عن طريق نقع أوراق وثمار النبات في مزيج من الميثانول والماء، متبوعًا بعملية إستخلاص أخرى للمستخرج الخام المتحصل عليه بإستخدام مذيبات ذات قطبية متزايدة بطريقة الإستخلاص سائل-سائل، بغية إستخلاص المركبات الفينولية. تم الحصول على مردودات متوسطة نسبيًا، كما سجل المستخلص المائي للأوراق أعلى مردود بنسبة 27,46%. بين التقدير الكمي لمجموع البوليفينول بطريقة Folin-Ciocalteu والفلافونويد بطريقة $AlCl_3$ ، أن مستخلصات الجزئين المدروسين غنية بهذه المركبات، بإستثناء المستخلصات المائية و التي أظهرت محتوى منخفضًا جدًا. أظهرت النتائج المتحصل عليها من تقييم القدرة المضادة للأكسدة بواسطة طريقتين ($ABTS^{+•}$ و FRAP)، نشاطًا عاليًا جدًا لجميع المستخلصات التي تم اختبارها بنسب متفاوتة. أظهر إختبار النشاط المضاد للميكروبات وفقًا لطريقة الانتشار على الأقراص أن مستخلصات الأوراق أعطت حساسية محدودة تجاه الكائنات الحية الدقيقة الستة المختبرة وهي: *Escherichia coli*، *Staphylococcus aureus*، *Bacillus subtilis*، *Micrococcus luteus* وسلالتان من *Candida albicans*، بينما تم تمييز مقاومة *Klebsiella pneumoniae* لجميع المستخلصات، كما لوحظ مقاومة كبيرة للسلاطات المختبرة ضد جميع المستخلصات المتحصل عليها من الثمار، بإستثناء *Bacillus subtilis* والتي أظهرت حساسية محدودة.

الكلمات المفتاحية: "*Pyracantha coccinea*"، الإختبارات الكيميائية النباتية، مجموع البوليفينول، الفلافونويد، النشاط المضاد للأكسدة، $ABTS^{+•}$ ، FRAP، النشاط المضاد للميكروبات.

In order to discover new biologically active molecules from natural sources, we were interested in this work, to evaluate the antioxidant and antimicrobial activities of extracts obtained from the aerial part (Leaves and fruits) of "*Pyracantha coccinea*" plant, which belong to the Rosaceae family. The series of preliminary phytochemical screening realized on both parts of the investigated plant, has confirmed the presence of various chemical compounds. The tested extracts has been obtained by maceration of the vegetal material in a hydro-alcoholic mixture, followed by a liquid-liquid extraction using different solvents with increasing polarity, in order to extract the phenolic compounds. Relatively average yields were obtained, where the aqueous extract of the leaves exhibited the highest yield with a value of 27,46 %. The quantitative estimation of the total polyphenols by Folin-Ciocalteu method and of the flavonoids by the $AlCl_3$ method revealed that the studied extracts are rich in these compounds, with the exception of the aqueous extracts, which exhibited a very low content. The results extracted from the evaluation of the antioxidant potential carried out by two methods (ABTS \bullet^+ and FRAP), showed a powerful activity for all tested extracts, with different proportions. The estimation of the antimicrobial activity performed according to the diffusion on discs method, exhibited that leaves extracts gave a limited sensitivity towards the six tested microorganisms, namely: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus* and both *Candida albicans* strains. However, for *Klebsiella pneumoniae*, a resistance to all extracts was marked. In addition, a considerable resistance of the tested strain was been distinguished against all fruit's extracts, except for *Bacillus subtilis*, which showed a limited sensitivity.

Key words: "*Pyracantha coccinea*", phytochemical screening, total polyphenols, flavonoids, antioxidant activity, ABTS \bullet^+ , FRAP, antimicrobial activity.

Dans l'optique de découvrir de nouvelles molécules biologiquement actives à partir de sources naturelles, nous nous sommes intéressés dans ce travail, à l'évaluation des activités antioxydante et antimicrobienne des extraits de la partie aérienne (Feuilles et fruits) de la plante "*Pyracantha coccinea*", appartenant à la famille des Rosacées. La série des tests phytochimiques préliminaires réalisée sur les deux parties de la plante investiguée, a confirmé la présence de divers composés chimiques. Les extraits testés, ont été obtenus par macération du matériel végétal dans un mélange hydro-alcoolique, suivie d'une extraction liquide-liquide avec différents solvants de polarité croissante, dans le but d'extraire les composés phénoliques. Des rendements relativement moyens ont été obtenus, où l'extrait aqueux des feuilles a présenté le rendement le plus élevé avec 27,46 %. L'estimation quantitative des polyphénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu et des flavonoïdes par la méthode d' $AlCl_3$, a révélé que les extraits étudiés sont riches en ces composés, à l'exception des extraits aqueux qui ont exhibaient une teneur très faible. Les résultats extraits à partir de l'évaluation du potentiel antioxydant réalisée par les deux méthodes (ABTS⁺• et FRAP), ont manifestés une activité très importante pour tous les extraits testés, avec des proportions différentes. L'estimation de l'activité antimicrobienne effectuée selon la méthode de diffusion sur disques, a montré que les extraits des feuilles ont donné une sensibilité limitée vis-à-vis les six microorganismes testés, à savoir : l'*Escherichia coli*, le *Staphylococcus aureus*, le *Bacillus subtilis*, le *Micrococcus luteus* et les deux souches de *Candida albicans*. Cependant, pour la *Klebsiella pneumoniae*, une résistance à tous les extraits a été marquée. De plus, une résistance considérable des souches testées, a été distinguée contre tous les extraits obtenus à partir des fruits, sauf pour le *Bacillus subtilis* qui a montré une sensibilité limitée.

Mots clés : "*Pyracantha coccinea*", tests phytochimiques, polyphénols totaux, flavonoïdes, activité antioxydante, ABTS⁺•, FRAP, activité antimicrobienne.

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des schémas

Liste des tableaux

Première partie : Synthèse bibliographique	
Introduction général	01
CHAPITRE I : Plantes médicinales § phytothérapie	
I. PLANTES MEDICINALES	03
I. 1. Composition	03
I. 1. 1. Métabolites primaires	03
I. 1. 1. 1. Lipides	04
I. 1. 1. 2. Peptides	04
I. 1. 1. 3. Glucides	05
I. 1. 2. Métabolites secondaires	06
I. 1. 2. 1. Composés phénoliques	06
a) Acides phénoliques	06
b) Flavonoïdes	06
c) Tanins	07
d) Coumarines	08
e) Quinones	08
f) Anthocyanes	09
g) Saponosides	09
h) Alcaloïdes	09
i) Terpènes et stérols	10
I. 2. Applications	11
I. 2. 1. En tant que médicaments	11
I. 2. 2. Dans la phytothérapie	11
I. 2. 3. En tant qu'alimentation	11
I. 2. 4. En tant que cosmétique	11
I. 2. 5. Corrosion	11

Références bibliographiques	12
CHAPITRE II : Plante investiguée § activités biologiques	
I. PLANTE INVESTIGUÉE	14
I. 1. Introduction	14
I. 2. Origine et distribution	14
I. 3. Description botanique	14
I. 4. Taxonomie	15
I. 5. ACTIVITÉS BIOLOGIQUE	15
I. 5. 1. Activité antioxydant	15
I. 5. 1. 1. Radical libre	16
I. 5. 1. 2. Stress oxydant	16
I. 5. 1. 3. Antioxydant	16
a) Antioxydants enzymatique	17
b) Antioxydants non enzymatique	17
c) Antioxydants synthétiques	19
I. 5. 1. 4. Méthodes d'évaluation <i>in-vitro</i> de l'activité antioxydante	19
a) Piégeage de radical cation ABTS^{•+}	20
b) Réduction de fer par la méthode de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)	20
I. 5. 2. Activité antimicrobienne	21
I. 5. 2. 1. Bactéries	22
I. 5. 2. 2. Antibiotique	24
I. 5. 2. 3. Champignons	24
I. 5. 2. 4. Évaluation de l'activité antimicrobienne	25
I. 6. Utilisation	25
Références bibliographiques	26
Deuxième partie : Partie expérimentale	
CHAPITRE I : Matériel § Méthodes	
I. Matériels	29
I. 1. Matériel végétal	29
I. 2. Matériel biologique	29
I. 2. 1. Souches bactériennes testées	29
I. 2. 1. 1. <i>Escherichia coli</i>	29
I. 2. 1. 2. <i>Staphylococcus aureus</i>	30

I. 2. 1. 3. <i>Bacillus subtilis</i>	30
I. 2. 1. 4. <i>Micrococcus luteus</i>	31
I. 2. 1. 5. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	31
I. 2. 2. Champignons testés	32
I. 2. 2. 1. <i>Candida albicans</i>	32
II. Méthodes	33
II. 1. Extraction des composés phénoliques	33
II. 2. Révélation (Screening) phytochimique	35
II. 2. 1. Epuisement du matériel végétal avec de l'eau chaude	35
II. 2. 1. 1. Détection des saponosides	35
II. 2. 1. 2. Détection des tanins	35
II. 2. 1. 3. Détection des composés réducteurs	35
II. 2. 2. Epuisement du matériel végétal avec l'éthanol	35
II. 2. 2. 1. Détection des flavonoïdes	35
II. 2. 2. 2. Détection des tanins galliques et catéchiques	36
II. 2. 3. Autre métabolites secondaires	36
II. 2. 3. 1. Détection des coumarines	36
II. 2. 3. 2. Détection des anthocyanes	36
II. 2. 3. 3. Détection des terpènes	36
II. 2. 3. 4. Détection des alcaloïdes	36
II. 3. Dosage des polyphénols	36
II. 3. 1. Principe	36
II. 3. 2. Mode opératoire	37
II. 4. Dosage des flavonoïdes	37
II. 4. 1. Principe	37
II. 4. 2. Mode opératoire	37
II. 5. Détermination de l'activité antioxydant	37
II. 5. 1. Activité du piégeage du radicale ABTS ⁺ •	38
II. 5. 2. Réduction du fer par la méthode de FRAP (Ferric reducing antioxidant power)	38
II. 5. 3. Détermination de l'activité antibactérienne	38

II. 5. 3. 1. Méthode de diffusion sur milieu gélosé	38
a) Repiquage des espèces bactériennes	38
b) Préparation de l'inoculum	39
c) Préparation des disques	39
d) Ensemencement	39
e) Lecture	39
Références bibliographiques	41
CHAPITRE II : Résultats et discussion	
I. Rendement des extractions	43
II. Révélation phytochimique	43
III. Teneur en polyphénols totaux	45
IV. Teneur en flavonoïdes totaux	47
V. Résultats de l'activité antioxydant	48
V. 1. Activité du piégeage du radicale cationique l'ABTS⁺	48
V. 2. Activité de réduction du fer par la méthode de FRAP (Ferric reducing antioxidant power)	50
VI. Evaluation de l'activité antibactérienne	52
Références bibliographiques	58
Conclusion	59

Abréviations et symboles

Symboles	Signification
Ex	Extrait
UV-Vis	Ultraviolet Visible
Dic	Dichlorométhane
AcEt	Acétate d'éthyle
n-But	N-butanol
Aq	Aqueux
Abs	Absorbance
%	Pourcentage
ABTS	Acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power
Fr	Fruits
Fe	Feuilles
°C	Degré Celsius
MH	Miller Hinton
ATCC	American Type Culture Collection
DSM	Manuel de diagnostic et de statistique des troubles mentaux
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
Nm	Nanomètre
µL	Microlitre
mL	Millilitre
H	Heure
min	Minute
m	Mètre
µm	Micromètre
µg	Microgramme
mg	Milligramme
g	Gramme
EAG	Equivalent Acide Gallique

EQ	Equivalent Quercétine
MS	Matière sèche
Asc	Acide ascorbique
A_{0,50}	Absorbance à concentration 0,50
IC₅₀	Concentration d'inhibition 50
mM	Milli mole
>	Supérieure
AA	Acide Aminé
AR_nT	Acide ribonucléique de transfert
g /mol	Gramme par mole
µm	Micromètre
G⁻	Gram négative
G⁺	Gram positive
H₂SO₄	Acide sulfurique
HCl	Acide chlorhydrique
NH₄OH	Hydroxyde d'ammonium
NaOH	Hydroxyde de sodium
AlCl₃	Chlorure d'aluminium
K₃Fe(CN)₆	Ferricyanure de potassium
MeOH	Méthanol
FeCl₃	Chlorure ferrique
K₂S₂O₈	Persulfate de potassium
Fe	Fer
Fe³⁺	Fer ferrique
Fe²⁺	Fer ferreux
D	Diamètre de la zone d'inhibition
S	Sensibilité

Liste des figures

N°	Titre	Page
1	Utilisation des plantes médicinales dans la phytothérapie	03
2	Exemple de lipide	04
3	Exemple d'acides aminés	05
4	Exemples des glucide	05
5	Structure des flavonoïdes	07
6	Exemple d'une structure de tanins condensé	07
7	Tanins ellagiques et tanins galliques	08
8	Structure de base des coumarines	08
9	Quelques motifs quinoniques	09
10	Structure des saponosides	09
11	Quelques exemples d'alcaloïdes	10
12	Quelque exemple de terpènes	10
13	Quelques motifs de stérols	10
14	Photographie du <i>Pyracantha coccinea</i>	14
15	Structure de vitamine E	18
16	Structure de vitamine C	19
17	Photo représentative de l'activité antimicrobienne	22
18	Structure des bactéries	23
19	Comparaison entre bactérie à gram négative et bactérie a gram positive	23
20	Bouquet de champignons microscopiques	24
21	Carte géographique de la zone de récolte	29
22	<i>Escherichia coli</i> au microscope	30
23	<i>Staphylococcus aureus</i> au microscope	30
24	<i>Bacillus subtilis</i> au microscope	31
25	<i>Micrococcus luteus</i> au microscope	31
26	<i>Klebsiella pneumoniaes</i> au microscope	32
27	<i>Candida albicans</i> au microscope	32
28	Rendements des extraits de <i>Pyracantha coccinea</i> exprimés en %.	43

29	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	44
30	Teneur des extraits des feuilles et des fruits en polyphénols	46
31	Courbe d'étalonnage de la quercétine	47
32	Teneur des extraits des feuilles et des fruits en flavonoïdes	47
33	Photographie des microplaques utilisées pour le test de piégeage de l'ABTS ⁺	48
34	Valeurs d'IC ₅₀ de piégeage du radical cationique ABTS ⁺ exercée par les extraits de " <i>Pyracantha coccinea</i> "	49
35	Photographie des microplaques utilisées pour le test de réduction du fer (FRAP)	50
36	Valeurs des A _{0,5} du test pouvoir réducteurs pour les extraits " <i>Pyracantha coccinea</i> "	51
37	Illustration des résultats du test de diffusion en milieu gélosé des extraits vis-à-vis la souche " <i>Escherichia coli</i> " (photos originales).	53
38	Illustration des résultats du test de diffusion en milieu gélosé des extraits vis-à-vis la souche " <i>Staphylococcus aureus</i> "(photos originales)	54
39	Illustration des résultats du test de diffusion en milieu gélosé des extraits vis-à-vis la souche " <i>Bacillus subtilis</i> " (photos originales)	54
40	Illustration des résultats du test de diffusion en milieu gélosé des extraits vis-à-vis la souche " <i>Micrococcus luteus</i> " (photos originales)	55
41	Illustration des résultats du test de diffusion en milieu gélosé des extraits vis-à-vis la souche " <i>Klebsiella pneumoniae</i> " (photos originales)	55
42	Illustration des résultats du test de diffusion en milieu gélosé des extraits vis-à-vis de champignon " <i>Candida albicans</i> " (photos originales)	56

Liste des schémas

N°	Titre	Page
1	Classification des lipides	4
2	Liaison peptidique entre deux aminoacides	5
3	Piégeage du radical ABTS^{•+} par un antioxydant	20
4	Réaction de FRAP par la réduction du fer	21
5	Étapes de préparation des différents extraits de la plante	34

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
1	Classification botanique de " <i>Pyracantha coccinea</i> "	15
2	Différentes souches microbiennes testées	32
3	Série de dilutions avec les concentrations respectives des extraits	37
4	Degré de sensibilité bactérienne en fonction du diamètre d'inhibition	40
5	Résultats des tests phytochimiques des parties aériennes de " <i>Pyracantha coccinea</i> "	44
6	Valeurs du pourcentage et des d'IC ₅₀ de l'inhibition du radicale cationique ABTS ^{•+} selon les concentrations des extraits de " <i>Pyracantha coccinea</i> "	48
7	Valeurs des absorbances en fonction de la concentration des extraits de " <i>Pyracantha coccinea</i> " obtenus à partir du test FRAP	50
8	Zones d'inhibition des micro-organismes testée par les extraits de " <i>Pyracantha coccinea</i> "	52

INTRODUCTION
GÉNÉRALE

Depuis l'antiquité et à la recherche de secours pour ses malaises, peines et blessures, l'homme s'est préconisé des remèdes dans la nature. Le début de l'emploi des plantes médicinales a été instinctifs, comme c'était le cas pour les animaux [1]. Etant donné qu'à cette ère il n'y avait pas assez d'informations, ni sur les causes des maladies, ni sur quelle plante et comment elle pouvait être utilisée comme médicament, tout reposé sur l'expérience. Avec le temps, la logique de l'utilisation de ces produits pour la médication de certaines maladies a été découverte ; de ce fait, l'usage de ces richesses naturelles a progressivement abandonné le cadre expérimental pour se fonder sur des faits explicatifs [2].

Actuellement, l'usage de ces ressources naturelles est devenu répandue en raison de l'efficacité décroissante des produits médicamenteux synthétiques, ainsi que leurs contre-indications grandissantes. Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), environ 80 % de la population mondiale en dépend en tant que remède primaire, ce qui a poussé les chercheurs à développer des méthodes pour l'extraction, l'identification et la quantification des composants contenus dans ces plantes, à étudier leur activité biologique et à les intégrer dans l'industrie cosmétique et pharmaceutique [3].

Dû à sa richesse en plantes à usages médicinales, sa biodiversité et son climat, l'Algérie est une plate-forme géographique très importante qui mérite d'être explorée dans le domaine de la recherche de nouveaux principes actifs originaires de plantes, qui ont pour longtemps servi à une grande tranche de population comme moyen incontournable de médication [4].

De ce fait, la recherche de substances naturelles extraites des plantes appartenant au territoire algérien est d'une grande importance car elle conduit à l'élaboration de nouveaux traitements thérapeutiques. Parmi ces substances qui ont suscité un grand intérêt, on trouve les polyphénols, qui sont considérés comme des molécules antioxydantes et ont un rôle important dans le traitement et la prévention des cancers, des maladies inflammatoires, des maladies cardiovasculaires en plus de leur activité antimicrobienne [5].

L'objectif de ce travail est de rechercher des principes actifs contenus dans "*Pyracantha coccinea*" de la famille des Rosacées et originaire de la wilaya de Tipaza qui se situe au nord de l'Algérie et d'étudier l'activité antioxydante et antimicrobienne des différents extraits obtenus à partir de ses parties aériennes.



En plus d'une introduction générale et d'une conclusion avec présentation des perspectives, notre travail s'articule autour de trois parties :

La première partie de l'étude renferme une synthèse bibliographique qui inclut deux chapitres. Le premier chapitre est consacré à un rappel sur les plantes médicinales (compositions, classifications et applications). Dans le deuxième chapitre, nous avons élaboré l'identification botanique de la plante investiguée avec un rappel de quelques activités biologiques comme l'activité antioxydante et l'activité anti microbologique.

La deuxième partie est dédiée à la partie expérimentale de notre travail. Cette partie est subdivisée en deux chapitres : le premier chapitre décrit le matériel et les méthodes utilisés et qui porte sur :

- ✓ Un screening phytochimiques effectué sur les différentes parties de la plante.
- ✓ La préparation des différents extraits suite à l'extraction de la matière végétale et la préparation des souches microbiennes envisagées pour les tests antimicrobiens.
- ✓ Un dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes.
- ✓ Une étude de l'activité antioxydante des extraits de cette plante par deux méthodes, la réduction de fer (FRAP) et le piégeage du radical cationique ABTS^{•+}.
- ✓ Une étude de l'activité antibactérienne et antifongique.

Le deuxième chapitre de cette partie est consacré à la mise en évidence et à la discussion des résultats obtenus au cours de cette étude.

RÉFÉRENCE BIBLIOGRAPHIQUE

- [1] N. Stojanoski, "Development of health culture in Veles and its region from the past to the end of the 20th century," *Veles: Society of science and art*, vol. 13, 1999.
- [2] Á. Máthé, *Medicinal and aromatic plants of the world*: Springer, 2015.
- [3] H. Kallassy, "Phytochemistry and biological activities of selected Lebanese plant species (*Crataegus azarolus* L. and *Ephedra campylopoda*)," 2017.
- [4] C. Kandouli, A. Mechakra, and S. Piertri, "Etude des propriétés antidiabétiques, antioxydantes et antiinflammatoires des extraits hydrosolubles d'*Anvillea radiata*Coss. & Dur. Sur le diabète de type 2 expérimental induit par le régime (high fat) chez la souris C57/BL6J," 2018. المنطوري قسنطينة جامعة الإخوة
- [5] N. Bougandoura, N. J. N. Bendimerad, and Technology, "Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq," p. 14, 2013.



PARTIE

BIBLIOGRAPHIQUE

PLANTES MÉDICINALES



I. PLANTES MEDICINALES

Les plantes médicinales ou pharmaceutiques sont celles qui ont fait l'objet d'études en utilisant des techniques différentes et employée dans la fabrication des médicaments [1]. Ces ressources pures constituent une richesse précieuse pour l'humanité, elles sont des usines chimiques naturelles, fabriquant des substances actives biochimiques tel que les alcaloïdes, les huiles essentielles, les flavonoïdes, les tanins...etc. [2]. Malgré les progrès de la pharmacologie, l'utilisation thérapeutique des plantes médicinales est largement répandue dans certains pays du monde, en particulier dans les pays du tiers monde [3]. Les plantes médicinales largement disponible, font partie de la vie courante de l'homme pour satisfaire ses besoins vitaux, comme la nourriture et les médicaments [4]. La figure ci-dessous représente l'emploi des plantes médicinales dans la phytothérapie.



Figure 01 : Utilisation des plantes médicinales dans la phytothérapie.

I. 1. Composition

Comme connu universellement, les plantes synthétisent de nombreux composés appelés métabolites primaires, comme les protéines, les lipides et les glucides qui garantissent leurs existence et qui peuvent être aussi employés comme excipients dans la fabrication des formes médicamenteuses et d'autres molécules servant à la défense contre les agents pathogènes et que l'homme utilise dans son arsenal thérapeutique connu au nom de métabolites secondaires [5].

I. 1. 1. Métabolites primaires

Un métabolite naturellement présent dans les cellules, est un produit intermédiaire des réactions du métabolisme stimulées par différentes enzymes. Les métabolites primaires sont fabriqués par la cellule parce qu'ils sont nécessaires à sa croissance. Les facteurs principal pour cela sont les acides aminés, l'alcool, les vitamines (B2 et B12) et les acides organiques de polyols, ainsi que les nucléotides (Guanosine-5'-monophosphate et la inosine-5'-monophosphate) [6]. Cette catégorie de métabolites comporte : les lipides, les peptides et les glucides.



I. 1. 1. 1. Lipides

Les lipides sont des substances organiques constituant les corps gras, c'est-à-dire des molécules hydrophobes insolubles dans l'eau et solubles dans les solvants organiques apolaires tel que : le benzène et le chloroforme. Similaire aux glucides, ils sont présents sous forme simples ou complexes. Tous les lipides comprennent le carbone, l'hydrogène et l'oxygène. Dans quelques lipides complexes, on trouve du phosphore [7]. La figure ci-après représente un exemple de lipide.

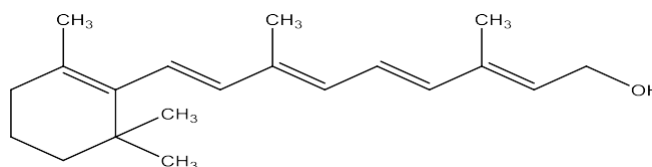


Figure 02 : Exemple de lipide.

Ces composés sont classés en deux grandes catégories : les lipides à base d'acides gras et ceux à base d'isoprène (Lipides polyisopréniques), comme le représente le schéma 01.

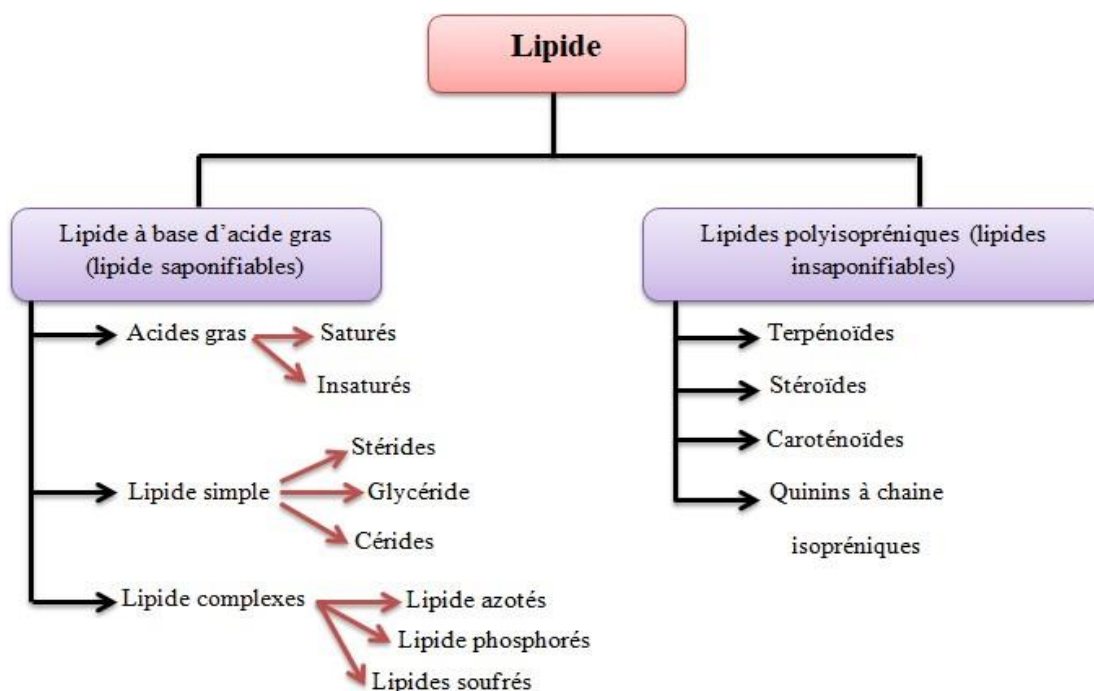


Schéma 01 : Classification des lipides.

I. 1. 1. 2. Peptides

Les peptides sont des polymères hétérogènes constitués d'acides aminés (Figure 03), liés entre eux par des liaisons appelées liaisons peptidiques. Ces liaisons se font selon une réaction de condensation entre un groupe carboxyle d'un acide aminé et un groupe aminé de l'autre acide. La définition du terme peptide en fonction de la longueur de la chaîne est quelque peu vague. La longueur



généralement acceptée pour ces molécules varie de deux à quelques dizaines d'unités [8].

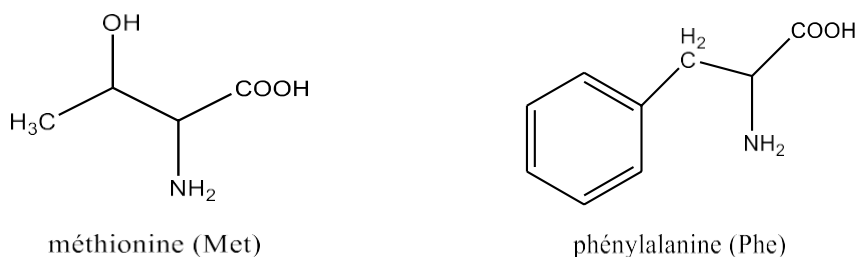


Figure 03 : Exemples d'acides aminés.

La liaison peptidique est une liaison amide, constituée par déshydratation entre deux acides aminés (AA) transportés par les ARNt. Elle est composée de 4 atomes : C, O, N et H. Le schéma 02 montre un exemple d'une liaison peptidique.

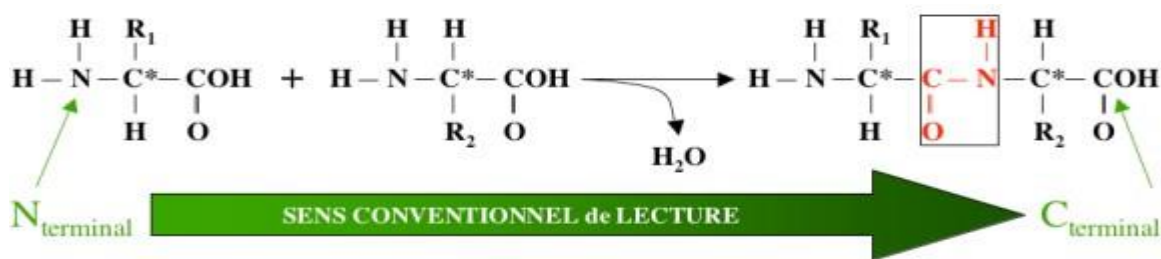


Schéma 02 : Liaison peptidique entre deux aminoacides.

I. 1. 1. 3. Glusides

Les glusides sont des composés organiques qui peuvent être naturels ou synthétiques et qui se composent principalement de carbone (C), d'hydrogène (H) et d'oxygène (O). Ces molécules organiques appelés aussi "hydrates de carbone" en raison de la composition brute : $C_n(H_2O)_n$ [9], sont caractérisées par la présence de chaîne de carbone porteuse des groupes hydroxyle, des fonctions aldéhyde ou cétone et éventuellement des fonctions carboxyliques ou amines. Ils comportent des sucres simples ou des monosaccharides et des sucres avec leurs dérivés. Ces composés sont les principaux nutriments de la plupart des êtres vivants, en particulier sous forme de glucose. Ils fournissent l'énergie et les carbonates nécessaires à la biosynthèse des protéines, des acides nucléiques, des graisses, des hydrates de carbone entre autres [10]. La figure 04 illustre des exemples des glucides

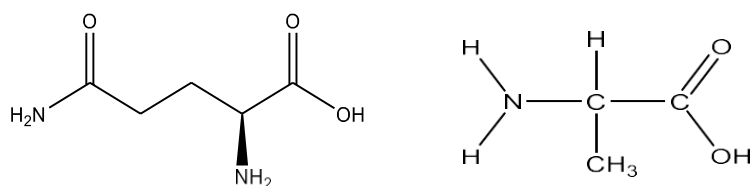


Figure 04 : Exemples des glucides.



I. 1. 2. Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules synthétisées dans une partie de la plante et stockés dans une autre [11]. Ils existent en très grand nombre et d'une variété structurale extraordinaire avec une structure complexe. Ces composés possèdent un très large éventail d'activités en biologie humaine [12].

I. 1. 2. 1. Composés phénoliques

Ces composés représentent les molécules organiques les plus distribués dans le règne végétal. Les plus connus d'entre eux sont : les acides phénoliques, les coumarines, les flavonoïdes, les tanins, les quinones...etc.

a) Acides phénoliques

Les acides phénoliques sont des composés organiques possédant au moins un groupe carboxyle et un groupe hydroxy-phénolique. Ces acides sont largement présents dans les aliments et sont divisés en deux catégories : les dérivés de l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique. Les acides hydroxy-cinnamiques sont plus présents que les acides hydroxy-benzoïques et comprennent principalement les acides coumariques [13].

b) Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments très répandus chez les végétaux les plus répandus dans la nature [14]. En effet, plus de 36.000 structures différentes ont été identifiées. Ils existent plus de 9000 différents flavonoïdes du même squelette de base qui se composent de quinze atomes de carbone, constitué de deux noyaux benzéniques A et B accolés par un cycle pyranique central C. Ces composés se différencient entre eux par la nature de cycle C et les radicaux sur les noyaux A et B. Il y a plusieurs classes de flavonoïdes : les flavones, les flavonols, les flavan-3-ols, les isoflavones, les flavanones et les anthocyanidines [15]. La figure 05 illustre la structure de base des flavonoïdes

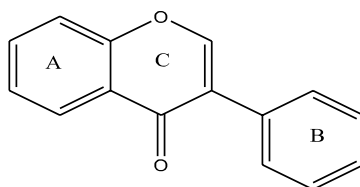


Figure 05 : Structure des flavonoïdes.

c) Tanins

Les tanins représentent un groupe de substances phénoliques polymériques. En plus de leurs capacités de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines [16], ces molécules à saveur



astringente ont aussi la propriété de tanner la peau. Leur poids moléculaire est compris entre 500 et 3000 g/mol [17]. On trouve ces substances dans de nombreux végétaux ; elles sont présentes dans les plantes qui font partie des familles des conifères, des fagacées et des rosacées [18]. On distingue deux groupes de tanins différents par leurs structures et également par leurs origines biogénétiques :

➤ Tanins condensés

Les tanins condensés sont des polymères d'unité flavonoïdes que leurs monomères précurseurs sont les flavan-3-ols (catéchine) et/ou les flavan-3,4-diols (leuco-anthocyanidines), liés entre eux par des liaisons carbone-carbone très résistantes à l'hydrolyse. Ces composés appelés aussi pro-anthocyanidines, ont la propriété de libérer des anthocyanes en milieu acide à chaud par rupture de la liaison inter monomérique [19]. La figure suivante représente la structure d'un exemple de tanins condensés.

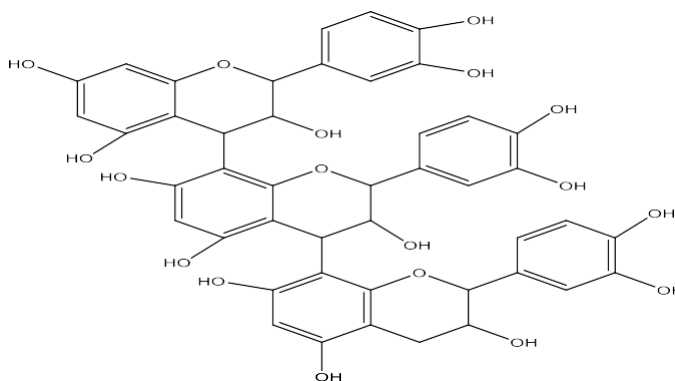


Figure 06 : Exemple d'une structure de tanins condensés.

➤ Tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables sont des esters de glucides ou d'acides phénols, la partie glucidique est en général du glucose, mais dans certains cas des polysaccharides. Comme leur nom l'indique, ces substances s'hydrolysent facilement en milieux acides et alcalins, ou sous l'action d'enzymes (telle que la tannase), pour donner des glucides et des acides phénoliques [20]. Cette catégorie de tanins se divise en deux types (figure 07) : Les tanins ellagiques qui sont des esters d'oses et d'acides ellagiques et les tanins galliques qui sont des esters d'oses (glucose) et d'acides galliques [21, 22]. La figure ci-dessous illustre la structure de deux types des tanins

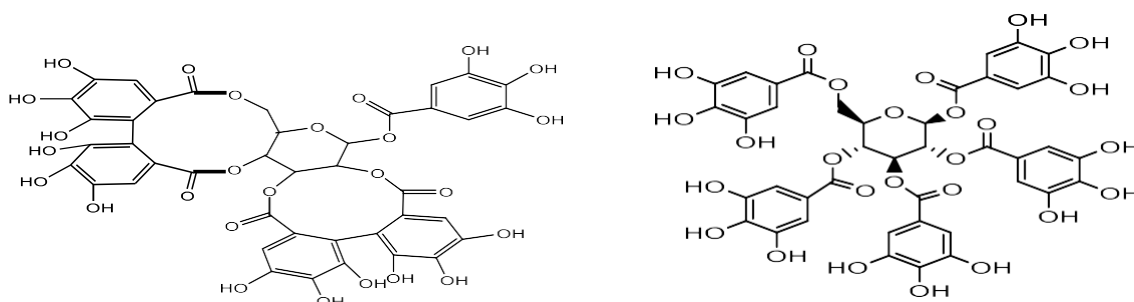
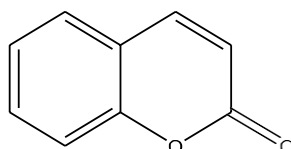


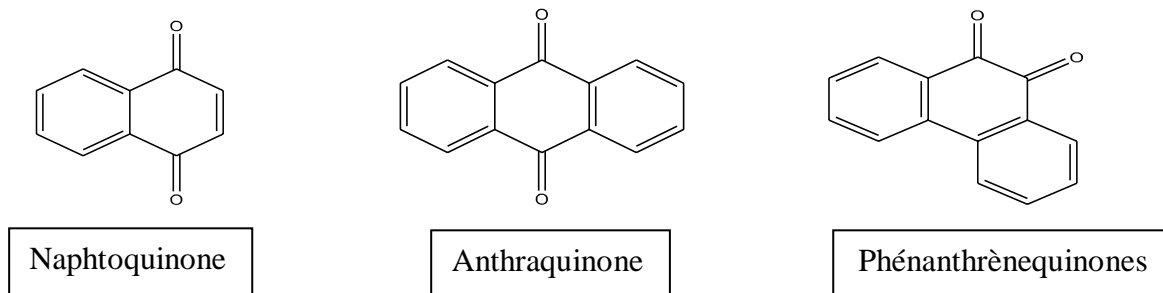
Figure 07 : Tanins ellagiques et tanins galliques.**d) Coumarines**

Les coumarines sont des composés qui représentent une classe importante des produits naturels. Leur structure de base comporte un noyau benzo (2H)-1 pyrannone, présentant une fonction cétone en position α par rapport à l'oxygène. Ces composés possèdent diverses propriétés biologiques : antivirale, sédative, vasodilatateurs et antihypertenseurs, comme ils peuvent être utile en cas de pathologies cutanées [12, 23]. Les coumarines se divisent en deux groupes : coumarines simples et coumarines complexe :

- **Coumarines simples** : Dans ces molécules, le cycle benzénique est caractérisé par des radicaux qui peuvent être des dérivés hydroxylés, méthoxylés, alkylés, alcoxylés ou glycosylés de la molécule mère.
- **Coumarines complexes** : Ces molécules, se composent d'un noyau pyrane ou furane accolé au noyau benzo- α -pyrone [12]. La figure du bas exprime la structure de bases des coumarines.

**Figure 08 :** Structure de base des coumarines.**e) Quinones**

La structure des quinones contient deux groupements carbonyles issus de l'oxydation d'un système aromatique caractérisé par deux structures de base ; les para-benzoquinones et les ortho-benzoquinones qui peuvent aussi se trouver au sein des systèmes polycycliques (Naphtoquinones, anthraquinones, phénanthrènequinones, etc...). Les quinones manifestent diverses activités biologiques : antimicrobien, fongicides et antivirales [24]. La figure suivante montre quelques motifs des quinones.

**Figure 09 :** Quelques motifs quinoniques.

Ce sont des pigments présents chez les végétaux appartenant à la famille des flavonoïdes. Ces molécules capables d'absorber la lumière visible sont responsables de la coloration rouge, rose, violette et bleu des plantes [25]. On peut trouver ces composés facilement solubles dans les solutions aqueuses dans les feuilles, les racines et les tiges. Leurs génines (Anthocyanidols) sont des dérivés du cation 2-phényl-benzopyrylium plus communément appelé cation flavylum [26].

g) Saponosides

Les saponosides ou saponines sont un groupe de métabolites secondaires, largement répandus dans certaines familles du règne végétal. Ils sont principalement produits par les plantes supérieures, mais aussi par de faible nombre d'animaux marins et certaines bactéries. Leur nomination vient du latin "*Sapo*" qui signifie "savon", en raison de leurs propriétés à former des solutions mousseuses en présence d'eau. Ce sont des variantes de haut poids moléculaire qui se composent d'une partie lipophile, un aglycone (Ou genin) et une partie osidique hydrophile. Cette combinaison d'éléments structurels polaires et non polaires dans leurs molécules explique leur comportement moussant dans une solution aqueuse [27]. La figure 10 représente une structure d'un saponoside.

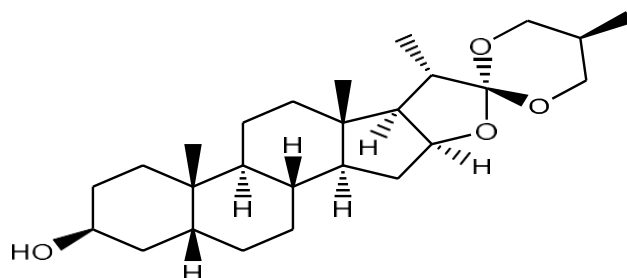


Figure 10 : Structure des saponosides.

h) Alcaloïdes

Ce sont des composés organiques qui représentent un groupe fascinant de produits naturels, azotés et amers aux propriétés physiologiques distinctes, même à faibles doses [12]. Ces composés constituent l'un des plus grands groupes, environ 10000 à 12000 composés avec une structure moléculaire complexe plus ou moins basique. Les alcaloïdes possèdent une activité pharmacologique significative [28]. À des doses élevées, la plupart des alcaloïdes sont hautement toxiques ; cependant, à faibles doses, ils peuvent avoir une valeur thérapeutique [29]. La figure 11 représente quelques exemples d'alcaloïdes.

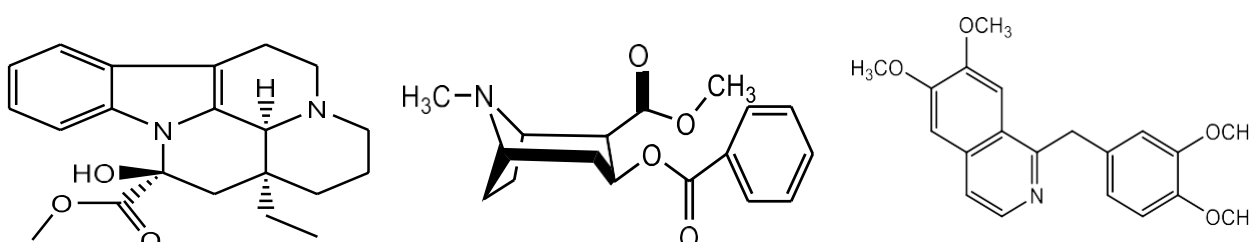
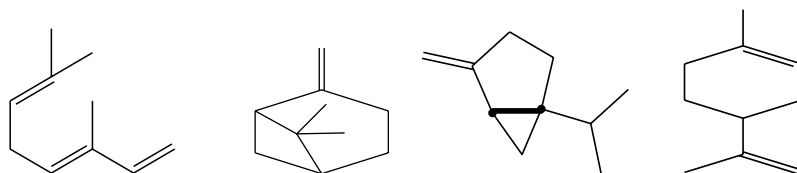
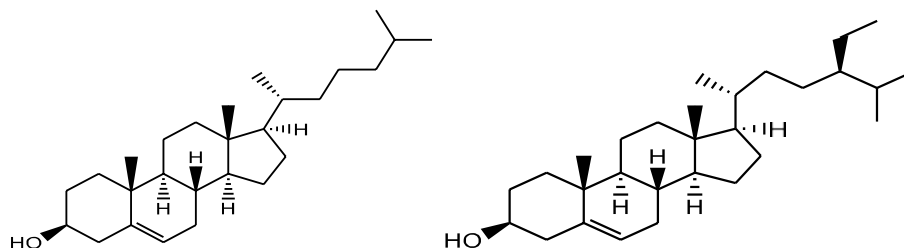


Figure 11 : Quelques exemples d'alcaloïdes.**i) Terpènes et stérols****➤ Terpènes**

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, cycliques ou à chaîne ouverte, comportant un nombre de doubles liaisons correspondant à leur formule brute ; trois pour $C_{10}H_{16}$; cinq pour $C_{20}H_{32}$; sept pour $C_{30}H_{48}$, comme ils peuvent être des polymères de l'isoprène de formule brute $(C_5H_8)_n$. Ces composés décrivent un groupe de substances qui ont un squelette avec une ou plusieurs fonctions chimiques (Alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone, etc.). Les terpènes sont les constituants principaux des huiles essentielles, largement utilisées dans la production des produits cosmétiques et surtout dans la parfumerie à cause de la partie responsable de l'odeur contenue dans ces molécules [30]. La figure ci-après mentionne quelques exemples des terpènes

**Figures 12 :** Quelque exemple de terpènes.**➤ Stérol**

Ce sont des substances stéroïdiques naturelles qui contiennent un noyau polycyclique portant une fonction alcool [31]. Le stérol (Figure 13) est un composant des membranes cellulaires qui jouent un rôle très important dans leur perméabilité et leur prolifération [31, 32].

**Figure 13 :** Quelques motifs de stérols.**I. 2. Applications**

Grâce à leur disponibilité, leur biodégradabilité et leur efficacité ; les plantes médicinales sont des candidats prometteurs pour diverses applications tel que la pharmacologie, la production des produits cosmétiques, dans l'alimentation, l'inhibition de la corrosion, ect). En outre, leur emploi peut jouer un rôle important dans l'économie des états, en particulier les pays sous-développés qui



peuvent remplacer l'importations de certains produits en provenance des pays développés et par conséquent bien gérer leurs patrimoine national.

I. 2. 1. En tant que médicaments : Antioxydants, anti bactériennes, anti-inflammatoires... ect [33].

I. 2. 2. Dans la phytothérapie : Le mot "phytothérapie" se compose de deux parties : "phyton" destiné pour "plante" et la deuxième partie "thérapie" : ce qui signifie "traitement" [34]. La phytothérapie est basée sur l'usage thérapeutique des plantes médicinales, basé sur les connaissances traditionnelles. Son but est de prévenir ou de traiter certains troubles mineurs ou certaines maladies par les plantes, parties de plantes ou des préparations à base de plantes, si elles sont consommées ou utilisées à l'extérieur du corps [35].

I. 2. 3. En tant qu'alimentation : Assaisonnement des boissons, des colorants et des composés aromatiques...etc. Les épices et les herbes aromatiques utilisée dans l'alimentation sont considérée comme condiments et aromates [33].

I. 2. 4. En tant que cosmétique : Les parfums, les produits de beauté, gel nettoyant purifiant, les crèmes de corps et de la peau [33].

I. 2. 5. Corrosion

Par définition, la corrosion des matériaux est la dégradation électrochimique de la matière et ses propriétés physiques (En particulier mécaniques) sous l'influence de l'environnement. En effet, les processus de corrosion dépendent des facteurs suivants : la nature et la composition du matériau, l'environnement et la température [36]. En raison des dégâts environnementaux et des lourdes pertes économiques causé par ce phénomène ; plusieurs méthodes ont été développées pour prévenir ou retarder la corrosion des matériaux. L'un des meilleurs modes de protection de ces métaux, est d'inhibition de la corrosion dans les milieux très agressifs tels que le milieu acide chlorhydrique, en utilisant les plantes. En 1930, les extraits de la chélidoine et d'autres plantes ont été utilisés comme inhibiteur de corrosion. En 1970 et 1980, l'étude des extraits de plantes est devenue plus étendue car elles contiennent des composés à caractère non toxique, ce qui a poussé plusieurs chercheurs à orienter leur attention aux plantes (Extrait ou huile), qui assurent une puissance élevée contre la corrosion avec un coût moins cher [37-39]



RÉFÉRENCE BIBLIOGRAPHIQUE

- [1] B. Bouacherine and H. Razika, "Biodiversité et valeur des plantes médicinales dans la phytothérapie : Cas de la région de BEN SROUR (M'sila)," Université de m'sila, 2017.
- [2] R. Beladji and A. Berkane, "Etude phytochimique et évaluation des activités biologiques du polycarpon polycarpoides biologiques du polycarpon polycarpoides," 2018.
- [3] A. Sadallah and R. Laidi, "Étude Ethnobotanique de certaines plantes médicinales dans la région d'Ain bessem et Sour el ghozlane (Bouira)," Université de Bouira, 2018.
- [4] H. Boughendjioua, "Les plantes médicinales utilisées pour les soins de la peau," *Composition chimique, activité antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles de citrus limon, cinnamomum zeylanicum et thymus numidicus. Doctorat en sciences spécialité : Biologie végétale. Université Badji Moktar de Annaba*, vol. 144, pp. 125- 130, 2014.
- [5] N. R. Rebiahi, "Etude phytochimique et pouvoir antimicrobien de Mesembryanthemum crystallinum. L (Ficoïde glaciale)."
- [6] M. Dr. Tomislav Meštrović, Ph.D / Renneberg R, "Biotechnology pour des débutants.," *Elsevier*, pp. Pp. 92-138, 2008.
- [7] S. Berrada., "«biochimie appliquée dans les filieres SBSSA» Montpellier : les lipides," p. p.8, 2009.
- [8] N. Riahi, "Production de peptides synthétiques et mise au point d'échafaudages moléculaires pour le génie tissulaire," École Polytechnique de Montréal, 2017.
- [9] L. Mostefaoui, "Contribution à la description et à la compréhension de la solvation des biomolécules," 2011.
- [10] F. Benaoun, "Caractérisation structurale et potentiel biologique des polysaccharides issus de Plantago notata Lagasca (Plantaginaceae) et Urginea noctiflora Batt. Trab (Liliaceae)," 2017.
- [11] T. D. Vu, "Effet de l'environnement sur la croissance et l'accumulation de métabolites secondaires chez Datura innoxia Mill. cultivé en conditions hors sol ; impact des facteurs biotiques et abiotiques," Institut National Polytechnique de Lorraine, 2008.
- [12] A. Fettah, "Étude phytochimique et évaluation de l'activité biologique (antioxydante-antibactérienne) des extraits de la plante Teucrium polium L. sous espèce Thymoïdes de la région Beni Souik, Biskra," Université mohamed khider biskra, 2019.
- [13] K. B. Pandey and S. I. Rizvi, "Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease," *Oxidative medicine and cellular longevity*, vol. 2, 2009.
- [14] A. Lugasi, "The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases," *Acta biologica szegediensis*, vol. 47, pp. 119-125, 2003.
- [15] K. Chira, J.-H. Suh, C. Saucier, and P.-L. Teissède, "Les polyphénols du raisin," *Phytothérapie*, vol. 6, pp. 75-82, 2008.
- [16] N. Benhammou, "Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien," 2012.
- [17] P. Sarni-Manchado and V. Cheynier, "Polyphenols in food products," *Polyphenols in food products.*, 2006.
- [18] S. E. Ghestem A., Paris M., and Orecchioni A.M., "Le préparateur en pharmacie dossier 2ème Ed TEC&DOC. Paris.," p. pp275., (2001).
- [19] F. Kholkhal, "Etude Phytochimique et Activité Antioxydante des extraits des composés phénoliques de Thymus ciliatus ssp coloratus et ssp euciliatus," 2014.
- [20] C. U. de Tissemsilt, "L'effet de Punica granatum sur la flore gastrique ; etude in vitro et in vivo chez le rat," Université de Mostaganem, 2019.



- [21] J. Bruneton, "Pharmacognosie, Phytochimie–Plantes médicinales–. 3ème Ed Techniques et documentations," *Paris. pp*, pp. 227-310, 1999.
- [22] E. Atefeibu, "Contribution à l'étude des tanins et de l'activité antibactérienne de *Acacia nilotica* var *adansonii*," Thèse de pharmacie Université de Cheikh Anta Diop de Dakar, Sénégal, 37p, 2002.
- [23] A. Didi, "Étude de l'activité antioxydante des flavonoïdes de l'*Arbutus unedo* et du *Dapline gaidium* L. de la région de Tlemcen," 2009.
- [24] T. Besset, "Synthèse d'un podocarpane fonctionnalisé et préparation d'hétéroquinones pour l'inhibition de phosphatases et de réductases," 2009.
- [25] A. Bessas, L. Benmoussa, and M. Kerarma, "Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltés dans le sud Algérien," *Diplôme d'Ingénieur d'Etat en biologie, faculté des sciences, Université Djillah Liabes, Sidi Bel Abbes, Algérie*, vol. 81, 2008.
- [26] S. Fatiha, "Pharmacognosie," 2020.
- [27] S. Betina-Bencharif, "Isolement et caractérisation de saponosides extraits de deux plantes médicinales : *Cyclamen africanum*, *Zygophyllum cornutum* et évaluation de leur activité anti-inflammatoire," 2014.
- [28] J. Stöckigt, Y. Sheludko, M. Unger, I. Gerasimenko, H. Warzecha, and D. Stöckigt, "High-performance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrophoretic–electrospray ionisation mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups," *Journal of chromatography A*, vol. 967, pp. 85-113, 2002.
- [29] S. B. Benghanem, "L'étude phytochimique et l'extraction des alcaloïdes du plante *Rosmarinus officinalis* L.," Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila, 2010.
- [30] A. Madi, "caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (thym et sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques," *Research Master, Mentouri Constantine University, Constantine*, 2010.
- [31] J. Bruneton, "Pharmacognosie : phytochimie plantes médicinales," 1993.
- [32] S. Rahal, "Chimie des produits naturels et des êtres vivants," 2004.
- [33] A. Boukezata, "La Composition chimique et l'activité antibactérienne d'une plante Algérienne (*Bunium Incrassatum*)," 2015.
- [34] S. Feknous, F. Saidi, and R. M. Said, "Extraction, caractérisation et identification de quelques métabolites secondaires actifs de la mélisse (*Melissa officinalis* L.)," *Nature & Technology*, p. 7, 2014.
- [35] K. Bellamine, "La phytothérapie clinique dans les affections dermatologiques," 2017.
- [36] C. Vargel, M. Jacques, and M. Schmidt, "Chapter B. 1-The Corrosion of Aluminium," in *Corrosion of Aluminium*, ed: Elsevier Amsterdam, 2004, pp. 81-109.
- [37] S. Boudiba, K. Hanini, I. Selatnia, A. Saouane, S. Hioun, and M. Benahmed, "Experimental, theoretical and mathematical studies of *Echium italicum* L. extract as a corrosion inhibitor for carbon steel in acidic medium," *Materials Research Express*, vol. 6, p. 086546, 2019.
- [38] K. Hanini, B. Merzoug, S. Boudiba, I. Selatnia, H. Laouer, and S. Akkal, "Influence of different polyphenol extracts of *Taxus baccata* on the corrosion process and their effect as additives in electrodeposition," *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, vol. 14, p. 100189, 2019.
- [39] D. Benmessaoud Left, M. Zertoubi, A. Irhzo, and M. Azzi, "Revue: Huiles et extraits de plantes comme inhibiteurs de corrosion pour différents métaux et alliages dans le milieu acide chlorhydrique," 2013.





PLANTE INVESTIGUÉE
&
ACTIVITÉS BIOLOGIQUES



I. PLANTE INVESTIGUÉE

I. 1. Introduction

"*Pyracantha coccinea*" également appelé buisson ardent, est un arbuste vigoureux et intéressant tout au long de l'année, d'origine européenne et asiatique, il appartient à la famille des Rosacées. Cette plante de haies souvent utilisées pour construire des haies défensives grâce à leurs rameaux épineux, est connue pour sa résistance aux différents types de climats. Elle donne de beaux écrans de fleurs blanches en mai et juin et porte des baies sphériques orange rouge ou jaune en automne. Ses fruits et leur densité, sont la principale mesure de la beauté de ces arbustes et les fruits orange sont les plus répandus dans la région arabe. Il reste à dire que cette plante est dotée d'une valeur esthétique [1, 2]. La figure ci- après représente une photographie de la plante étudiée



Figure 14 : Photographie du *Pyracantha coccinea*.

I. 2. Origine et distribution

"*Pyracantha coccinea*" est distribué dans la région de l'Asie tempérée et celle de l'Europe (Iran, Liban, Azerbaïdjan, Turquie, Arménie, Géorgie, Ukraine, Albanie, Bulgarie, Ex-Yougoslavie, Grèce, France et Espagne) [3].

I. 3. Description botanique

Le buisson ardent est un arbuste buissonnant à rameaux épineux minces, rouge-brun atteignant 5 m de hauteur. Cet arbuste est caractérisé par des feuilles oblongues à lancéolées et une bordure dentelée, leur face supérieure de couleur vert foncé est luisante, tandis que leur



face inférieure est de couleur plus claire. Le "*Pyracantha coccinea*" donne de nombreuses fleurs blanches au printemps, suivies d'une profusion compacte de baies orange persistant pendant une partie de l'hiver [3].

I. 4. Taxonomie

"*Pyracantha coccinea*" est appelé "*Scarlet firethorn*" en anglais, "*Feuerdorn*" en allemand, "*buisson ardent*" en français et "شوك لذار لذارمزي" en arabe. Le tableau ci-dessous indique la classification botanique du "*Pyracantha coccinea*"

Tableau 01 : Classification botanique de "*Pyracantha coccinea*" [4].

Catégorie	Classement
Règne	Plantae
Sous-règne	Viridiaeplantae
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Rosidées
Ordre	Rosales
Famille	<i>Rosacées</i>
Sous-famille	Maloïdées
Genre	<i>Pyracantha</i>
Espèce	<i>Coccinea</i>
Floraison	<i>Mai-juin</i>

I. 5. ACTIVITÉS BIOLOGIQUE

I. 5. 1. Activité antioxydant

Maîtriser l'oxydation est cruciale pour gérer l'évolution des systèmes biologiques dans leur complexité, en particulier pour l'organisme vivant. Lorsqu'il y a un déséquilibre dans cette réaction, cet organisme sera exposé à plusieurs pathologies. Ce déséquilibre résulte de l'insuffisance de production d'antioxydants appartenant à cet organisme, couvrant une production excessive de radicaux libres. De ce fait un apport extérieur de produits antioxydants est indispensable. En raison du rôle très important que joue ces derniers dans la prévention des maladies chroniques, plusieurs méthodes, sont employées pour évaluer



l'activité antioxydant [5]. Pour une meilleure compréhension de ce phénomène, on va rappeler ci-dessous quelques notions de base.

I. 5. 1. 1. Radical libre

Les radicaux libres sont des molécules instables, très réactives qui possèdent des électrons non appariés. Comme toutes particules dans l'univers, ces espèces chimiques cherchent à atteindre la stabilité en arrachent des électrons de molécules voisines (Molécules antioxydantes), afin d'apparier leur électron célibataire, en rendant leurs molécules adjacentes des radicaux libres mais moins réactives. Parmi les radicaux bien connues et distinctes, il y a les espèces réactives oxygénées (ERO), comme le radical hydroxyle ($\text{OH}\cdot$), le radical superoxyde ($\text{O}\cdot_2$) et sa forme protonée ($\text{HO}\cdot_2$), le radical peroxyde ($\text{ROO}\cdot$). En plus, il y'a les espèces non radicalaires, comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), issues en quantités suffisantes de différente sources, endogènes, telle que, la chaine respiratoire mitochondriale qui contribue à leur génération, avec 90% dans la cellule, ou exogènes, telle que, les rayonnements ultraviolets, qui sont capables de produire des anions superoxydes et l'oxygène singulet [6, 7].

I. 5. 1. 2. Stress oxydant

Comme mentionné plus haut, la perturbation entre la production des espèces radicalaires réactives et la capacité antioxydante de l'organisme, conduit à un phénomène connu sous le nom de stress oxydatif. Ce dernier est produit à cause des facteurs exogènes environnementaux pro-oxydants comme la pollution, les radiations, les solvants toxiques, la consommation du tabac, la prise exagérée des médicaments, ainsi que la surproduction endogène d'agents pro-oxydants d'origine inflammatoire. La survenue de ce phénomène, provoque de nombreuses maladies ainsi qu'un vieillissement prématuré et la mort cellulaire [8, 9].

I. 5. 1. 3. Antioxydants

Les antioxydants sont des composés qui ralentissent, ou stoppent le processus d'oxydation, en réduisant les radicaux libres libérées en grandes quantités dans le corps. Ces molécules sont bien connues pour participer à l'élimination des espèces radicalaires et ainsi régularise l'équilibre redox cellulaire. En plus des antioxydants synthétiques, les antioxydants naturels proviennent de deux sources, l'une enzymatiques et l'autre non enzymatiques [10].



a) Antioxydant enzymatique

Le corps humain sécrète des enzymes antioxydantes qui l'aident à se défendre contre le stress oxydatif. Ce sont des systèmes de défense très efficaces. Les principales enzymes antioxydantes sont : le superoxyde dismutase, la glutathion peroxydase et la catalase [10].

➤ **Superoxyde dismutase (SOD)**

Les SOD sont des métallo-enzymes (Enzymes utilisant des métaux, telle que le manganèse, le cuivre, ou le zinc comme cofacteurs), présentes dans presque toutes les cellules aérobies et en liquide extracellulaires. Ces enzymes jouent un rôle de catalyseur pour la dismutation de l'anion superoxyde, en eau oxygénée, comme le montre l'équation suivante [8] :

**Glutathion peroxydases (GPx)**

La GPx est une enzyme présente dans le cytosol, elle catalyse la réduction du H_2O_2 en H_2O en présence de la glutathion réduit (GSH). Lors de cette réaction la glutathion réduit la GSH en glutathion-disulfure (GSSG) comme le montre l'équation ci-dessous [8] :

➤ **Catalase**

C'est une enzyme intracellulaire présente dans les peroxysomes, dans la plupart des cellules eucaryotes. Elle est surtout présente au niveau des globules rouges et du foie. Comme l'explique la réaction ci-dessous, cette enzyme cible le H_2O_2 et le transforme en O_2 et H_2O [11].

**b) Antioxydant non enzymatique**

Ce groupe contient des molécules non enzymatiques qui agissent, en piégeant les radicaux et en neutralisant l'électron non apparié. Il est à noter que le corps ne produit pas naturellement ces molécules, il doit donc les procurer à partir de sources externes, comme les aliments ou les compléments. Les antioxydants à activité non enzymatiques se classe à leur tour en 4 groupes : les caroténoïdes, les vitamines E et C, les oligo-éléments et les polyphénols [12].



➤ Caroténoïdes

Ce sont des substances lipophiles synthétisées dans les organismes photosynthétiques (Procaryotes et eucaryotes), qui peuvent piéger l'oxygène singulet O^{\cdot} [10]. L'être vivant doit se procurer ces substances à partir de l'alimentation animale ou végétale. Il existe plusieurs composés différents qui sont considérés comme des caroténoïdes principaux dans le sang : α -carotène, β -carotène et lycopène, en plus des lutéine, zéaxanthine et cryptoxanthine [13].

➤ Vitamine E

La vitamine E (α -tocophérol), est un antioxydant principal, présent en abondance dans les milieux lipidiques (Membrane plasmique, lipoprotéine). Cette vitamine peut neutraliser ou réduire les dommages des lipides existant dans les membranes cellulaires, causés par les radicaux libres [8]. La vitamine E appartient à une famille des tocophérols structurellement similaire à quatre composés de la famille des tocotriénols. Le nombre et la position des groupements méthyles sur le cycle aromatique (Figure 15), sont responsable de la désignation α , β , γ ou δ [14].

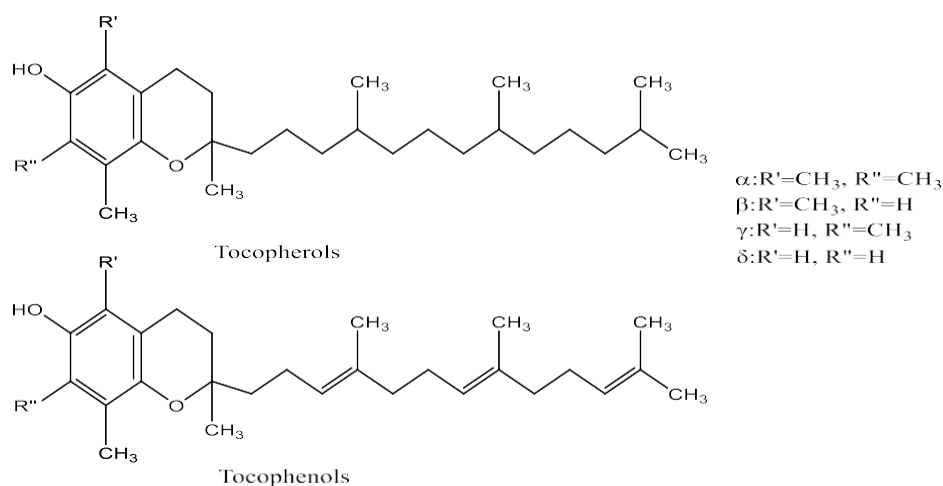


Figure 15 : Structure de vitamine E [15].

➤ Vitamine C

La vitamine C appelé aussi acide ascorbique, est une molécule hydrosoluble localisée dans les fluides de l'organisme vivant, qui empêche et inhibe l'action des ERO (majoritairement $l'O_2^{\cdot}$ et $l'OH^{\cdot}$) [10]. Structurellement elle se caractérise par la présence de deux fonctions alcool, responsables de son activité biologique. Lorsqu'elle est oxydée, elle se transforme en acide déhydroascorbique, ces deux étant présentes dans le sang, avec des



proportions différentes (La déhydroascorbique : de 5 à 20% et l'acide ascorbique : de 80 à 95%) [16]. La figure ci-après représente la structure de la vitamine C.

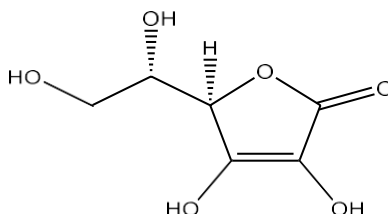


Figure16 : Structure de vitamine C.

➤ Oligoéléments

Les oligoéléments sont des éléments inorganiques appartenant aux métaux, qui se trouvent dans l'organisme en très petite quantité (de l'ordre du milligramme), dans l'alimentation. Ces composés représentent une source indispensable au fonctionnement de nombreux systèmes enzymatiques et hormonaux, pour l'élimination de la production excessive des radicaux libres. Parmi les oligoéléments qui participent dans l'activité antioxydants, nous citerons essentiellement, le sélénium, le cuivre, le manganèse et le zinc [17].

c) Antioxydants synthétiques

Les antioxydants naturels sont fournis en quantité insuffisante par l'organisme, la raison pour laquelle, il y'a une nécessité de production de ces molécules synthétiquement, autant pour l'organisme, que pour être utiliser comme conservateurs, ou additifs dans les produits alimentaires et cosmétiques, afin d'éviter la rancidité. Parmi les molécules qui sont les plus fréquemment utilisés, on a le butyl-hydroxy-anisole (BHA), butyl-hydroxy-toluène (BHT) le tertiarybutylhydro-quinone (TBHQ) le 2,4,5-trihydroxybutyrophenone (THBP), le di-tertbutyl-4-hydroxyméthyl- phénol (IONOX-100), la gallate de propyle (PG), la gallate d'octyle (OG), l'acide nordihydro-guaiaretique (NDGA) et le 4-hexylresorcinol (4HR) [18].

I. 5. 1. 4. Méthodes d'évaluation *in-vitro* de l'activité antioxydante

Les différentes méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante d'un composé, sont présentées après examen du contexte et des mécanismes d'oxydation. L'activité antioxydante est évaluée soit par le dosage des produits formés, par des techniques photométriques plus ou moins directes, soit par la mesure de l'efficacité du composé à piéger des radicaux libres. Plusieurs méthodes sont employées pour l'évaluation de cette activité à savoir : le piégeage du



radical cation ($\text{ABTS}^{\bullet+}$) [19], le piégeage du radical stable libre DPPH \bullet (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) [20-22], la mesure de l'aptitude à réduire Fe^{3+} en Fe^{2+} par la méthode de FRAP [19, 23], la méthode automatisée, de la capacité d'absorbance de l'oxygène radicalaire (ORAC) [20], entre autres.

a) Piégeage du radical cation ($\text{ABTS}^{\bullet+}$)

C'est une méthode de décoloration des cations radicalaires. Le test utilise la réduction du radical cationique $\text{ABTS}^{\bullet+}$ de couleur bleu/vert, en ABTS (acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline6-sulfonique) incolore, par piégeage d'un proton des échantillons testés. La diminution de cette coloration est mesurée par spectrophotométrie à 734 nm. L' $\text{ABTS}^{\bullet+}$ est produit par l'oxydation de l'ABTS avec le persulfate de potassium ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$), cette réaction nécessite un temps long avant l'essai (jusqu'à 16 heures). Le principe de ce test est incarné dans la réaction suivante [24].

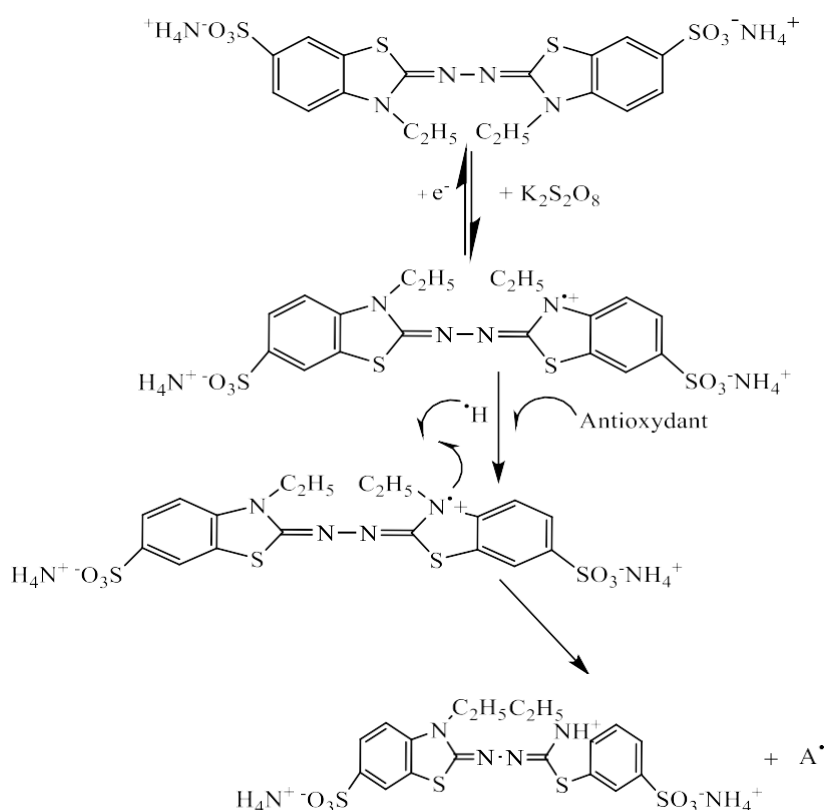


Schéma 03 : Piégeage du radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ par un antioxydant [19].

b) Réduction du fer par la méthode de FRAP (Ferric reducing antioxidant power)

Cette méthode est une méthode colorimétrique, basée sur la capacité des antioxydants



présents dans les produits testés à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) du complexe ferricyanure en fer ferreux (Fe^{2+}), cette réaction se traduit par le virage de la couleur jaune du ferricyanure de potassium vers, à la couleur bleu verte du fer ferreux (Fe^{2+}). L'intensité de cette coloration est mesurée par spectrophotomètre à une longueur d'onde de 700 nm [10]. Le schéma réactionnel de cette méthode est expliqué ci-après [25] :

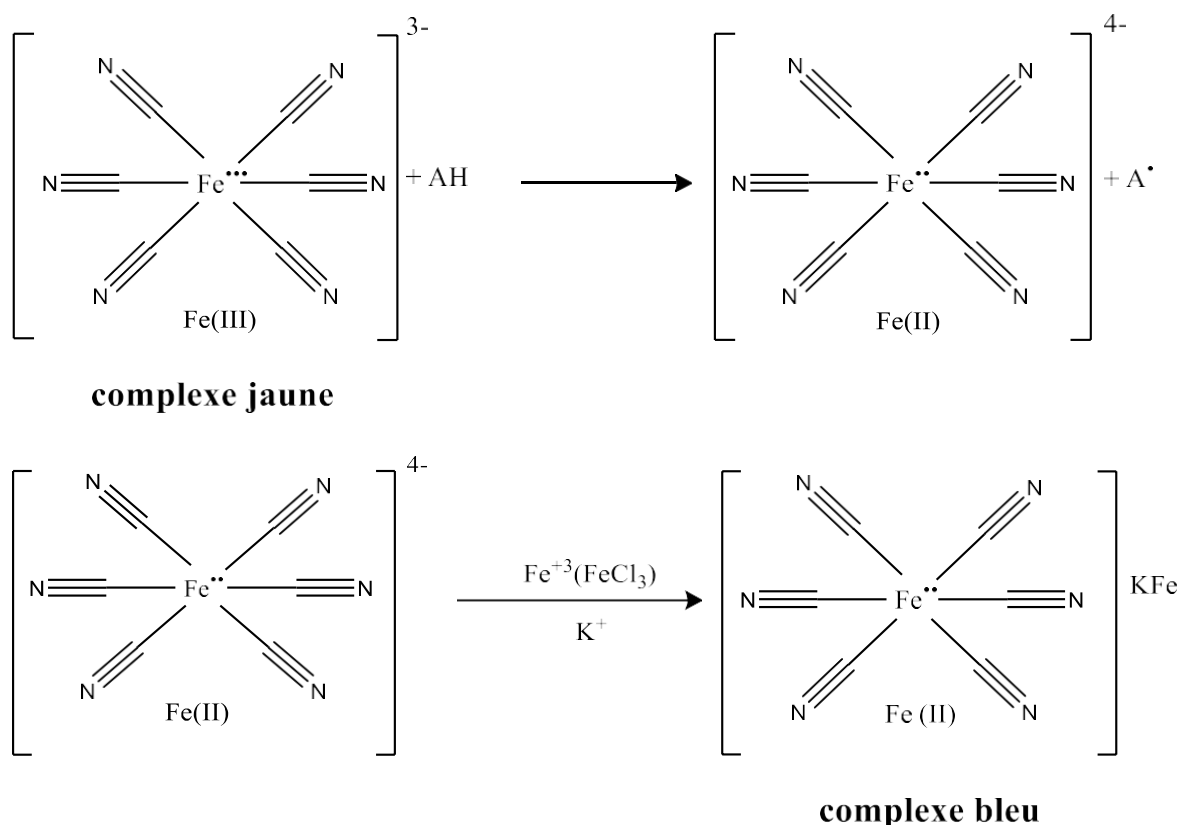


Schéma 04 : Réaction de FRAP par la réduction du fer.

I. 5. 2. Activité antimicrobienne

Les plantes médicinales riches en métabolites secondaires, demeurent la source la plus importante de molécules utilisées dans la découverte, la conception et la production des produits pharmaceutiques. Cette source est considérée comme une alternative naturelle qui peut remplacer les antibiotiques [26, 27]. À cet égard, des recherches approfondies ont été menées, pour évaluer l'effet antimicrobien des huiles essentielles et des extraits de plantes, qui ont exhibées leur capacité à inhiber la croissance de divers micro-organismes pathogènes et à lutter contre la résistance de ces derniers [28]. La figure suivante exprime la méthode d'évaluation de l'activité antimicrobienne.





Figure 17 : Photo représentative de l'activité antimicrobienne.

I. 5. 2. 1. Bactéries

Les bactéries forment un groupe étonnamment complexe et brillant. Ce sont des microbes unicellulaire, aérobie ou anaérobie, visible au microscope et appartenant à une zone de transition entre le règne animal et le règne végétal. Ces êtres appelés aussi procaryotes ne contiennent pas les noyaux et on les trouve habituellement dans un très grand nombre, car ils peuvent se reproduire rapidement. Bien que les bactéries soient microscopiques, elles existent sous différentes formes et sont constitués d'un protoplasme contenant des granules et des vacuoles. Les plus courants sont les tiges, la coccidiose (circulaire) et les spirochètes. Ils peuvent être grands, petits, longs, courts ou même un ovale plus épais. En présence d'ADN circulaire contenu dans le cytoplasme, de nombreuses bactéries comprennent une autre structure d'ADN chromosomique connue sous le nom de plasmide, entouré d'une paroi complexe et contenant souvent des flagelles [29]. La figure suivante représente la structure des bactéries.



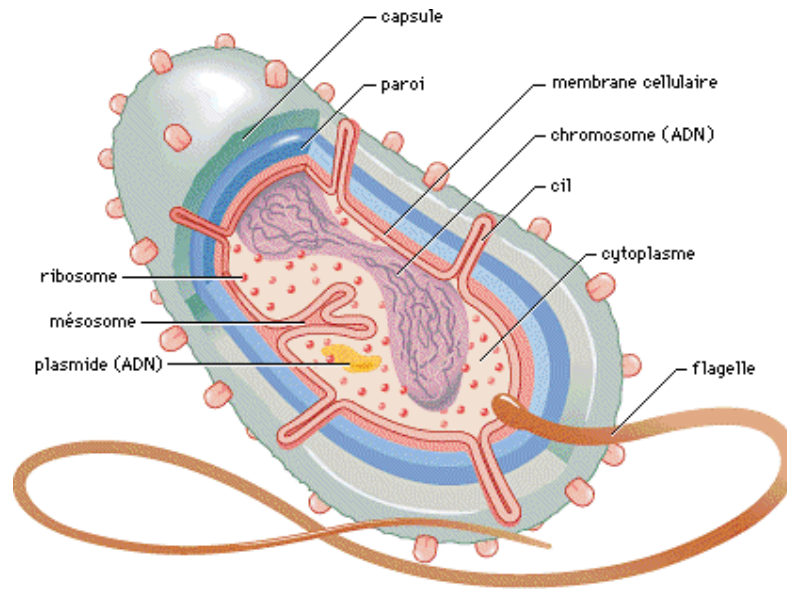


Figure 18 : Structure des bactéries.

Les bactéries peuvent être divisées en deux groupes (gram-positives et gram-négatives). La différence entre les deux groupes, réside dans les composants de la paroi cellulaire. Les bactéries aux gram-négatives sont des microorganismes à résistance élevée, par rapport aux bactéries gram-positives. Grâce à l'action de certains composés et à la présence d'une couche de lipopolysaccharides (LPS) dans les bactéries gram-négatives, ces micro-organismes peuvent agir comme une barrière efficace contre toute molécule biologique entrante [9]. La figure suivante illustre cette différence

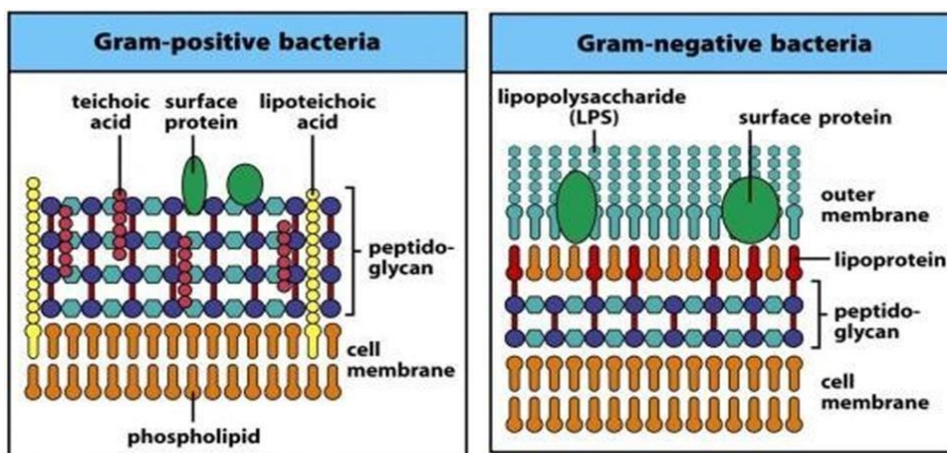


Figure 19 : Comparaison entre bactérie a gram négative et bactérie a gram positive.



I. 5. 2. 2. Antibiotique

Il s'agit d'une substance antibactérienne produite par des micro-organismes (champignons et bactéries), ou par synthèse chimique, capable d'inhiber ou de détruire la reproduction des micro-organismes [30]. Le traitement des infections bactériennes dépend principalement de l'utilisation d'antibiotiques. La prescription généralisée et parfois inappropriée de ces facteurs, peut conduire à de multiples souches résistantes aux médicaments, d'où l'importance de diriger la recherche vers la découverte de nouvelles voies qui inspirent de nouveaux médicaments à base de plantes [31]. L'utilisation d'antibiotiques dans la grande majorité des cas conduit à la sélection de groupes microbiens résistants. Cette résistance est le résultat de mutations dans les chromosomes ou de l'acquisition de gènes de résistance portés par les éléments génétiques mobiles (Plasmides, phages, transposons et intégrons). Cette résistance a conduit à la recherche de nouveaux agents antibactériens plus efficaces que les drogues synthétiques, acceptables par l'organisme (Sans effets néfastes sur la santé humaine) [32, 33].

I. 5. 2. 3. Champignons

Les champignons, également appelés mycètes, sont des organismes eucaryotes mono ou multicellulaires comprenant des espèces macroscopiques, également appelés "macromycètes", et des espèces microscopiques appelés "micromycètes", qui ont un aspect filamenteux ou de type levure. Ce deuxième groupe appartient aux moisissures et aux levures, qui peuvent être pathogènes pour l'homme. Ces microorganismes s'avèrent également nécessaire à la production de certains principes actifs pharmaceutiques [34]. La figure microscopique ci-dessous représente un bouquet de champignons

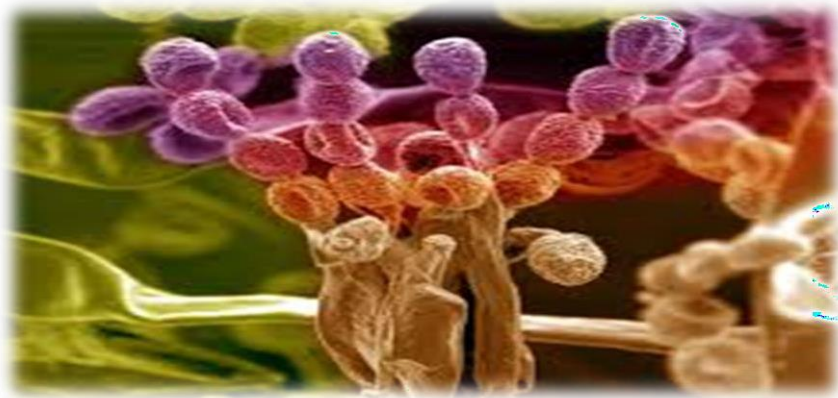


Figure 20 : Bouquet de champignons microscopiques.



I. 5. 2. 4. Évaluation de l'activité antimicrobienne

Il s'agit d'une méthode *in-vitro*, qui a pour but l'évaluation de la puissance des composés antimicrobienne vis-à-vis les microorganismes. La technique utilisée est la technique de connexion directe, selon deux procédés : celui de la diffusion à travers les puits et l'autre par diffusion sur disque [35]. Les tests antibiotiques ont été faits en utilisant la méthode de diffusion sur disque sur milieu solide. En générale, la gélose Muller-Hinton est utilisée pour tester la sensibilité de différentes souches bactériennes et la gélose Sabouraud est employée pour tester la sensibilité de différentes souches fongiques [36].

I. 6. Utilisation de la plante investiguée

Cette plante est couramment utilisée dans les paysages commerciaux, en raison de ses baies orange vive et brillantes, d'habitudes ouvertes et de ses petites fleurs blanches attrayantes. Les baies écarlates du siècle, sont parmi les traits les plus caractéristiques de l'espèce et les baies mûres peuvent être cuites pour faire des gelées, des sauces et des confitures [37]. En plus de sons utilisation comme sièges de défense, le "*Pyracantha coccinea*" a un grand potentiel de développement non seulement pour sa valeur décorative, mais aussi pour sa valeur nutritionnelle et médicinale. Les fruits rouges de la cochenille sont couramment utilisés en médecine traditionnelle pour leurs propriétés diurétiques et cardio-stimulantes [38]. En outre, il a été constaté que les baies ont des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes intéressantes. Utilisé aussi comme agent multifonctionnelles pour le traitement de diabète de type II, maladie d'Alzheimer et soin de la peau [39]. Les baies de "*Pyracantha coccinea*" ont également un bon potentiel pour l'élimination biologique des colorants basiques [40, 41].

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Fico, G.R., Bilia, A., Morelli, I., and Tomè, F., "Flavonoid distribution in *Pyracantha coccinea* plants at different growth phases," (in English), *Biochem. Syst. Ecol.*, vol. 28, pp. 673-678, 2000.
- [2] Potter, D., Eriksson, T., Evans, R.C., Oh, S., Smedmark, J.E.E., and Morgan, D.R., "Phylogeny and classification of rosaceae," (in English), *Plant Syst. Evol.*, vol. 266, no. 1, pp. 5-43, 2007.
- [3] S. Csurhes and A. Markula, "Invasive plant risk assessment," *Bitou bush. Department of Agriculture and Fisheries Biosecurity Qld*, 2016.



- [4] A la decouverte des vegetaux. (08 aout 2020). *Pyracantha- coccinea-Famille des Rosacées*. Available:
<https://www.quelleestcetteplante.fr/especes.php?genre=Pyracantha&variete=coccinea>
- [5] G. M. Cole *et al.*, "Prevention of Alzheimer's disease: Omega-3 fatty acid and phenolic anti-oxidant interventions," vol. 26, no. 1, pp. 133-136, 2005.
- [6] A. J. A. c. Favier, "Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique," no. 11/12, pp. 108-117, 2003.
- [7] R. S. Balaban, S. Nemoto, and T. J. c. Finkel, "Mitochondria, oxidants, and aging," vol. 120, no. 4, pp. 483-495, 2005.
- [8] A. Guillouty, "Plantes médicinales et antioxydants," Université Toulouse III-Paul Sabatier, 2016.
- [9] A. Fettah, "Étude phytochimique et évaluation de l'activité biologique (antioxydante-antibactérienne) des extraits de la plante *Teucrium polium* L. sous espèce *Thymoides* de la région Beni Souik, Biskra," UNIVERSITE MOHAMED KHIDER BISKRA, 2019.
- [10] K. Yaya, A. Amrouche, and F. E. Zaidi, "Teneur en composés phénoliques et activité antioxydante d'extrait aqueux de feuilles de *Moringa oleifera*," 2017.
- [11] A. Amel, Z. Ghedabna, and A. Hamzaoui, "Impact de l'intoxication au paraquat sur la santé."
- [12] A. ATTOU, "Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante *Ruta chalepensis* (Fidjel) de la région d'Ain Témouchent," 2011.
- [13] N. I. Krinsky and E. J. J. M. a. o. m. Johnson, "Carotenoid actions and their relation to health and disease," vol. 26, no. 6, pp. 459-516, 2005.
- [14] C. Cuvelier, O. Dotreppe, and L. J. A. M. V. Istasse, "Chimie, sources alimentaires et dosage de la vitamine E," vol. 147, pp. 315-324, 2003.
- [15] D. Faouzi, "L'effet combiné de la vitamine C (acide ascorbique) et de la vitamine E (α -tocophérol) contre la toxicité du nickel chez les souris (*Mus musculus*)," Université Badji Mokhtar, Annaba, 2016.
- [16] J. Pescheux, "L'implication de la vitamine C dans la thérapeutique parodontale," Université Toulouse III-Paul Sabatier, 2016.
- [17] C. Picaud, "Oligo-éléments: excès, carences et conseil officinal," Université de Limoges, 1992.



- [18] L. Guo, M.-Y. Xie, A.-P. Yan, Y.-Q. Wan, Y.-M. J. A. Wu, and b. chemistry, "Simultaneous determination of five synthetic antioxidants in edible vegetable oil by GC-MS," vol. 386, no. 6, p. 1881, 2006.
- [19] S. Habibatni and D. Zama, "Etude phytochimique et pharmacologique de deux plantes appartenant à la famille des Astéraceae et Fabaceae, 2018 جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
- [20] F. Marc, A. Davin, L. Deglène-Benbrahim, C. Ferrand, M. Baccaunaud, and P. Fritsch, "Studies of several analytical methods for antioxidant potential evaluation in food," *Medecine sciences: M/S*, vol. 20, no. 4, pp. 458-463, 2004.
- [21] T. Hatano, H. KAGAWA, T. YASUHARA, and T. OKUDA, "Two new flavonoids and other constituents in licorice root: their relative astringency and radical scavenging effects," *Chemical and pharmaceutical bulletin*, vol. 36, no. 6, pp. 2090-2097, 1988.
- [22] Y. Lu and L. Y. Foo, "Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols from apple pomace," *Food chemistry*, vol. 68, no. 1, pp. 81-85, 2000.
- [23] P. T. Gardner, T. A. White, D. B. McPhail, and G. G. Duthie, "The relative contributions of vitamin C, carotenoids and phenolics to the antioxidant potential of fruit juices," *Food chemistry*, vol. 68, no. 4, pp. 471-474, 2000.
- [24] H.-M. Shang, H.-Z. Zhou, J.-Y. Yang, R. Li, H. Song, and H.-X. J. P. o. Wu, "In vitro and in vivo antioxidant activities of inulin," vol. 13, no. 2, p. e0192273, 2018.
- [25] M. Laraba, A. Serrat, and G. J. M. d. m. e. t. e. s. Ouassaa, Université des Frères Mentouri Constantine. P, "Etude in vitro de l'activité antioxydant des polyphénols isolés à partir d'une plante médicinale," pp. 40-41, 2016.
- [26] G. Immanuel, V. Vincybai, V. Sivaram, A. Palavesam, and M. P. Marian, "Effect of butanolic extracts from terrestrial herbs and seaweeds on the survival, growth and pathogen (*Vibrio parahaemolyticus*) load on shrimp *Penaeus indicus* juveniles," *Aquaculture*, vol. 236, no. 1-4, pp. 53-65, 2004.
- [27] R. Harikrishnan, M. N. Rani, and C. Balasundaram, "Hematological and biochemical parameters in common carp, *Cyprinus carpio*, following herbal treatment for *Aeromonas hydrophila* infection," *Aquaculture*, vol. 221, no. 1-4, pp. 41-50, 2003.
- [28] J. Tichy and J. Novak, "Detection of antimicrobials in bee products with activity against viridans streptococci," *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, vol. 6, no. 5, pp. 383-389, 2000.
- [29] F. Z. Nouadri, S. Remache, and R. Arhab, "Evaluation in vitro de l'activité antibactérienne des produits purifiés synthétisées sur les bases de schiff," 2018.



- [30] D. Yala, A. Merad, D. Mohamedi, and M. Ouar Korich, "Classification et mode d'action des antibiotiques," *Médecine du Maghreb*, vol. 91, no. 1, pp. 5-12, 2001.
- [31] L. Ryma, "Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calamintha nepeta* : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide," Université Badji Mokhtar Annaba, 2016.
- [32] A. García-Ruiz, B. Bartolomé, A. J. Martínez-Rodríguez, E. Pueyo, P. J. Martín-Álvarez, and M. Moreno-Arribas, "Potential of phenolic compounds for controlling lactic acid bacteria growth in wine," *Food Control*, vol. 19, no. 9, pp. 835-841, 2008.
- [33] I. Kempf and S. Zeitouni, "Coût biologique de la résistance aux antibiotiques : analyse et conséquences," *Pathologie biologique*, vol. 60, no. 2, pp. e9-e14, 2012.
- [34] D. Garon, Guéguen, J.-C., Rioult, J.-P., , "Biodiversité et évolution du monde fongique," EDP Sciences, Les Ulis. France., 2015.
- [35] I. Yousfi, D. Bafkeur, and O. Fandougouma, "Criblage biologique de deux extraits aqueux et méthanolique de deux plantes endémiques de la Wilaya d'Adrar," Université Ahmed Draïa-Adrar, 2013.
- [36] F. Chemloul, "Etude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Lavandula officinalis* de la région de Tlemcen," 2014.
- [37] Quiroga, O.E., Bou, S.M., Sarlingo, C.I., and Nolasco, S.M., "Study of the composition of *Pyracantha crenulata* roem seed, oil and meal," (in English), *Grasas Aceites*, vol. 54, no. 4, pp. 335-338, 2003.
- [38] Kowaleuki, Z. and Mrugasiewicz, M., "Neue flavanonheteroside in *Crataegus phenophyrum*," (in English), *Planta Med.*, vol. 19, pp. 311-313, 1971.
- [39] D. Brahami and L. Karrour, "Etude comparative de deux procédés de séchage de *Pyracantha coccinea*. Evaluation antimicrobienne de certains composés phénoliques," Université Mouloud Mammeri, 2016.
- [40] Keser, S., "Antiradical activities and phytochemical compounds of firethorn (*Pyracantha coccinea*) fruit extracts," (in English), *Nat. Prod. Res.*, vol. 28, no. 20, pp. 1789-1794, 2014.
- [41] Akar, T., Anilan, B., Gorgulu, A., and Akar, S.T., "Assessment of cationic dye biosorption characteristics of untreated and non-conventional biomass: *Pyracantha coccinea* berries," (in English), *J. Hazard. Mater.*, vol. 168, pp. 1302-1309, 2009.



PARTIE

EXPÉRIMENTALE

MATÉRIELS

&

MÉTHODES



I. Matériels

I. 1. Matériel végétal

Le matériel végétal exploité est constitué de la partie aérienne (Feuilles et fruits) de la plante "*Pyracantha coccinea*", il a été récolté au mois de Décembre 2019, dans la wilaya de Tipaza qui se situe au nord de l'Algérie, selon les coordonnées suivantes : 36°35'04.1"N 2°25'23.5"E (**Figure 21**). Les feuilles et les fruits ont été séchés à l'ombre, à température ambiante pendant quinze jours.

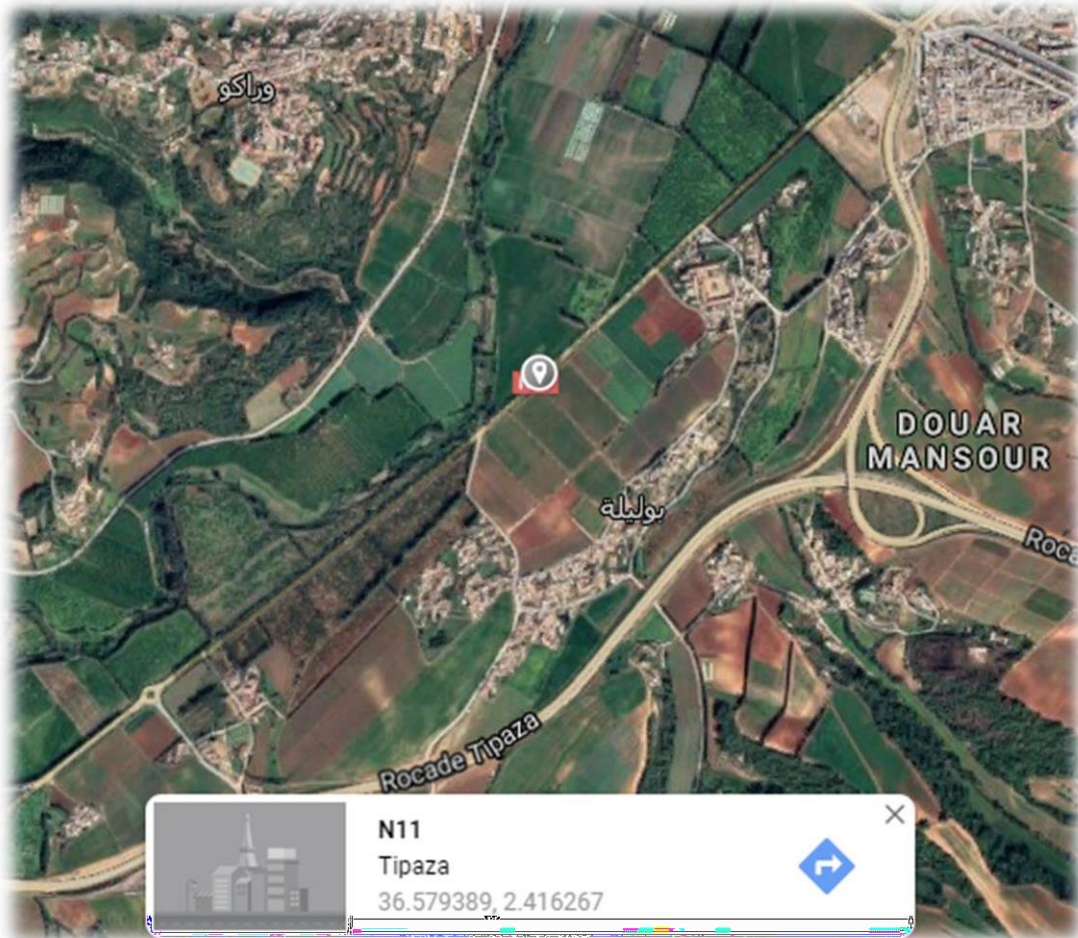


Figure 21 : Carte géographique de la zone de récolte.

I. 2. Matériel biologique

I. 2. 1. Souches bactériennes testées

I. 2. 1. 1. *Escherichia coli*

Bactérie gram-négative, appartenant à la famille des entérobactéries, équivalente au système digestif des humains et des animaux. Elle est de forme non sporulée, de type aérobie facultatif et généralement mobile grâce à ses flagelles. Sa longueur varie de 2 à 6 μm , alors



que sa largeur est de 1,1 à 1,5 μm . On la trouve dans les intestins et les selles des animaux à sang chaud, ainsi que les reptiles et microbes intestinaux. L'*Escherichia coli* est la bactérie la plus impliquée dans les infections aiguës de l'appareil urinaire, car elle provoque des diarrhées estivales, des diarrhées chez les enfants et parfois des intoxications alimentaires, ce qui conduit à des infections systémiques parfois mortelles [1]. La figure ci-après représente l'*Escherichia coli* au microscope

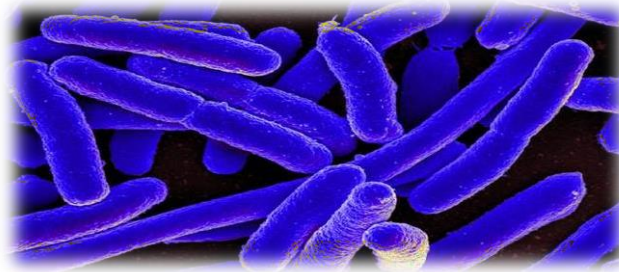


Figure 22 : *Escherichia coli* au microscope.

I. 2. 1. 2. *Staphylococcus aureus*

Les bactéries *Staphylococcus aureus* sont des gram-positives, à catalase positives, immobiles, facultativement anaérobies et généralement disposées en groupes. Cette bactérie fait partie des flores humaines et se trouve principalement dans le nez et sur la peau [2]. Elle est responsable d'intoxications alimentaires, d'infections purulentes locales et dans certains cas graves d'intoxication sanguine, chez les personnes ayant subi une implantation, ou porteur d'une prothèse cardiaque (**Figure23**) [3].

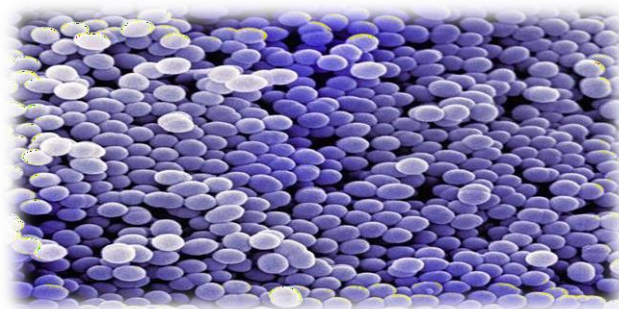


Figure 23 : *Staphylococcus aureus* au microscope.

I. 2. 1. 3. *Bacillus subtilis*

Le genre *Bacillus* appartient à la famille des *Bacillaceae*, de la classe *Bacilli*, à l'ordre *Bacillales* [4], est une bactérie à gram positif, grande, droite qui se déplace à l'aide de cils périphériques. En forme d'une tige, d'un diamètre de 2 μm et d'une longueur allant jusqu'à 7 μm , ces cils forment des spores ovales, ou cylindriques dans un emplacement central, para-



central ou souterrain dans le corps bactérien. La forme de cette bactérie est illustrée dans la figure suivante :

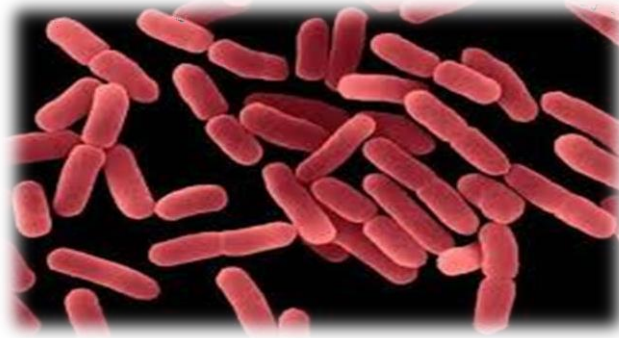


Figure 24 : *Bacillus subtilis* au microscope.

I. 2. 1. 4. *Micrococcus luteus*

Le genre *Micrococcus* est un groupe de cocci. C'est une bactérie gram-positif, de forme sphérique, souvent présente sous des formes quadruples, résultant d'une division dans plus d'un plan. Elles ne sont pas mobiles et ne forment pas de spores. Ce genre de micro-organismes contient plusieurs types, qui sont tous décrits comme complètement aérobies. La *Micrococcus luteus* se caractérise par la production de pigments jaunes insolubles dans l'eau [5]. La figure ci -après représente cette bactérie.

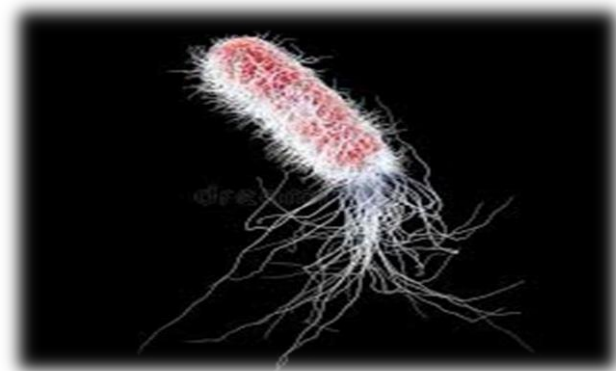


Figure 25 : *Micrococcus luteus* au microscope.

I. 2. 1. 5. *Klebsiella pneumoniae*

Ce sont des bacilles à gram négatif, anaérobiques, immobiles, non sporulés et facultatifs de la famille des enterobacteriaceae [6]. Ces micro-organismes possèdent des propriétés culturelles à savoir : après 24 heures d'incubation à 37 ° C, soit sur un milieu non sélectif soit sur un milieu lactose, les colonies formées sont rondes, de 3 à 4 mm de diamètre et ont un aspect muqueux, c'est la raison de l'existence de la forme capsule dans cette bacilles [7]. La figure ci-dessous représente la *Klebsiella pneumoniae*.





Figure 26 : *Klebsiella pneumoniaes* au microscope.

I. 2. 2. Champignons testés

I. 2. 2. 1. *Candida albicans*

C'est une levure aérée qui n'est ni enrobée ni pigmentée. Cette levure diploïde, dont le matériel génétique est divisé en huit chromosomes, se reproduit de manière asexuée, par le bourgeonnement multiplex de la cellule mère (blastospores), pour former des colonies de couleur blanc crème. Morphologiquement, cette levure peut mesurer de 3 à 15 μm et se caractérise par un polymorphisme qui lui permet d'échapper aux défenses liées à l'immunité cellulaire [8]. La forme de cette levure est exposée sur la figure ci-dessous :



Figure 27 : *Candida albicans* au microscope.

Tbleau 02 : Différentes souches microbiennes testées.

Souches testées	Code
<i>Escherichia coli</i>	ATCC25922
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC42238
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC6633
<i>Micrococcus luteus</i>	DSM1790
<i>Klebsiella pneumoniaes</i>	ATCC7603
<i>Candida albicans</i>	F24-isolat clinique



I. Méthodes

II. 1. Extraction des composés phénoliques

Pour extraire les polyphénols des deux parties aériennes (Feuilles et fruits) de la plante investiguée par macération, nous avons opté pour le protocole décrit par Mahmoudi et al. [9], en y apportant quelques modifications : 528 g de chaque partie préalablement séchée, ont été macérer dans un mélange hydro-alcoolique : méthanol/eau chaude (70/30), puis laissé à température ambiante pendant 24 heures. L'opération a été répéter trois fois pour recueillir le maximum de principes actifs contenu dans la plante. Le macérât obtenu a été filtré, puis les extraits bruts des deux parties ont été obtenus après une évaporation des filtrats, à l'aide d'un évaporateur rotatif. Afin d'éliminer les acides gras et la chlorophylle, 500 mL d'eau distillée bouillante ont été ajoutées aux extraits des feuilles et des fruits obtenus. Après 24 heures de repos, les solutions aqueuses filtrées, ont subies des procédés d'extraction liquide/ liquide, en utilisant des solvants de polarité croissante, à savoir, le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle et le n-butanol. L'extraction a été effectuée trois fois avec chaque solvant, toujours pour recueillir le maximum de principes actifs. Les étapes d'extraction des composés phénoliques sont illustrées dans le schéma suivant :



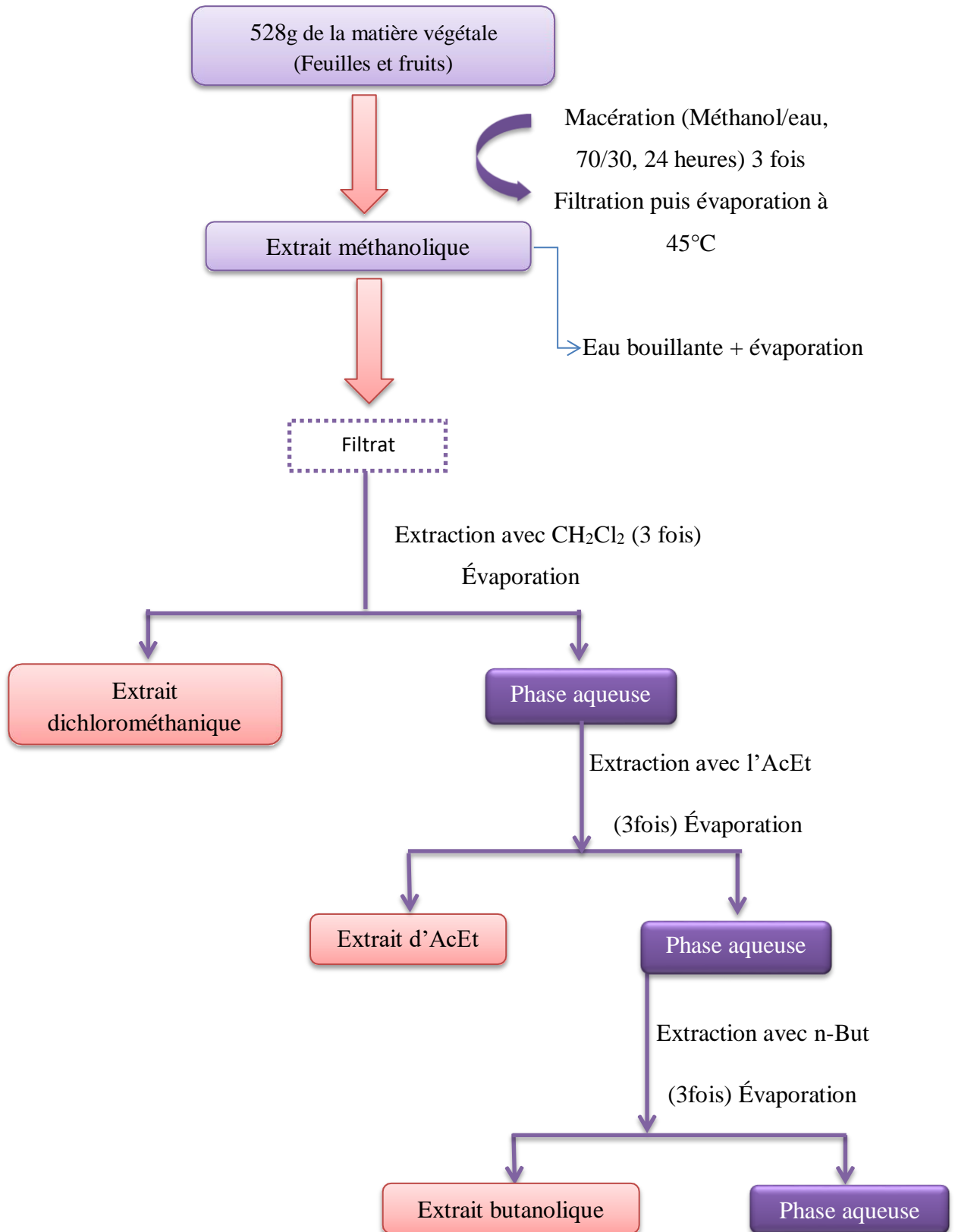


Schéma 05 : Étapes de préparation des différents extraits de la plante.

II. 2. Révélation (Screening) phytochimique

Le but essentiel de l'étude des plantes médicinales, est la recherche des groupes de molécules contenus dans les métabolites secondaires responsables des activités de chaque



plante. Le screening phytochimique met en évidence la présence des familles de molécules actives, par des tests qualitatifs basés sur des réactions de colorations et de précipitation, ainsi que des examens par lumière ultra violette [1].

II. 2. 1. Epuisement du matériel végétal avec de l'eau chaude

Dans un ballon monocol surmonté d'un réfrigérant, on mélange une quantité de 50 g du matériel végétal avec 300 mL d'eau distillée, puis on chauffe le mélange à reflux pendant une heure à l'aide d'une chauffe ballon. Le mélange réactionnel est par la suite filtré à l'aide d'un papier filtre, pour récupérer l'extrait aqueux qui sera soumis aux tests suivants [10] :

II. 2. 1. 1. Détection des saponosides

Dans une série de 4 tubes à essai numérotés de 1 jusqu'à 4, on introduit 10 mL de l'extrait aqueux avec un peu d'eau distillée, puis les tubes sont fortement agités horizontalement. Après un temps de repos de 15 min, la formation d'une mousse persistante indique la présence de saponines dans le milieu [11].

II. 2. 1. 2. Détection des tanins

La présence des tanins est effectuée en ajoutant à 1 mL de l'extrait aqueux placé dans un tube, un volume de 1 mL d'eau distillée puis quelques gouttes de FeCl_3 (1%).

✚ L'apparition d'une coloration vert foncé, ou bleue verte indique la présence des tanins [10].

II. 2. 1. 3. Détection des composés réducteurs

On introduit 1 mL d'extrait aqueux dans un tube à essai, puis on y ajoute 2 mL de liqueur de Fehling. L'ensemble est chauffé au bain-marie (L'eau du bain est bouillante) durant 8 min

✚ L'apparition d'un précipité rouge brique, révèle la présence des composés réducteurs [12].

II. 2. 2. Epuisement du matériel végétal avec l'éthanol

Un extrait éthanolique est obtenu selon le même protocole d'extraction précédent, mais en employant un solvant polaire qui est l'éthanol.

II. 2. 2. 1. Détection des flavonoïdes

Afin de détecter ces composés, on introduit dans un tube à essai, 5 mL de l'extrait éthanolique et en y ajout 1 mL de HCl concentré et 0,5 g de tournures de magnésium.

✚ Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration rose ou rouge [10].

II. 2. 2. 2. Détection des tanins galliques et catéchiques



Dans un tube à essai contenant 1 mL de l'extrait éthanolique, on introduit 2 mL d'eau et 2 à 3 gouttes de solution de FeCl_3 diluée (1 %).

✚ L'apparition d'une coloration vert foncé prouve la présence des tanins catéchiques et la couleur bleu-vert indique la présence des tanins galliques [12].

II. 2. 3. Autres métabolites secondaires

II. 2. 3. 1. Détection des coumarines

Dans un tube à essai on place un échantillon humide de la matière végétale, on couvre le tube avec un papier filtre imbibé d'une solution de NaOH et on le place dans un bain marie pendant quelques minutes. Le papier est ensuite examiné sous une lampe UV.

✚ Une fluorescence intense indique la présence de coumarines [13].

II. 2. 3. 2. Détection des anthocyanes

Le test effectué consiste à introduire 2 mL d'un infusé aqueux avec 2 mL d'HCl concentré, puis en ajoute quelques gouttes de NH_4OH .

✚ Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration rose-rouge [10].

II. 2. 3. 3. Détection des terpènes

Ce test consiste à évaporé une quantité de l'extrait éthanolique, ensuite dissoudre l'extrait sec obtenu dans un mélange d'anhydride acétique/chloroforme, pour lui rajouter quelques gouttes d'acide sulfuriques concentré.

✚ Si cette réaction donne une coloration vert violet, cela indique la présence des terpènes [10].

II. 2. 3. 4. Détection des alcaloïdes

Pour la détection des alcaloïdes, on doit macérer et agite un mélange de 10 g de poudre sèche de la matière végétale et 10 mL d' H_2SO_4 dilué pendant 24 heures. Après filtration du mélange, on ajoute à 1 mL du filtrat 5 gouttes du réactif de Dragendorff.

✚ La présence des alcaloïdes est confirmée par l'apparition d'un précipité orange [12].

II. 3. Dosage des polyphénols

II. 3. 1. Principe

Pour déterminer la teneur totale en phénol dans un extrait, un dosage colorimétrique basé sur la réduction du réactif Folin-Cicalteu (acide phosphotungstique phosphomolybdenique) est effectué. La réaction qui se passe, s'exprime par l'obtention d'un changement de couleur du milieu réactionnel lors de l'oxydation des phénols en milieu alcalin. L'intensité de la couleur bleue qui apparaît dont l'absorption maximale est à environ 760-765



nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux [14].

II. 3. 2. Mode opératoire

Mettre 200 μ L de l'extrait dans un tube à essai, puis on y ajoute 1 mL du réactif de Folin Ciocalteu dilué 10 fois et 0,8 mL de carbonate de sodium à 7,5 %. Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min, à température ambiante et la lecture est faite à une longueur d'onde de 765 nm. Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires, en utilisant l'acide gallique comme standard. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de la matière végétale sèche (mg GAE/g MS) [15].

II. 4. Dosage des flavonoïdes

II. 4. 1. Principe

C'est une méthode de détermination et de quantification de la concentration totale des flavonoïdes en présence du trichlorure d'aluminium $AlCl_3$. Cette dernière forme des complexes jaunâtres avec les atomes d'oxygène présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes [14].

II. 4. 2. Mode opératoire

Pour ce dosage on doit ajouter 1 mL de la solution méthanolique à 2 %, à 1 mL de l'extrait. Après 10 min d'incubation à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 430 nm par un spectrophotomètre UV-Vis.

La teneur en flavonoïdes totaux des extraits de la plante étudiée, est exprimée en milligramme équivalent de la quercétine, par gramme de la matière végétale sèche (mg EC/gMS) [14].

II. 5. Détermination de l'activité antioxydant

Pour l'obtention des solutions mères employées pour chaque test, une quantité de 1 mg des extraits secs a été dissoute dans 1 mL de MeOH absolu. La gamme des concentrations à tester est préparée par la méthode de dilution en série (Tableau 03).

Tableau 03 : Série de dilutions avec les concentrations respectives des extraits.

Dilution	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
Concentration μ g/mL	200	100	50	25	12,5	6,25	3,125



II. 5. 1. Activité du piégeage du radical ABTS^{•+}

Le protocole expérimental utilisé dans cette évaluation, est celui décrit dans la littérature [16]. On prépare le radical cationique ABTS^{•+} à partir d'un mélange de deux solutions préalablement préparées, contenant une solution d'ABTS (7 mM) et une solution de persulfate de potassium K₂S₂O₈ (2,4 mM). Le mélange est laissé pour réagir pendant 12-16 heures, à température ambiante et à l'abri de la lumière. La solution obtenue est diluée avec l'éthanol, pour donner une absorbance de 0,8 mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à 734 nm. Introduire dans chaque puits de la microplaque à 96 puits, 160 µL de la solution d'ABTS^{•+} et 40 µL des différentes concentrations de chaque extrait (Trois essais ont été effectués pour chaque concentration de chaque extrait testé). Le mélange est déposé à l'abri de la lumière, à température ambiante pendant 10 min. L'absorbance des solutions est mesurée à 734 nm, à l'aide d'un lecteur de microplaque "Perkin Elmer", en utilisant un control négatif contenant (40 µL MeOH avec 160 µL ABTS^{•+}). Le pourcentage d'inhibition de l'activité anti radicalaire de l'ABTS^{•+} a été calculé selon l'équation qui suit [17] :

$$\% \text{ d'inhibition} = [(\text{Abs contrôle} - \text{Abs extrait}) / \text{Abs contrôle}] \times 100$$

Abs : Absorbance à la longueur d'onde de 734 nm.

II. 5. 2. Réduction du fer par la méthode de FRAP (Ferric reducing antioxidant power)

Le pouvoir réducteur de fer est déterminé selon la méthode décrite dans la littérature [18]. Dans une microplaque à 96 puits, un volume de 10 µL des différentes concentrations de chaque extrait dilués dans du méthanol, est déposé dans chaque puits, puis un volume de 40 µL de phosphate buffer (pH 6,6) et 50 µL de ferricyanure de potassium K₃Fe(CN)₆ à 1 %, sont additionnés par la suite. L'ensemble est incubé à 50 °C pendant 20 minutes. Après l'incubation, 50 µL d'acide trichloracétique (10 %) sont ensuite ajoutés, suivie de 40 µL d'H₂O distillée et 10 µL de chlorure ferrique FeCl₃ à 0,1 %. La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700 nm.

II. 5. 3. Détermination de l'activité antibactérienne

Cette activité doit être évaluée dans des conditions opératoires très aseptiques.

II. 5. 3. 1. Méthode de diffusion sur milieu gélosé

a) Repiquage des espèces bactériennes

Les différentes espèces microbiennes, ont été repiquées par la méthode des stries, puis incubées à 37 °C pendant 24 h, afin d'obtenir des colonies isolées qui serviront à la



préparation des inocula.

b) Préparation de l'inoculum

Pour préparer l'inoculum, on racle 4 à 5 colonies bien isolées et parfaitement identiques, à partir d'une culture sur le milieu d'isolement (Milieu gélose nutritive), puis les déchargées dans l'eau physiologique stérile. Après cela la suspension bactérienne est homogénéisée [19].

c) Préparation des disques

Dans notre étude nous avons utilisé des disques préparés préalablement, à partir d'un papier Wattman N° 1, découpés en disques de 6 mm. Ces disques doivent avoir un contour uniforme pour donner une zone d'inhibition facile à mesurer. Les disques sont placés dans une boîte de Pétri en verre contenant de l'eau distillée et autoclavées pendant 20 minutes à 120 °C [20].

d) Ensemencement

Des boîtes de pétri stériles contenant du milieu Sabouraud gélosé (Pour les levures) et Mueller Hinton agar (Pour les bactéries), préalablement coulées, sont ensemencées par étalage à l'aide d'un écouvillon. L'ensemencement s'effectue de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries sous forme de stries très serrées. Après le séchage des boîtes et à l'aide d'une pince stérile, les disques contenant les extraits à tester sont déposés à la surface de la gélose inoculée au préalable. Les boîtes sont mises à incubées dans une étuve à 30 °C pendant 48 h pour les levures et à 37 °C pendant 24 h pour les bactéries. L'activité antibactérienne est déterminée en termes du diamètre de la zone d'inhibition produite autour des disques.

e) Lecture

La lecture se fait en mesurant le diamètre de l'inhibition exercé par le principe actif sur chaque disque. Les résultats collectés à partir de la mesure des distances millimétrique, sont reportés sur l'échelle de compatibilité, afin que la souche soit interprétée comme sensible, intermédiaire ou résistante vis-à-vis le principe actif étudié. La sensibilité des différentes souches de l'extrait étudié est classée en fonction du diamètre d'inhibition et selon les critères mentionne dans le tableau suivant :



Tableau 04 : Degré de sensibilité bactérienne en fonction du diamètre d'inhibition [21].

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



RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

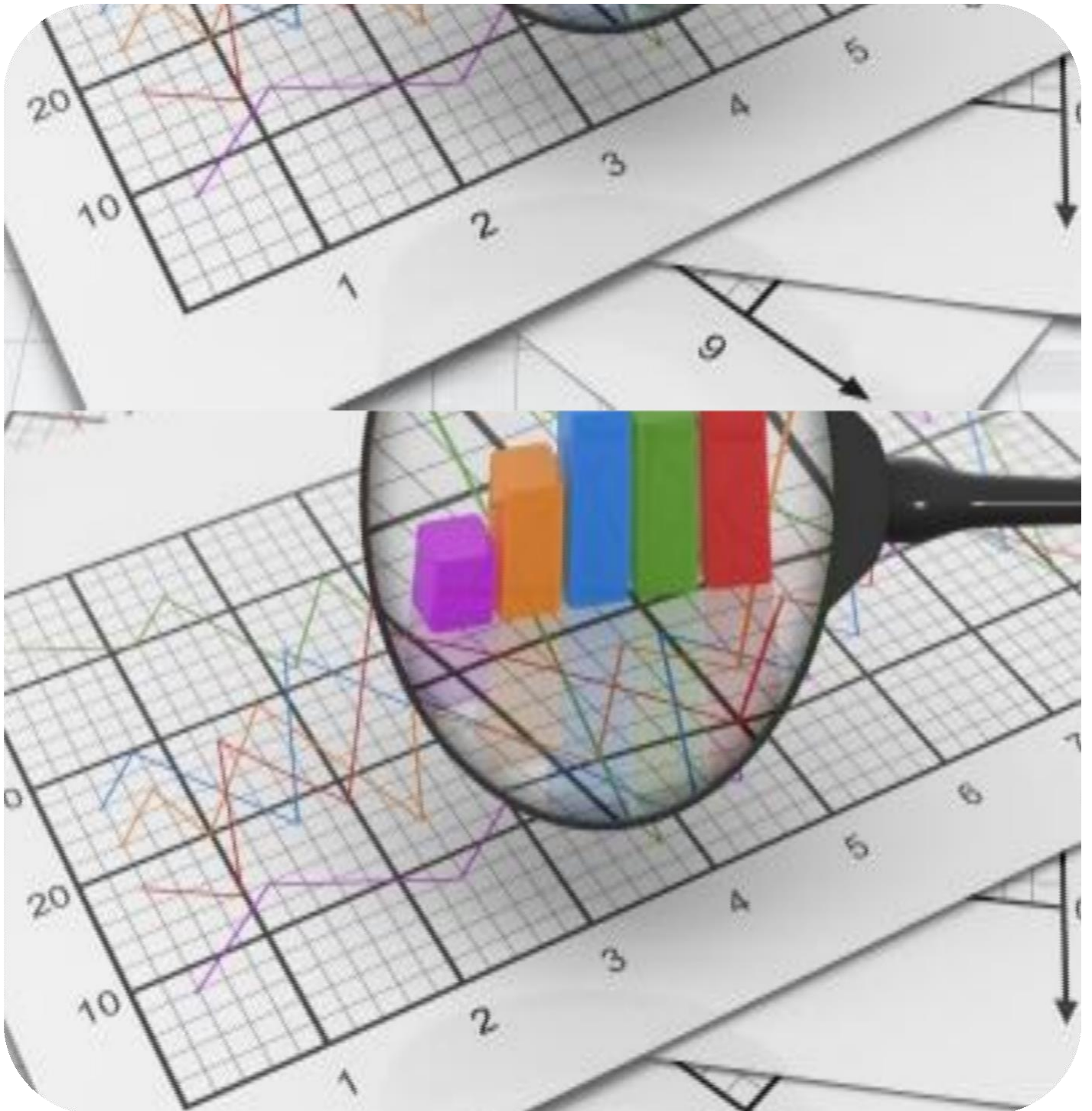
- [1] A. Fettah, "Étude phytochimique et évaluation de l'activité biologique (antioxydante-antibactérienne) des extraits de la plante *Teucrium polium* L. sous espèce *Thymoïdes* de la région Beni Souik, Biskra," Université Mohamed khider Biskra, 2019.
- [2] A. Mameri, R. Sadaoui, and N. Gherraf, "Quantification des composés phénoliques et activités biologiques de l'extrait méthanolique de zingiber officinale et opuntia ficus indica," 2019.
- [3] D. L, "Etude pharmacochimique et chimiotaxonomique d'éponges du genre *Dysidea*. Mémoire master. Ecole de Chimie Physique et Electronique de Lyon," p. p 68, (2008).
- [4] S. Bouhairi, "Bacillus subtilis: Caractères et applications," 2017.
- [5] C. L. Greenblatt, J. Baum, B. Y. Klein, S. Nachshon, V. Koltunov, and R. J. Cano, "Micrococcus luteus-survival in amber," *Microbial ecology*, vol. 48, no. 1, pp. 120- 127, 2004.
- [6] R. El Fertas-Aissani, Y. Messai, S. Alouache, and R. J. P. B. Bakour, "Virulence profiles and antibiotic susceptibility patterns of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from different clinical specimens," vol. 61, no. 5, pp. 209-216, 2013.
- [7] B. Joly and A. J. F. D. B. Reynaud, "Entérobactéries : systématique et méthodes de diagnostic," pp. 69-69, 2004.
- [8] C. Lagane, "Rôle de l'IL-13 et des ligands de PPAR-gamma dans la réponse anti- infectieuse des macrophages murins et des monocytes humains vis-à-vis de *Candida Albicans*. Implication de PPAR-gamma," Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier, 2007.
- [9] S. Mahmoudi, M. Khali, and N. Mahmoudi, "Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.)," *Nature & Technology*, no. 9, p. 35, 2013.
- [10] K. Kanoun, "Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis* L.(Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine)," 2011.
- [11] M. D. Elalaoui, "Contribution à l'étude phytochimique et l'évaluation de l'effet hémolytique d'extrait brut hydroalcoolique des graines de *Nigella sativa* L.," 2014.
- [12] H. EL-Haoud, Moncef Boufellous¹ | Assia Berrani¹ | HindTazougart¹ | et | Rachid Bengueddour¹ | L. *Mentha Spicata*, "Screening phytochimique d'une plante medicinale: *Mentha Spicata* L."



- [13] H. Alilou, B. Bencharki, L. I. Hassani, and N. J. A. S. R. I. d. S. e. T. Barka, "Screening phytochimique et identification spectroscopique des flavonoïdes d'*Asteriscusgraveolens* subsp. *odorus*," vol. 10, no. 3, 2014.
- [14] K. Yaya, A. Amrouche, and F. E. Zaidi, "Teneur en composés phénoliques et activité antioxydante d'extrait aqueux de feuilles de *Moringa oleifera*," 2017.
- [15] M. Škerget, P. Kotnik, M. Hadolin, A. R. Hraš, M. Simonič, and Ž. J. F. c. Knez, "Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities," vol. 89, no. 2, pp. 191-198, 2005.
- [16] R. Re *et al.*, "Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay," vol. 26, no. 9-10, pp. 1231-1237, 1999.
- [17] N. Bougandoura, N. J. N. Bendimerad, and Technology, "Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq," no. 9, p. 14, 2013.
- [18] M. J. T. J. j. o. n. Oyaizu and dietetics, "Studies on products of browning reaction," vol. 44, no. 6, pp. 307-315, 1986.
- [19] S. Lamy *et al.*, "Delphinidin, a dietary anthocyanidin, inhibits vascular endothelial growth factor receptor-2 phosphorylation," *Carcinogenesis*, vol. 27, no. 5, pp. 989- 996, 2006.
- [20] A. A. Adesokan, M. A. Akanji, and M. T. Yakubu, "Antibacterial potentials of aqueous extract of *Enantia chlorantha* stem bark," *African journal of biotechnology*, vol. 6, no. 22, 2007.
- [21] C. Duraffourd and J.-C. Lapraz, *Traité de phytothérapie clinique : endobiogénie et médecine*. Elsevier Masson, 2002.



Résultats & discussion



I. Rendement des extractions

L'extraction des différents composés phénoliques contenus dans la plante investiguée, effectuée selon la méthode décrite dans le chapitre précédent, à donner naissance à huit extraits. Le rendement de chaque extrait a été calculé à partir du poids des extraits secs obtenus, par rapport au poids de la plante sèche utilisée multiplié par 100. Ces rendements sont rapportés sur l'histogramme ci-après, sauf pour l'extrait butanolique des fruits, qui n'a pas été séché dans sa totalité malheureusement, vu les circonstances actuelles limitant le travail au laboratoire.

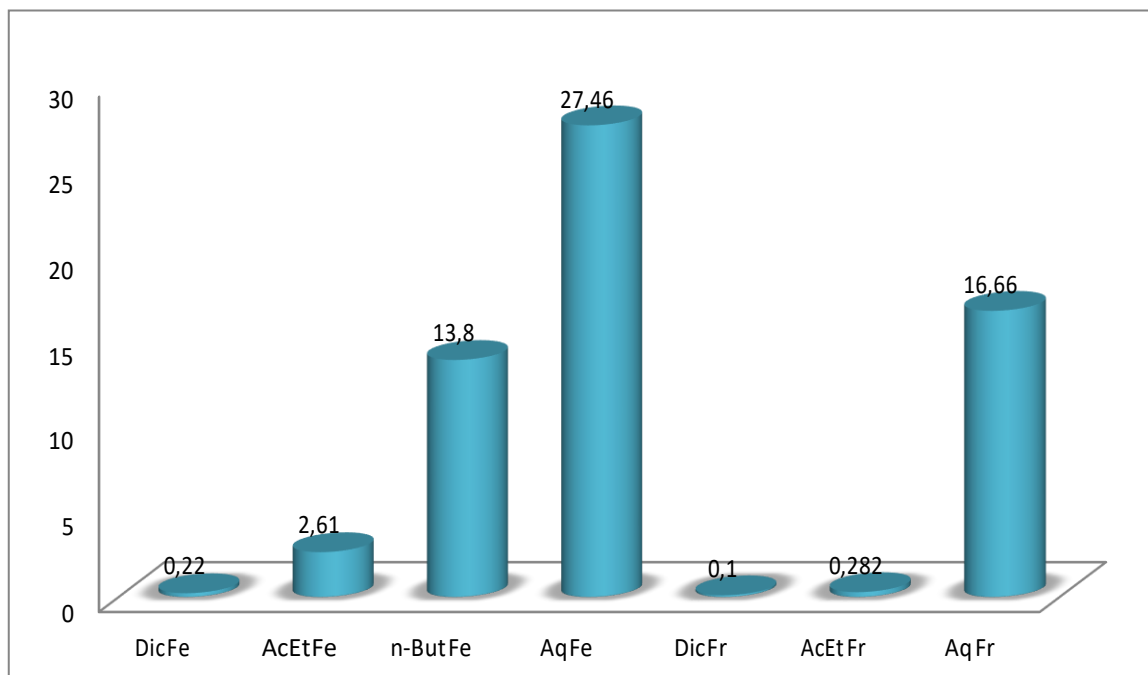


Figure 28 : Rendements des extraits de *Pyracantha coccinea* exprimés en %.



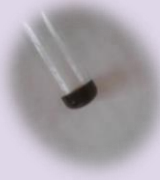
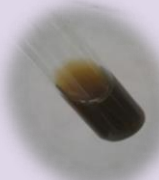

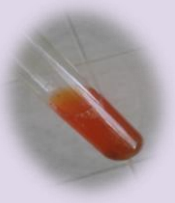



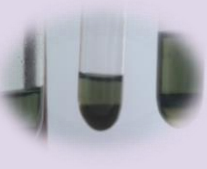
Comme nous observons sur l'histogramme, les extraits obtenus à partir des feuilles, ont montrés les rendements les plus élevées que ceux des fruits. L'extrait aqueux des feuilles (Aq fe), a marqué un rendement relativement bon avec une valeur de 27,46 %, suivi par l'extrait aqueux des fruits (Aq fr) avec une valeur de 16,66 %, puis l'extrait butanolique des feuilles (n-But fe) avec une valeur de 13,8 %. Cependant, l'extrait dichlorométhanique (Dic) et celui de l'acétate d'éthyle (AcEt) des deux parties étudiées ont donnés les rendements les plus faibles.

II. Révélation phytochimique

Le screening phytochimiques que nous avons réalisé sur les parties aériennes de la plante (feuilles et fruits), nous a permis de détecter la présence de certains métabolites secondaires dans cette plante et l'absence d'autres. Les résultats des essais sont regroupés dans le tableau suivant :



Tableau 05 : Résultats des tests phytochimiques des parties aériennes de "*Pyracantha coccnea*".

Métabolites testées	Résultat		Image	
	Feuilles	Fruits	Feuilles	Fruits
Saponosides	+	+		
Tanins	+	+		
Composées réducteurs	-	-		
Flavonoïdes	+	+		
Tanins catéchique	+	+		
Coumarines	-	-		
Anthocyanes	-	-		
Terpènes	+	+		
Alcaloïdes	-	-		

(+) Présence

(-) Absence



D'après les résultats mentionnés dans le tableau plus haut, on note que les deux parties étudiées ont montés une richesse en tanins, tanins catéchiques, en flavonoïdes et en terpènes. Ces résultats ont également exhibé la présence des saponosides, mais beaucoup plus dans les feuilles que dans les fruits, en raison de l'apparition d'une mousse à une hauteur élevée que celles qui a apparue dans les fruits. On a constaté aussi que la partie aérienne de "*Pyracantha coccinea*" ne contiennent pas certains composés tels que : les alcaloïdes, les composées réducteurs, les coumarines et des anthocyanes.

III. Teneur en polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux des extraits des feuilles et des fruits de "*Pyracantha coccinea*", a été effectué par la méthode spectrophotométrique adaptée avec le réactif de Folin-Ciocalteu. La teneur en polyphénols totaux (TPC) de nos extraits a été estimée à partir de la courbe linéaire de l'étalonnage de l'acide gallique (Figure 29).

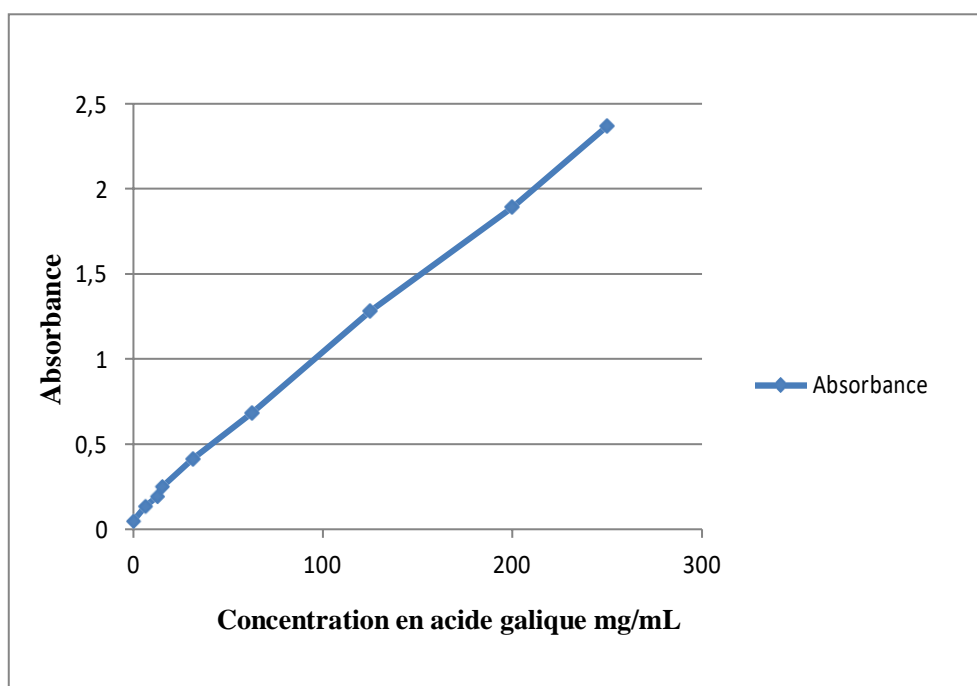


Figure 29 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Les résultats de nos extraits sont représentés dans l'histogramme ci-dessous :



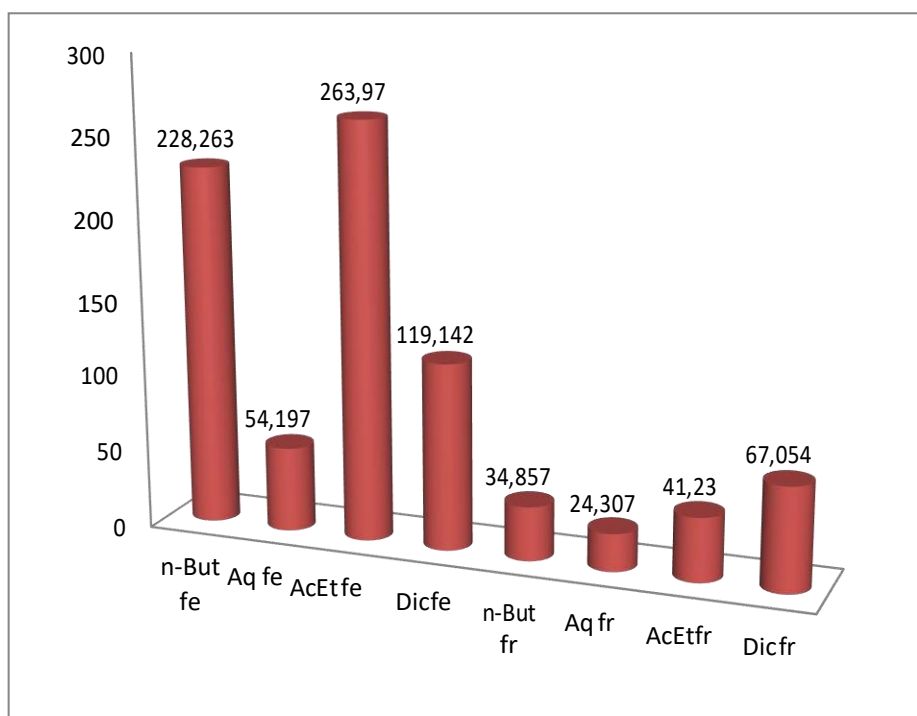


Figure 30 : Teneur des extraits des feuilles et des fruits en polyphénols.

Concernant les teneurs en composés phénoliques obtenues, on a remarqué que la partie des feuilles était plus riche en ces composés, leur quantité variait entre 263,97 et 54,197 mg EAG/g MS. Le taux des phénols le plus élevé a été détecté dans l'extrait de l'AcEt avec une valeur de 263,97 mg EAG/g MS, suivi par la fraction butanolique avec une valeur de 228,263 mg EAG/g MS et une teneur de l'ordre de 119,142 et de 54,197 mg EAG/g MS a été observée dans l'extrait dichlorométhanique et l'extrait aqueux respectivement.

Quant à la partie des fruits, l'extrait dichlorométhanique a marqué le taux le plus élevé avec une valeur de 67,054 mg EAG/g MS, suivi par l'extrait de l'AcEt ayant une teneur de 41,23 mg EAG/g MS, puis l'extrait butanolique avec une concentration de 34,857 mg EAG/g MS en ces composés, tandis que l'extrait aqueux a présenté la plus faible teneur avec une valeur de 24,307 mg EAG/g MS.

Il est à noter que le réactif de Folin-Ciocalteu n'est pas spécifique aux polyphénols, car il réagit aussi avec les acides aminés et les protéines. De telles interférences peuvent être négligées car contrairement aux composés phénoliques, ces acides aminés se trouvent à de faible concentration dans les règnes végétaux [1].



IV. Teneur en flavonoïdes totaux

La quantité des flavonoïdes totaux contenus dans les extraits testés est estimée, à l'aide de la droite de l'étalonnage de la quercétine (Figure 31), à partir des valeurs des absorbances mesurées de cette dernière.

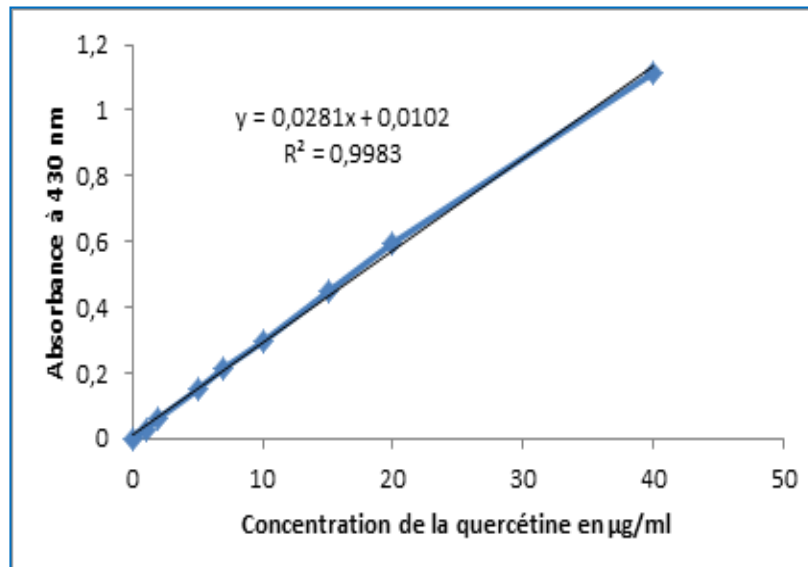


Figure 31 : Courbe d'étalonnage de la quercétine [2].

La teneur en flavonoïdes totaux (TFC) comprises dans les extraits de la plante étudiée, a été énumérée dans l'histogramme ci-dessous.

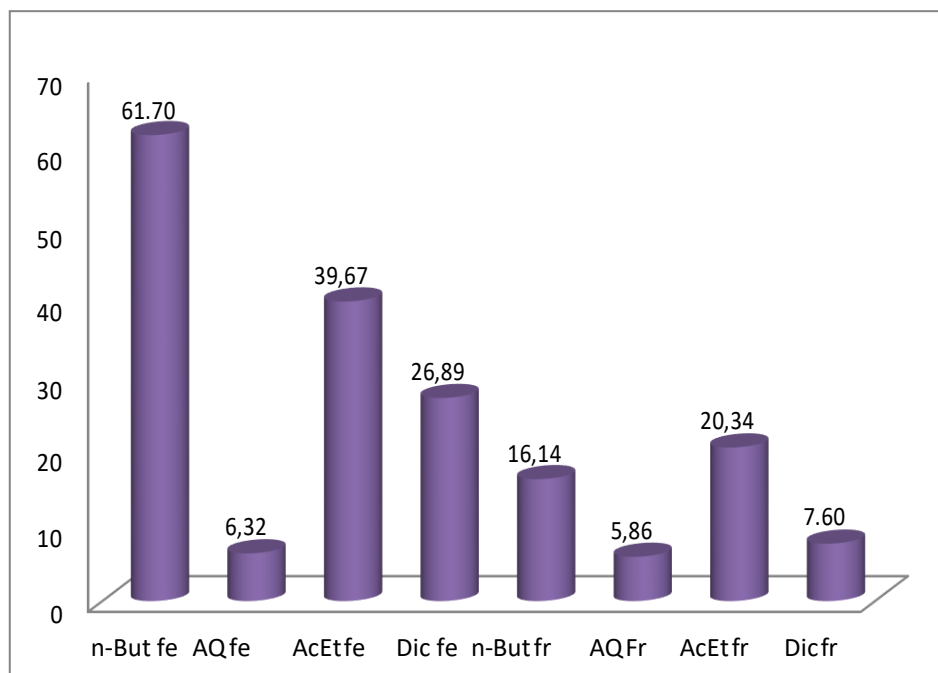


Figure 32 : Teneur des extraits des feuilles et des fruits en flavonoïdes.



D'après ces résultats, on note que la quantité des flavonoïdes est comprise entre 5,86 et 61,7 µg EQ/g MS. Comme il s'illustre clairement sur l'histogramme, le taux de flavonoïdes le plus élevé a été détecté dans les extraits des feuilles, estimait dans l'extrait butanolique d'une teneur de 61,70 µg EQ/g MS, suivi par les deux autres extraits : l'AcEt et le Dic avec des teneurs de 39,67 et 26,89 µg EQ/g MS respectivement. Cependant, la phase aqueuse contenait la quantité la plus petite de flavonoïdes avec une valeur de 6,32 µg EQ/g MS

On ce qui concerne les fruits, la plus grande teneur était observée pour l'extrait d'acétate d'éthyle (20,34 µg EQ/g MS), ensuite vient les extraits butanolique et dichlorométhanique, qui ont présentés une teneur de 16,14 et 7,60 µg EQ/g MS respectivement, alors que la fraction de l'extrait Aq ne contenait que 5,86 µg EQ/g MS.

V. Résultats de l'activité antioxydant

V. 1. Activité du piégeage du radical cationique l'ABTS⁺

Le potentiel de piégeage du radical cationique ABTS⁺, exercé par les extraits est exprimé en valeurs d'IC₅₀, cette valeur représente la concentration d'antioxydant nécessaire pour inhiber 50 % des radicaux libres. Plus cette valeur est petite, plus l'extrait est considéré comme antioxydant puissant [3]. Cette valeur est calculée à partir du pourcentage d'inhibition de l'ABTS⁺ des différentes concentrations illustrées sur la figure 33.



Figure 33 : Photographie des microplaques utilisées pour le test de piégeage de l'ABTS⁺.

Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau 03 et exposés sur l'histogramme ci-dessous.

Tableau 06 : Valeurs du pourcentage et des d'IC₅₀ de l'inhibition du radical cationique ABTS⁺ selon les concentrations des extraits de "*Pyracantha coccinea*".



[C] Extraits	% Inhibition de ABTS ⁺							
	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	IC ₅₀ µg/mL
AcEt fr	12,15±1,81	8,43±4,60	5,30±1,99	36,20±6,29	23,91±5,06	91,55±1,26	92,38±0,53	67,24±7,36
Aq fr	5,89±2,01	5,12±3,92	9,32±6,24	23,79±2,48	46,48±0,99	80,98±3,90	57,85±2,74	57,85±2,74
Dic fr	11,56±5,03	18,95±1,53	25,03±11,36	54,45±2,61	76,67±2,45	87,05±3,24	86,00±7,68	1,92±5,46
n-But fr	7,19±2,59	15,11±3,49	13,81±5,00	29,88±4,16	57,29±1,34	74,66±2,79	88,48±1,60	51,29±4,14
Dicfe	10,96±13,29	68,19±18,95	47,37±4;17	42,77±3.35	86,73±1.98	88,73±1,98	84,20±5,58	15,90±5,87
Aq fe	32,18±2,57	35,07±1,65	51,91±13,05	78,84±5,98	82,96±4,65	87,36±3.,09	84,34±6,35	15,76±8,37
n-But fe	31,09±3,49	58,85±3,12	79,18±14,49	89,28±0,94	91,14±0,36	90,45±0,93	89,63±0,86	1,96±4,76
Acet fe	74,24±10,04	77,67±14,35	78,56±9,75	90,04±0,63	91,14±0,00	75,95±12,16	88,80±3,87	<100
BHT	59,22±0,59	78,55±3,43	90,36±0,00	92,18±1,27	93,37±0,86	94,87±0,87	96,68±0,39	1,29±0,30
BHA	83,42±4,09	93,52±0,09	93,52±0,09	93,58±0,09	93,63±0,95	94,20±0,90	95,39±2,62	1,81±0,10

Les valeurs exprimées représentent la moyenne ± l'écart type (S.D) des trois répétitions effectuées pour chaque essai.

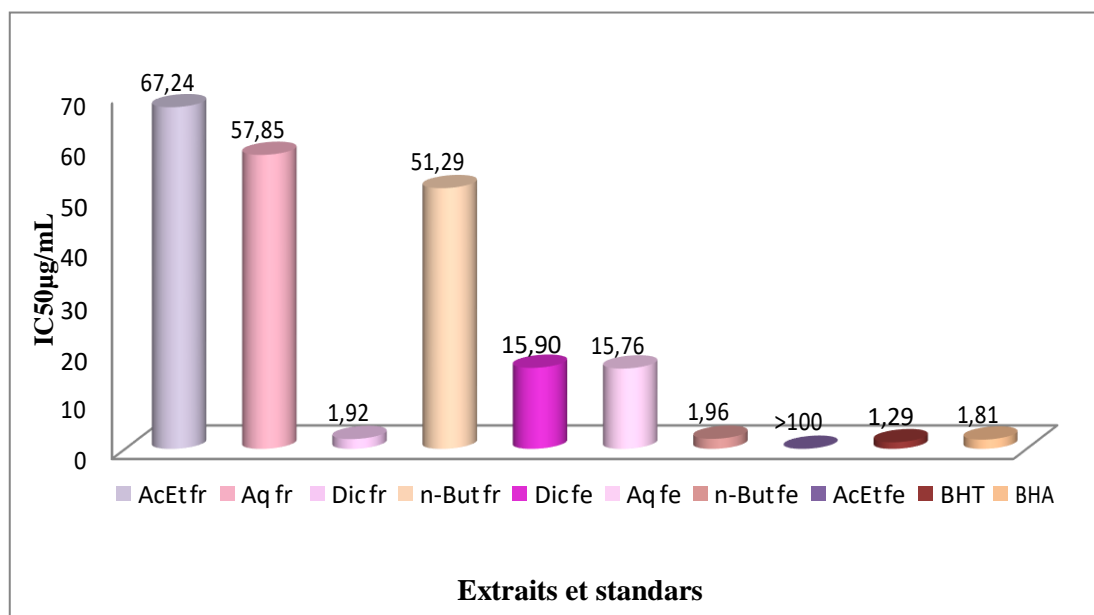


Figure 34 : Valeurs d'IC₅₀ du piégeage du radicale cationique ABTS⁺ exercée par les extraits de "*Pyracantha coccinea*"



A partir des résultats obtenus, nous avons remarqué que la valeur d'IC₅₀ des extraits Dic fr et n-But fe était presque identique avec celles des contrôles positifs BHT (butyl-hydroxy-toluène) et BHA (1,92±5,46 ; 1,96±4,76 ; 1,29±0,30 ; 1,81±0,10 µg/mL respectivement), confirmant l'activité antioxydante puissante et intéressante des extraits investigués. Cette activité était moins efficace pour les extraits Aq fe (15,76±8,37µg/mL) et Dic fe (15,90±5,87 µg/mL), suivie par les extraits n-But fr, Aq fr et l'AcEt fr, avec des valeurs d'IC₅₀ nettement supérieur 50 fois à celle de la référence BHT (51,29±4,14 ; 57,85±2,74 ; 67,24±7,36 µg/mL respectivement). Néanmoins, l'extrait AcEt fe a manifesté la plus faible activité (IC₅₀ > 100 µg/mL). Ce pouvoir antioxydant est dû probablement aux composés phénoliques contenus dans les fruits et les feuilles, connus comme substances antioxydants ayant la capacité de piéger les espèces radicalaires [4].

V. 2. Activité de réduction du fer par la méthode de FRAP (Ferric reducing antioxidant power)

La capacité réductrice du fer (FRAP) des extraits, est un indicateur significatif de l'activité donatrice d'électrons attribué à l'action des produits antioxydants. La détermination de cette capacité peut se réaliser, en mesurant les valeurs à titre de A_{0,50} (µg/mL) (correspondant à la concentration indiquant 0,50 d'absorbance) des extraits investigués et en les comparant avec celles de l'acide ascorbique et le BHT employés comme contrôles positifs. Les résultats obtenus pour les différentes concentrations sont illustrés sur la figure 35 et regroupées dans le tableau 04.

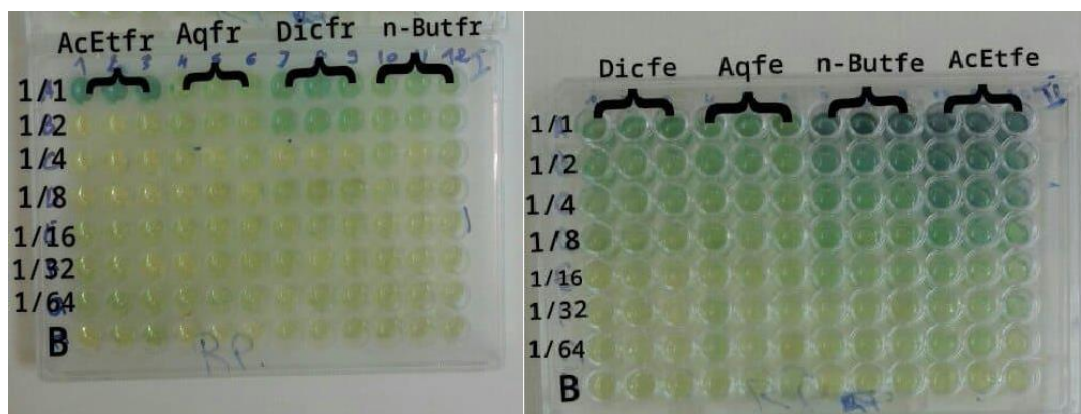


Figure 35 : Photographie des microplaques utilisées pour le test de réduction du fer (FRAP).

Tableau 07 : Valeurs des absorbances en fonction de la concentration des extraits de "Pyracantha coccinea" obtenus à partir du test FRAP.



[C] Extraits	Absorbance							
	0.78125 µg	1.5625 µg	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	A _{0,50} µg/mL
AcEt fr	0,16±0,01	0,11±0,00	0,12±0,01	0,05±0,00	0,05±0,01	0,05±0,01	0,83±0,14	7,81±4,85
Aq fr	0,10±0,03	0,08±0,03	0,12±0,00	0,05±0,00	0,06±0,00	0,17±0,00	0,18±0,03	70,01±3,39
Dic fr	0,09±0,01	0,09±0,04	0,14±0,03	0,15±0,01	0,05±0,01	0,35±0,01	0,42±0,11	62,39±20,33
n-But fr	0,09±0,02	0,11±0,00	0,09±0,01	0,11±0,03	0,16±0,01	0,24±0,01	0,32±0,02	91,49±8,67
Dicfe	0,10±0,03	0,11±0,07	0,12±0,03	0,23±0,08	0,31±0,03	0,42±0,09	0,86±0,09	27,09±0,53
Aq fe	0,13±0,06	0,12±0,06	0,14±0,04	0,26±0,08	0,31±0,05	0,45±0,05	0,70±0,13	32,46±7,09
n but fe	0,15±0,04	0,12±0,04	0,25±0,09	0,29±0,03	0,46±0,12	0,85±0,13	2,34±0,29	13,59±2,73
AcEt fe	0,21±0,07	0,15±0,01	0,23±0,04	0,48±0,13	1,06±0,23	1,36±0,14	2,28±0,53	7,17±2,74
BHA	0,09±0,00	0,11±0,01	0,18±0,02	0,36±0,04	0,78±0,07	1,74±0,07	3,53±0,19	8,41±0,67
Acid Asc	0,09±0,00	0,11±0,00	0,16±0,01	0,33±0,04	0,76±0,16	2,02±0,23	3,87±0,27	9,01±1,46

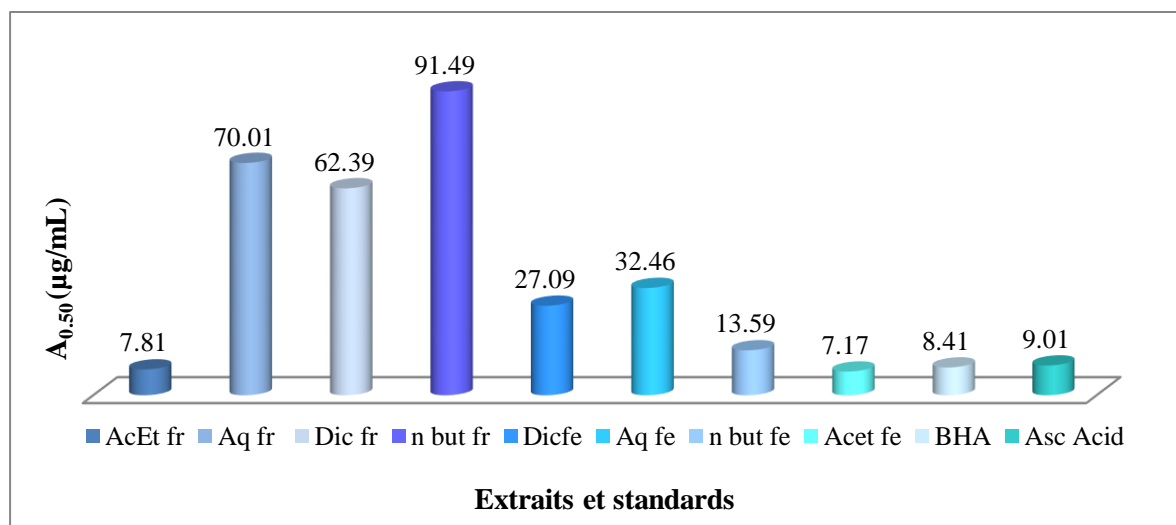


Figure 36 : Valeurs des A_{0,5} du test pouvoir réducteurs pour les extraits "Pyracantha coccinea"

A partir des résultats, on constate que le meilleur pouvoir réducteur, a été obtenus exhibé par les extraits de l'AcEt fe, avec une valeur d'A_{0,5} de 7,17±2,74 µg/mL et de l'AcEt fr (7,81±4,85 µg/mL), ces résultats ont été proches avec ceux du BHA et de l'acide ascorbique. L'extrait n-But fe a montré une valeur de A_{0,5} de 13,59 ±2,73 µg/mL, suivi par le Dic fe et l'Aq fe (27,09±0,53 ; 32,46±7,09 µg/mL respectivement). On note que ces dernières valeurs sont



supérieures presque trois fois à celles de l'acide ascorbique et le BHA (butyl-hydroxy-anisole), tandis que les extraits Dic fr, n-But fr et Aq fr, ont présente la plus faible activité. Ce pouvoir réducteur de la plante est probablement dû à la présence de groupement hydroxyle dans ses composés phénoliques, qui peuvent servir comme donneur d'électron [5].

VI. Evaluation de l'activité antibactérienne

L'évaluation *in-vitro* du potentiel antibactérien effectuée selon la méthode de diffusion sur disques sur un milieu gélosé solide (Muller Hinton). Ce pouvoir est estimé en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les extraits testés vis-à-vis sept micro-organismes. Les souches bactériennes utilisées sont des souches de référence ATCC (American type culture collection) et le DSM (Manuel de diagnostic et de statistique des troubles mentaux). Deux souches à gram négatif (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*) et trois souches à gram positif (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*) avec les deux souches fongique de (*Candida albicans*). Les souches microbiennes incubées pendant 24 heures à 37° C et 48 heures pour le champignon à 30° C. Les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés par un pied à coulisse en mm et rassemblés dans le tableau ci-dessous. Les résultats de l'activité antimicrobienne obtenue sont illustrés sur les figures 37-42.

Tableau 08 : Zones d'inhibition des micro-organismes testée par les extraits de "*Pyracantha coccinea*"

Extraits Souches	AcEt fe	Dic fe	n-But fe	Aq fe	AcEt fr	Dic fr	n-But fr
<i>Escherichia coli</i>	D:7,72mm S : +	D:11,89mm S : +	D: 9,63mm S : +	D:6,34mm S : -	D :9,71mm S : +	D : 6,84mm S : -	D: 6,24mm S : -
<i>Staphylococcus aureus</i>	D:7,82 mm S : -	D:10,12mm S : +	D :7,07 mm S : -	D :5,61mm S : -	D :5,72mm S : -	D: 5,173 mm S : -	D :5,58 mm S : -
<i>Bacillus subtilis</i>	D:13,09mm S: +	D:11,28mm S : +	D:13,09mm S : +	D:12,10mm S : +	D:12 mm S : +	D:11,136mm S : +	D:11,04mm S : +
<i>Micrococcus luteus</i>	D:5,48mm S: -	D:6,54mm S: -	D:10,99mm S: +	D :8,4,mm S : +	D:00mm S : -	D:00mm S: -	D:00mm S : -
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	D:5,89 mm S : -	D: 6,04 mm S : -	D: 7,70 mm S : -	D :5,49 mm S : -	D :6,30mm S : -	D :5,87 mm S : -	D : 6,54mm S : -



Candida albicans	D: 7,99mm S: -	D:9,30mm S: +	D:9,32mm S: +	D:10,42mm S: +	D:00mm S: -	D:6,27mm S: -	D:7,70mm S: -
F24	D: 00mm	D: 9,55mm	D: 8,54mm	D: 9,95mm	D: 8,14mm	D: 00mm	D:9,04mm
F36	S: -	S: +	S: +	S: +	S: +	S: -	S: +

D : diamètre de la zone d'inhibition ; S : Sensibilité ; - : Résistante ; + : Sensible

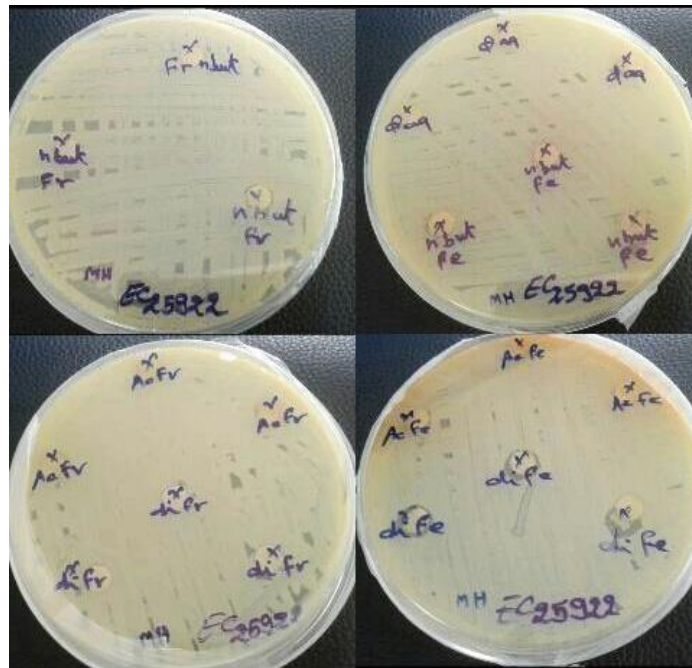


Figure 37 : Illustration des résultats du test de diffusion en milieu gélosé des extraits vis-à-vis la souche "*Escherichia coli*" (photos originales).



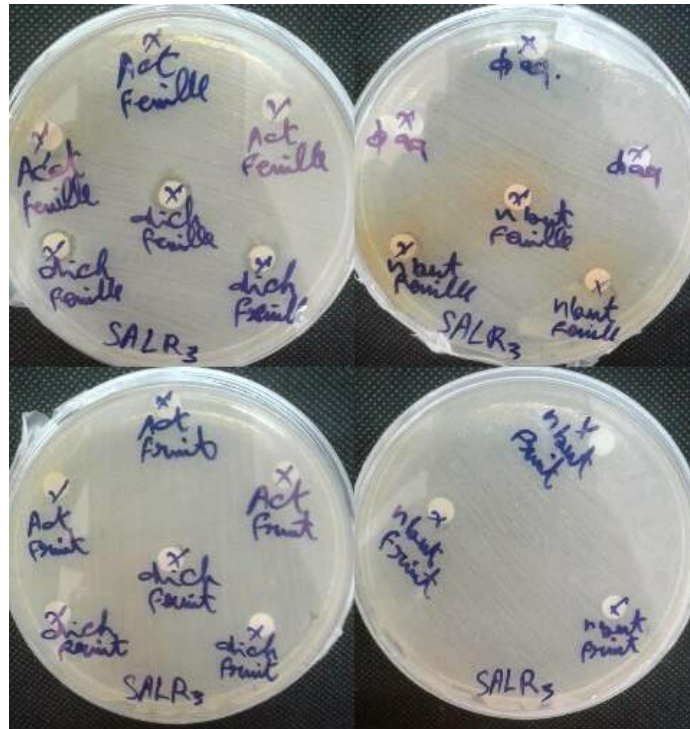


Figure 38 : Illustration des résultats du test de diffusion en milieu gélosé des extraits vis-à-vis la souche "*Staphylococcus aureus*" (photos originales).

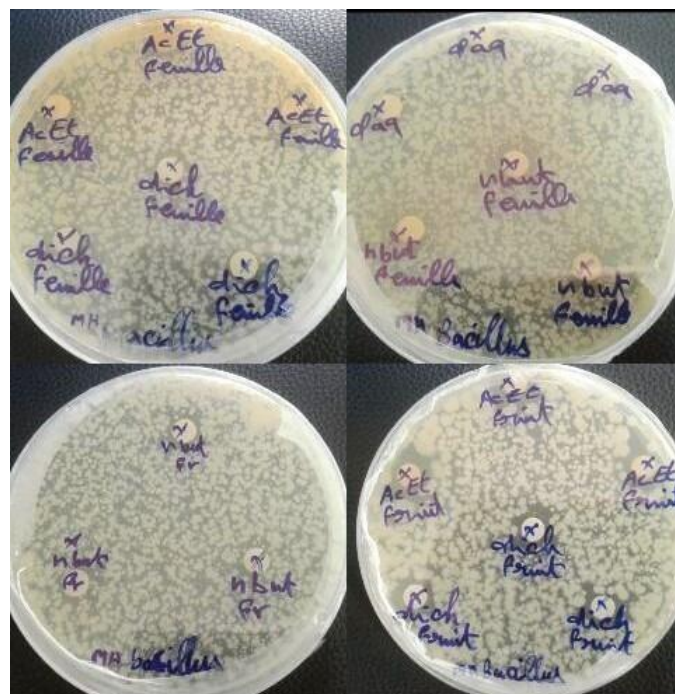


Figure 39 : Illustration des résultats du test de diffusion en milieu gélosé des extraits vis-à-vis la souche "*Bacillus subtilis*" (photos originales).



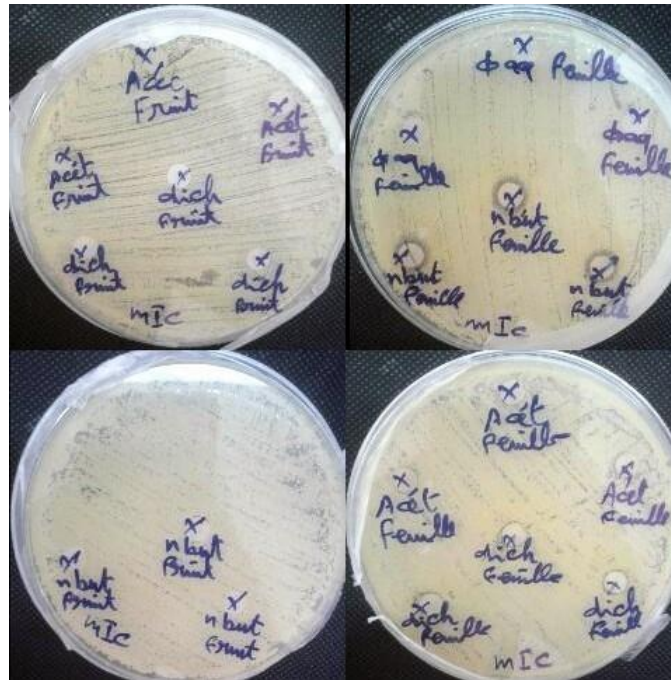


Figure 40 : Illustration des résultats du test de diffusion en milieu gélosé des extraits vis-à-vis la souche "*Micrococcus luteus* " (photos originales).



Figure 41 : Illustration des résultats du test de diffusion en milieu gélosé des extraits vis-à-vis la souche "*Klebsiella pneumoniae* " (photos originales).





Figure 42 : Illustration des résultats du test de diffusion en milieu gélosé des extraits vis-à-vis de champignon "*Candida albicans* " (photos originales).

Bien qu'il existe des zones d'inhibition moyennement faibles, les résultats de cette évaluation ont montré une activité antimicrobienne contre les six souches testées.

- D'après les résultats obtenus, nous avons noté l'apparition de zones d'inhibition modérées de diamètre variant entre (11,04-13,09 mm), contre le "*Bacillus subtilis*" avec tous les extraits. L'*Escherichia coli* a marqué une sensibilité limitée contre la fraction de Dic fe (11,893 mm), tandis que les extraits de feuilles (n-But et Dic), sont doués d'une activité non négligeable sur les souches "*Staphylococcus aureus*" et "*Micrococcus luteus*" respectivement. En outre, la *Klebsiella pneumoniae* a manifesté une résistance plus élevée contre tous les extraits étudiés.
- Les extraits des feuilles (Aq, n-But et Dic), ont exercés un effet antifongique moyen (10,42, 9,32 et 9,30 mm respectivement) contre les deux différentes souches de la levure "*Candida albicans*". Cependant, une absence totale de la zone d'inhibition a été observée avec les autres extraits et donc ils n'ont aucune activité.
- Il est à noter que plusieurs travaux ont rapportés la grande résistance des bactéries gram négatif par rapport aux gram positif [3]. Cela a été prouvé par les résultats que nous avons obtenus, où en constate que la souche bactérienne "*Bacillus subtilis* " G (+) a montré une



sensibilité limitée, alors que nous enregistrons la résistance de la souche "*Klebsiella pneumoniae*" G (-) contre les tous extraits investigués.

- La concentration des différents extraits de feuilles employée (1 mg/mL), s'avère insuffisante pour montrer une bonne activité antimicrobienne, par contre toutes les souches testées ont montrées une résistance considérable contre les échantillons des fruits sauf vis-à-vis le *Bacillus subtilis*.



RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] I. SAKER, "ETUDE PHYTOCHIMIQUE ET ACTIVITES BIOLOGIQUES D'UNE PLANTE DE LA REGION DE M'SILA *Mentha pulegium* L," Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila, 2012.
- [2] H. ABCHICHE and Z. GHEMAM, "Etude biologique d'extrait éthanolique de la propolis de la wilaya de Bouira," université Akli Mouhand Oulhadje-Bouira, 2016.
- [3] A. Fettah, "Étude phytochimique et évaluation de l'activité biologique (antioxydante-antibactérienne) des extraits de la plante *Teucrium polium* L. sous espèce *Thymoïdes* de la région Beni Souik, Biskra," UNIVERSITE MOHAMED KHIDER BISKRA, 2019.
- [4] A. Ferradji, "Activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits alcooliques et aqueux des feuilles et des baies de *pistacia lentiscus*," 2018.
- [5] N. Bougandoura, N. J. N. Bendimerad, and Technology, "Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq," p. 14, 2013.



CONCLUSION

GÉNÉRALE

Grâce à son vaste étendu et ses divers climats, l'Algérie est très riche en ses fortunes herberies variées. Un nombre relativement élevé de ces richesses est utilisé en pharmacopée traditionnelle comme remède pour différentes maladies. Parmi les plantes intéressantes employée pour ce fait il y'a le "*Buisson ardent*". En raison du grand intérêt suscité pour les propriétés biologiques de cette espèce largement utilisé en médecine traditionnelle, nous nous sommes intéressées dans ce travail à l'évaluation de ses activités antioxydante et antibactérienne.

Qualitativement, le screening phytochimique réalisé sur les feuilles et les fruits de cette plante, a mis en évidence la présence de divers métabolites secondaires comme : les flavonoïdes, les tanins, les terpènes et les saponosides.

Le rendement d'extraction le plus élevé, a été observé pour l'extrait aqueux des feuilles et des fruits avec un pourcentage de 27,46 % et 16,66 % respectivement, suivie par l'extrait butanolique des feuilles (13,8 %), alors que les autres extraits ont été obtenus avec un rendement relativement faible.

Quantitativement, l'évaluation de la teneur en polyphénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu, a révélé la présence de quantités importantes de polyphénols dans les deux parties étudiées. La teneur la plus élevée de ces composés a été constaté dans les feuilles avec une valeur de 263,97 mg EAG/g MS pour l'extrait de l'acétate d'éthyle. Cependant, l'extrait aqueux des fruits a présenté la teneur la plus basse avec une valeur de 24,307mg EAG/g MS. Le dosage des flavonoïdes par la méthode d' AlCl_3 a montré que les extraits des feuilles sont plus riches en ces composés, que ceux des fruits. De ce fait, l'extrait butanolique des feuilles détenait la quantité la plus élevée avec une valeur de 61,7 μg EQ/g MS, suivi par celui de l'acétate d'éthyle avec une valeur de 20 ,34 mg EAG/g MS, puis vient l'extrait aqueux qui a exhibé la teneur la plus faible avec la valeur de 5,86 μg EQ/g MS.

L'évaluation *in-vitro* du pouvoir antioxydant par le test de réduction du radical cationique $\text{ABTS}^{+\bullet}$, a montré que les extraits dichlorométhanique des fruits et butanolique des feuilles avaient une bonne activité de piéger ce radical, avec des IC_{50} de $1,92 \pm 5,46$ et $1,96 \pm 4,76$ $\mu\text{g}/\text{mL}$ respectivement. En revanche, l'estimation de cette activité par la méthode de la réduction du fer (FRAP), a révélé que les extraits de l'acétate d'éthyle des feuilles et des fruits possédaient un pouvoir réducteur significatif avec une valeur d' $\text{A}_{0,5}$ de $7,17 \pm 2,74$ $\mu\text{g}/\text{mL}$ et de $7,81 \pm 4,85$ $\mu\text{g}/\text{mL}$ respectivement.



L'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits investigués, déterminé par la méthode de diffusion sur disques, vis-à-vis les sept souches microbiennes : *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus* et deux souches de *Candida albicans*), a exhibée une activité modérée par les extraits des feuilles contre toutes les souches, sauf pour la *Klebsiella pneumoniae* qui a révélé une résistance bien nette. On outre, la meilleure activité antibactérienne a été observée contre le *Bacillus subtilis*, tandis que pour les *Candidat albicans*, une activité antifongique limité de ces extraits a été marqué. Par contre les extraits des fruits n'ont donnés aucun pouvoir antimicrobien vis-à-vis tous les microorganismes testés, sauf pour le *Bacillus subtilis* qui a manifesté une sensibilité limitée.

Nombreuses sont les perspectives qui peuvent être envisagées pour une évaluation plus approfondie de la plante étudiée à savoir :

- L'isolement et l'identification des principes actifs de cette plante responsables des activités biologiques, par différentes méthodes de séparation et d'identification.
- L'analyse par HPLC couplée à la masse ou par LC-MS des différents extraits obtenus.
- L'évaluation plus approfondie de l'activité antimicrobienne, à la recherche de la concentration minimale d'inhibition et la concentration minimale bactéricide, pour les extraits explorés. En outre, l'estimation d'autres activités biologiques tel que : l'activité antiinflammatoire, antitumorale et enzymatique est aussi envisagé.
- Elargir le travail pour d'autres application tel que : l'inhibition de la corrosion et l'électrodéposition.

On tient à mentionner que ce travail a fait l'objet de deux participations dans une conférence nationale sur les plantes médicinales.



Annexes



MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ LARBI TEBESSI – TEBESSA –
FACULTÉ DES SCIENCES EXACTES ET SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE APPLIQUÉE



Attestation de Participation

Le comité d'organisation de la première journée scientifique sur la Biologie des Plantes Médicinales, tenue à Tébessa le 22 janvier 2020, atteste par la présente que : Chifa Kardi a participé à cette manifestation par une communication Affichée intitulée :
«EXTRACTION DE POLYPHÉNOLS DES FEUILLES D'UNE PLANTE POUSSANT DANS LE NORD DE L'ALGÈRE»

Co-auteurs: Sameh Boudiba, Baya Berka, Salsabil Sekiou, Karima Hanini, Soraya Hioun, Merzoug Benahmed, Louiza Boudiba.

*Président de la journée
Dr. Samira BOUSSEKINE*



MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ LARBI TEBESSI – TEBESSA –
FACULTE DES SCIENCES EXACTES ET SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE APPLIQUÉE



Attestation de Participation

Le comité d'organisation de la première journée scientifique sur la Biologie des Plantes Médicinales, tenue à Tébessa le 22 janvier 2020, atteste par la présente que : Salsabil Sekiou a participé à cette manifestation par une communication affichée intitulée :

« SCREENING PHYTOCHIMIQUE D'UNE PLANTE POUSSANT DANS LE NORD DE L'ALGÈRE »

Co-auteurs: Sameh Boudiba, Baya Berka, Chifa Kardi, Karima Hanini, Soraya Houn, Merzouj Benahmed and Louiza Boudiba

*Présidente de la journée
Dr. Samira BOUSSEKINE*

