



N° d'ordre :

N° de série :

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي
Université Echahid Hamma Lakhdar EL-OUED
كلية علوم الطبيعة والحياة
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية
Département de Biologie Cellulaire et Moléculaire

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en sciences
biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

THEME

**Contribution à l'étude phytochimique de feuilles de
Pergularia tomentosa L. dans la région d'El-Oued**

Présenté par:

M^{elle} ABBASSI Latifa.

M^{elle} TOUIL Hadjer.

Devant le jury composé de:

Présidente : M^{elle}. ZAIME Sihem M.A.A, Université d'El-Oued.

Promoteur : Mr. TLILI Mohammed Laid M.A.A, Université d'El-Oued.

Examinatrice : M^{elle}. MEHELLOU Zineb M.A.B, Université d'El-Oued.

Année universitaire: 2018/2019



Remerciements

*Au terme de ce travail, nous remercions le **ALLAH** tout puissant qui nous a donné la force et la volonté d'achever cette réalisation et nous lui rendons grâce.*

*Nous adressons nos sincères remerciements à notre encadreur **TLILI Mohammed Laïd**, pour avoir proposé et diriger cette étude, pour son assistance et ses conseils pour assurer le succès de ce travail.*

*Nous exprimons aussi nos remerciements à **M^{lle}. ZAIME Sihem**, qui nous avons fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire et à **M^{lle}. MEHELLOU Zineb** d'avoir accepté d'examiner notre travail.*

Nous tenons à exprimer notre grand respect à eux.

*On adresse nos sincères remerciements à Mr. **CHOIKH Atef** pour ses conseils. Aussi pour son soutien, son attention et son qualités humaines.*

Nous tenons à remercier profondément tout qui nous aide pour faire ce travail, et surtout tous les travailleurs du laboratoire de la faculté des sciences de la nature et de la vie, université Echahid Hamma Lakhdar d'EL-OUED.

*Un grand merci aussi à Mr. **BESSEI AbdelMalek**, Mr. **BOUGHAZALA Hamed Ali** et **M^{lle} Bouhamed Mouna** pour leurs aide dans la réalisation de ce travail.*





Dédicaces

Je remercie le Bon Dieu pour tout et Je dédie ce mémoire à :

Mes très chers parents qui m'ont beaucoup soutenue et encouragée jusqu'au bout et qui ALLAH leur accorde une longue vie. Je leurs adresse mes remerciements les plus profonds, pour leurs encouragements et leurs conseils et surtout leur compréhension et pour tous les efforts qu'ils ont fournis pour nous permettre une meilleure vie.

Mes chères frères

Mes chères sœurs

Mes proches amies: Maroua, Nedjma, Ouafa et Ibtissam.

Je me rappellerai toujours de tous les bons moments que nous avons partagés ensemble et qui resteront gravés dans ma mémoire.

Toutes mes camarades de la promotion de Biochimie 2018 - 2019.

Tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Latifa



Dédicaces

Avant tout, je remercie Dieu, le Miséricordieux de m'avoir donné le courage, la force et la patience pour réaliser ce mémoire.

Je dédie ce modeste travail à mon très cher père qui m'a toujours soutenu et qui a été toujours présent pour moi.

A la plus chère au monde, ma mère qui m'a toujours offert ses aides morales durant mes études.

A mon frère : Abdelfattah

A ma soeurs

A tout ma famille

A mon amie et binôme : latifa

A mes chères amies : Ouafa, Nedjma, Ibtissam, Maroua, Fida.

A ma promotion de biochimie appliquée année 2019.

Tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Hadjer

LISTE DES TABLEAUX

Numéro	Titre	Page
I	Principales classes des composés phénoliques	05
II	Principales classes des flavonoïdes	07
III	Noms folkloriques de <i>P. tomentosa</i>	18
IV	Valeurs nutritionnelles de différents organes de <i>Pergularia tomentosa</i>	19
V	Analyse phytochimique quantitative de <i>Pergularia tomentosa</i> par mg.g ⁻¹ poids sec	20
VI	Composition minérale d'extrait de <i>Pergularia tomentosa</i>	20
VII	Souches microbiennes testées	32

LISTE DES FIGURES

Numéro	Titres	Pages
1	Structure du noyau phénol	4
2	Squelette de base des flavonoïdes	6
3	Structure de base des tanins hydrolysables	8
4	Structure chimique de quelques tanins hydrolysables	8
5	Structure chimique des tanins condensés	9
6	Extracteur Soxhlet	13
7	Four micro-onde	14
8	Les différentes organes de <i>Pergularia tomentosa</i> L.	16
9	<i>Pergularia tomentosa</i> L.	17
10	Distribution de <i>P. Tomentosa</i> dans tous les parties du monde	18
11	Géolocalisation de la région d'El-Oued	22
12	Ciprofloxacine 5 µg/disque.	24
13	Imipenem 10 µg/disque	25
14	Gélose nutritive	25
15	Gélose Mueller Hinton	25
16	gélose Sabouraud	25
17	Protocole de préparation d'extrait éthanolique par macération	27
18	Réduction du radical DPPH•	30

19	Les dilutions de l'extrait éthanolique de <i>P. tomentosa</i>	33
20	Schéma résume le protocole de l'activité antimicrobienne de <i>Pergularia tomentosa</i>	35
21	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux	36
22	Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes	37
23	Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tannins condensés	37
24	L'effet inhibiteur de l'extrait éthanolique de <i>Pergularia tomentosa</i> sur le DPPH	38
25	Courbe représentant le pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration en acide gallique	39
26	Courbe représentant le pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration en acide ascorbique	39
27	Histogramme des résultats de concentrations inhibitrices 50 % de DPPH de <i>P.tomentosa</i> , A.G et A.A	40
28	Courbe représentant le pourcentage d'hémolyse en fonction de la concentration en acide ascorbique	41
29	Courbe de pourcentage d'hémolyse en fonction des concentrations de l'extrait	41
30	Pourcentage d'hémolyse de l'extrait et l'acide ascorbique à la concentration 1 mg/ml	42
31	L'effet inhibiteur de l'extrait éthanolique du <i>P. tomentosa</i> contre <i>Salmonella typhi</i>	43
32	L'effet inhibiteur de l'extrait éthanolique du <i>P. tomentosa</i>	43

	contre <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
33	L'effet inhibiteur de l'extrait éthanolique du <i>P.tomentosa</i> contre <i>Escherichia coli</i>	44
34	L'effet inhibiteur de l'extrait éthanolique du <i>P. tomentosa</i> contre <i>staphylococcus aureus</i>	44
35	L'effet inhibiteur de l'extrait éthanolique du <i>P. tomentosa</i> contre <i>Listeria innocua</i>	45
36	L'effet inhibiteur de l'extrait éthanolique du <i>P. tomentosa</i> contre <i>Fusarium culmorum</i>	45
37	Histogramme représente les zones d'inhibition (par mm) des souches microbiennes testées en fonction de l'extrait, IPM10 et CIP5	46

SOMMAIRE

Remerciements
Dédicaces
Liste des tableaux
Liste des Figures
Introduction
PREMIÈRE PARTIE : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Métabolites secondaires

I.1. Composés phénoliques.....	03
I.1.1. Généralités, structure et biosynthèse.....	03
I.1.2. Classification.....	04
I.2. Flavonoïdes.....	06
I.3. Tanins.....	08
I.3.1. Tanins hydrolysables.....	08
I.3.2. Tanins condensés.....	09
I.4. Propriétés biologiques des polyphénols.....	09
I.4.1. Activité antioxydante.....	09
I.4.2. Activité antimicrobienne.....	10
I.4.3. Activités anti-inflammatoire.....	10
I.4.4. Effets cardiovasculaires.....	11
I.4.5. Ostéoporose.....	11
I.4.6. Vieillessement	11
I.5. Rôles des polyphénols dans les plantes.....	11
I.6. Extraction des composés phénoliques	12
I.6.1. Méthodes conventionnelles.....	12
I.6.2. Nouvelles méthodes	13

Chapitre II: Généralités sur l'espèce *Pergularia tomentosa* L

II.1. Présentation d'Asclepiadaceae	16
II.2. Présentation de l'espèce <i>Pergularia tomentosa</i> L.....	16
II.2.1. Description botanique de <i>Pergularia tomentosa</i> L.....	16
II.2.2. Position systématique de <i>Pergularia tomentosa</i> L.....	17
II.2.3. Étymologie	17

II.2.4. Origine et répartition géographique.....	18
II.2.5. Ecologie.....	19
II.3. Usage traditionnel.....	19
II.4. Travaux antérieurs.....	19
II.4.1. Composition biochimique du <i>Pergularia tomentosa</i>	19
II.4.1.1. Analyse proximale et composition en éléments nutritifs.....	19
II.4.1.2. Métabolites secondaires	20
II.4.1.3. Composition minérale.....	20
II.4.2. Activités biologiques et thérapeutiques du <i>Pergularia tomentosa</i>	20
II.4.2.1. Activité antioxydante.....	20
II.4.2.2. Activité antimicrobienne.....	20
II.4.2.3. Larvicide.....	21
II.4.2.4. Activité allélopathique.....	21
II.4.2.5. Activité cytotoxique.....	21

DEUXIEME PARTIE : PARTIE PRATIQUE

Chapitre I. Matériel et méthodes

I.1. Matériel.....	22
I.1.1. Présentation de site expérimental.....	22
I.1.2. Matériel végétal.....	22
I.1.3. Choix de plante.....	22
I.1.4. produits chimiques utilisés.....	23
I.1.5. matériel et appareils utilisés.....	23
I.1.6. Souches bactériennes ciblés.....	23
I.1.7. Antibiotiques de références.....	24
I.1.8. Milieux de culture	25
I.2. Méthodes.....	26
I.2.1. Extraction des composés phénoliques par macération.....	26
I.2.2. Calcul de rendement.....	26
I.2.3. Analyses quantitatives des composées phénoliques.....	28
I.2.3.1. Dosage des polyphénols totaux par Folin Ciocalteu.....	28
I.2.3.2. Dosage des flavonoïdes.....	28
I.2.3.3. Dosage de tanins condensés.....	29
I.2.4. Activités biologiques.....	29

I.2.4.1. Activité antioxydante.....	29
A. Test de piégeage du radical DPPH.....	29
B. Test hémolyse.....	31
I.2.4.2. Activité antimicrobienne.....	32
I.2.5. Analyses statistiques.....	34

Chapitre II. Résultats et discussions

II.1. Résultats.....	36
II.1.1. Rendement d'extrait éthanolique.....	36
II.1.2. Résultats de l'étude quantitative.....	36
II.1.2.1. Dosage des polyphénols totaux.....	36
II.1.2.2. Dosage des flavonoïdes.....	36
II.1.2.3. Dosage de tanins condensés.....	37
II.1.3. Evaluation biologique.....	38
II.1.3.1. Activité antioxydante.....	38
A. Test DPPH.....	38
B. Test hémolyse.....	40
II.1.3.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	42
II.2. Discussion.....	47
II.2.1. Rendement d'extraction.....	47
II.2.2. Analyse quantitative de composés phénoliques.....	47
II.2.2.1. Dosage de polyphénols totaux.....	47
II.2.2.2. Dosage des flavonoïdes.....	48
II.2.2.3. Dosage des tanins condensés.....	49
II.2.3. Activités biologiques.....	50
II.2.3.1. Activité antioxydante.....	50
A. Teste de DPPH.....	50
B. Test hémolyse.....	51
II.2.3.2. Activité antimicrobienne.....	52
Conclusion.....	55
Références bibliographiques.....	57
Résumé	

LISTE DES ABRÉVIATIONS

AA: Acide ascorbique

ADN: Acide désoxyribonucléique

AG: Acide Gallique

AGPI: Acides gras polyinsaturés.

AlCl₃: Trichlorure d'Aluminium

ARN: L'acide ribonucléique

ATBs: antibiotiques

CIP 5: Ciprofloxacine 5

CLIP: the world health organization collaborating centre for Listeria (Institut Pasteur, France)
for identification and characterization

DMSO: Dimethylsulfoxyde

DPPH: Diphenyl picryl hydrazyl

EDTA : Éthylène Diamine Tétra-Acétique

Fe⁺³: Ions ferriques.

FeCl₃: Chlorure de fer

H₂O₂: Peroxyde d'hydrogène.

HCL: Hydrogen chloride

IC₅₀: Concentration inhibitrice à 50%

IPM 10: Imipenem 10

LDL: Low Density Lipoproteins

mg EAG/g E: Milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme de l'extrait

mg ECT/g E: milligramme d'équivalent de catéchine par gramme de l'extrait

mg EQ/g E: milligrammes d'équivalent de quercétine par gramme de l'extrait

Na₂ CO₃: Carbonate de Sodium

OMS: Organisation Mondiale de la Santé

Phe: phénylalanine

Rdt: Rendement total

Tyr: Tyrosine



Au travers des âges, l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base: nourriture, abris, vêtements et également pour ses besoins médicaux. L'utilisation thérapeutique des extraordinaires vertus des plantes pour le traitement de toutes les maladies de l'homme est très ancienne et évolue avec l'histoire de l'humanité (**Lhuillier, 2007**).

Selon l'Organisation mondiale de la Santé (**OMS, 2002**) environ 65- 80% de la population mondiale dans les pays en développement, sur raison de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne, dépendent essentiellement des plantes médicinales traditionnelles pour leurs soins de santé primaire. Et malgré les remarquables progrès en chimie organique de synthèse du vingtième siècle, plus de 25% des médicaments prescrits dans les pays industrialisés tirent directement ou indirectement leurs origines des plantes (**Laraba et al., 2016**).

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité, pour soulager et guérir les maladies humaines. En fait, leurs propriétés thérapeutiques sont dues à la présence de centaines, voire des milliers de composés naturels bioactifs appelés: les métabolites secondaires (**Boudjouref, 2011**), ces dernières, en particulier, sont doués de multiples vertus thérapeutiques. Ils jouent un rôle très important, principalement dans la lutte contre les cancers, les maladies cardiovasculaires et la peroxydation lipidique, expliquant ainsi leur grande utilisation dans la fabrication des médicaments. Ils interviennent aussi dans la protection des plantes contre les différentes attaques microbiennes (**Bruneton, 2009**).

Actuellement, le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques et la toxicité des antioxydants synthétiques ont conduit les chercheurs à puiser dans le monde végétal et particulièrement les plantes médicinales (**Benbrinis, 2012**).

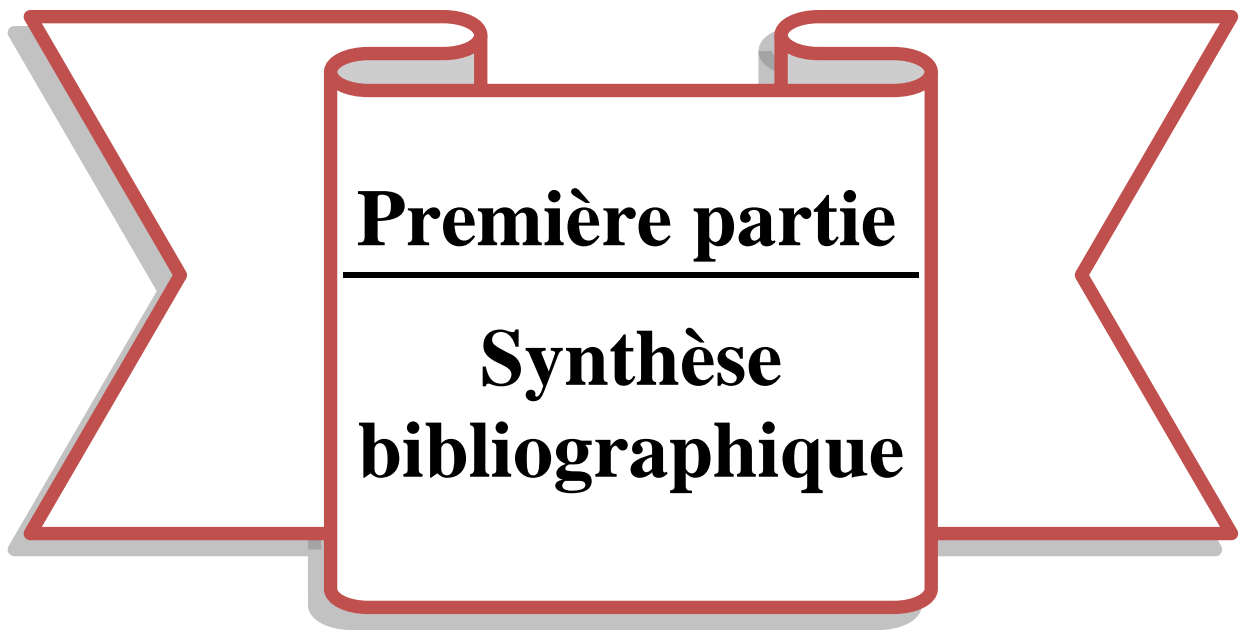
La flore Algérienne avec ses 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques dont 15 % endémiques, reste très peu explorée sur le plan phytochimique comme sur le plan pharmacologique. La valorisation des plantes médicinales de la flore nationale sera d'un grand apport pour l'industrie pharmaceutique algérienne et aura un impact économique certain (**Touafek, 2010**).

C'est pourquoi, nous sommes intéressés à étudier une des plantes sahariennes reconnues médicinales traditionnelle poussant dans la zone d'Oued Souf, en l'occurrence *Pergularia tomentosa* L. appartient à la famille des asclepiadaceae. Cette plante avait de nombreuses applications dans différents remèdes de médecine traditionnelle, tels que diarrhée, bronchite, constipation, dermatoses, tuberculose, dépilatoire, laxatif, anthelminthique, abortif (**Lahmar et al., 2015**).

L'objectif de notre travail vise à démontrer la présence de notre plante en polyphénols et à déterminer leur activité antioxydante et antibactérienne. Le travail est subdivisé en deux grandes parties: dont une partie théorique qui regroupe deux chapitres dont le premier rassemble des données sur les métabolites secondaires, Par ailleurs, le deuxième chapitre rassemble des données bibliographiques sur la plante étudié *Pergularia tomentosa* L.

La partie pratique englobe deux aspects: dont le premier décrire le matériel et les méthodes utilisées lors de travail expérimental, qui port sur une étude phytochimique d'extrait de plant étudiée basée sur la quantification des composés phénoliques, et l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits vis-à-vis du radical libre DPPH, et le test d'hémolyse. Finalement un test antimicrobien est également réalisé afin de déterminer l'efficacité de l'extrait contre *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Listeria innocua*, et *Fusarium culmorum*.

Le deuxième aspect, regroupant les résultats obtenus et leur discussion générale.



Chapitre I.
**Généralités sur les composés
phénoliques**

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées par les plantes autotrophes (**Boudjouref, 2011**). Ce sont caractérisés généralement par de faible concentration dans les tissus végétaux (**Newman et Cragg, 2012**). Aussi n'exercent pas de fonction directe au niveau des activités fondamentales de la plante (**Guignard, 1996**). Biosynthétisés à partir de métabolites primaires et jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement, contribuant ainsi à la survie de l'organisme dans son écosystème (**Peeking et al., 1987**).

Les métabolites secondaires se trouvent dans toutes les parties des plantes mais ils sont distribués selon leurs rôles défensifs. Cette distribution varie d'une plante à l'autre (**Merghem, 2009**). Ainsi leur concentration dans les différentes parties des plantes est influencée par plusieurs facteurs environnementaux tels que la température, l'humidité, l'intensité lumineuse, l'eau, les sels minéraux et le CO₂ (**Ramakrishna et Ravishankar, 2011**).

Ils existent plus de 200 000 métabolites secondaires identifiées (**Vermeris et al., 2006**), appartiennent à 3 classes principales qui sont les alcaloïdes, les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes, appelés aussi composés phénoliques (**Wuyts, 2006**).

I.1. composés phénoliques

I.1.1. Généralités, structure et biosynthèse

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires végétaux. (**Macheix et al., 2005**). Ils forment une immense famille de plus de 8000 composés naturels, sont divisés en plusieurs catégories: les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols; les tanins qui sont des produits de la polymérisation des flavonoïdes, les acides phénoliques, les coumarines, les lignanes et d'autres classes existent en nombres considérables (**Dacosta, 2003**).

Les polyphénols sont présents partout dans les racines, les tiges, les fleurs, les feuilles de tous les végétaux. Les principales sources alimentaires sont les fruits et légumes, les boissons (vin rouge, thé, café, jus de fruits), les céréales, les graines oléagineuses et les légumes secs. Les fruits et légumes contribuent environ pour moitié à notre apport en polyphénols (**Middleton et al., 2000**).

Ils sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la germination des graines et la maturation des fruits (**Boizot et Charpentier, 2006**).

L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau phénolique à 6 carbones (**Fig.01**), auquel est directement lié au moins un groupe

hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside (Bruneton, 1999).

La structure des composés phénoliques naturels varie depuis les molécules simples (acides phénoliques simples) vers les molécules les plus hautement polymérisées (tanins condensés) (Macheix *et al.*, 2005). Le terme « phénol » englobe approximativement 10000 composés naturels identifiés (Martin et Andriantsitohaina, 2002; Druzyńska *et al.*, 2007; Balasundram *et al.*, 2006).

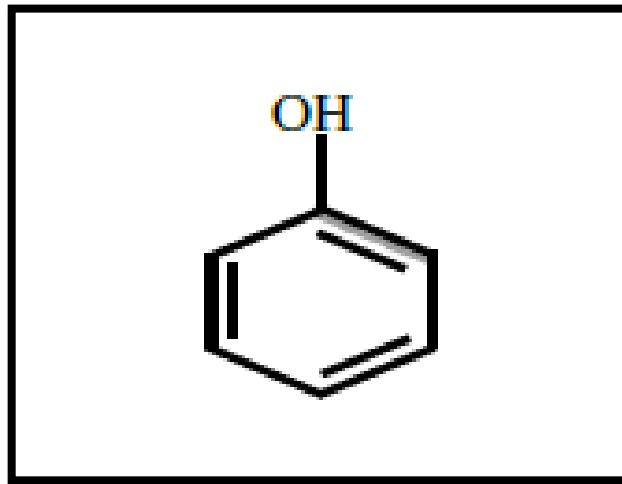


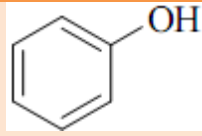
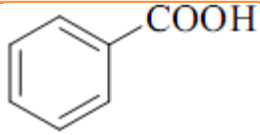
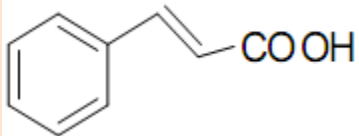
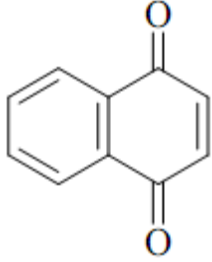
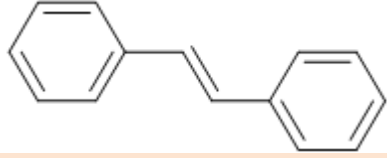
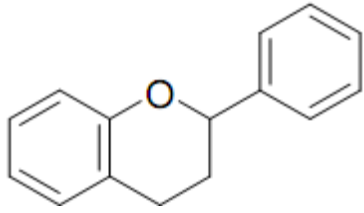
Figure 01: Structure du noyau phénol (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

Les composés phénoliques des végétaux sont issus de deux grandes voies d'élaboration de cycles aromatiques, la voie shikimate (également responsable de la synthèse des acides aminés Phe et Tyr) et la voie polyacétate, qui consiste en la condensation de molécules d'acétylcoenzymeA. Cette biosynthèse a permis la formation d'une grande diversité de molécules qui sont spécifiques d'une espèce de plante, d'un organe, d'un tissu particulière (Guignard, 2000 ; Bruneton, 2008).

I.1.2. Classification

Les composés phénoliques sont commodément classés selon le nombre d'atomes de carbone dans le squelette de base (Dacosta, 2003).

Tableau I : Principales classes des composés phénoliques (Rezaire, 2012)

Squelette carboné	Classe	Structures de base
C6	Phénols simples	
C6-C1	Acides hydroxybenzoïques	
C6-C3	Acides hydroxycinnamique coumarines	
C6-C4	Naphtoquinones	
C6-C2-C6	Stilbènes	
C6-C3-C6	Flavonoïdes	
(C6-C3)2	Lignanes	
(C6-C3)n	Lignines	
(C6-C3-C6)n	Tanins condensés	

I.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments jaunes, généralement polyphénoliques, très répandus chez les végétaux ; ils sont responsables en particulier de la coloration des fleurs, des fruits et même des feuilles. Abondants chez les plantes supérieures, ils sont présents dans tous les organes jeunes, feuilles et boutons floraux (**Roux et Catier, 2007**), dans les fruits, les légumes, les graines, les boissons tels le thé et le vin rouge (**Tsimogiannins et Oreopoulou, 2006**).

Le nom flavonoïde proviendrait du terme flavedo, désignant la couche externe des écorces d'orange (**Piquemal, 2008**), cependant d'autres auteurs supposaient que le terme flavonoïde a été plutôt prêté du flavus ; (flavus = jaune) (**Malesev et Kuntic, 2007**). Ces molécules sont les polyphénols les plus abondants de notre alimentation et plus de 4000 composés ont pu être identifiés (**D'archivio et al., 2007**).

Ce sont des métabolites secondaires qui partagent tous la même structure de base nommée « Flavane » (**Fig.02**), formée par de deux cycles aromatiques reliés par une chaîne en trois carbones : C6-C3-C6, souvent fermée par un hétérocycle oxygéné (**Milane, 2004**). Ces composés existent sous forme libre dite aglycone ou sous forme liée à des oses et autres substances, dite hétérosides (**Heller et Forkmann, 1993**).

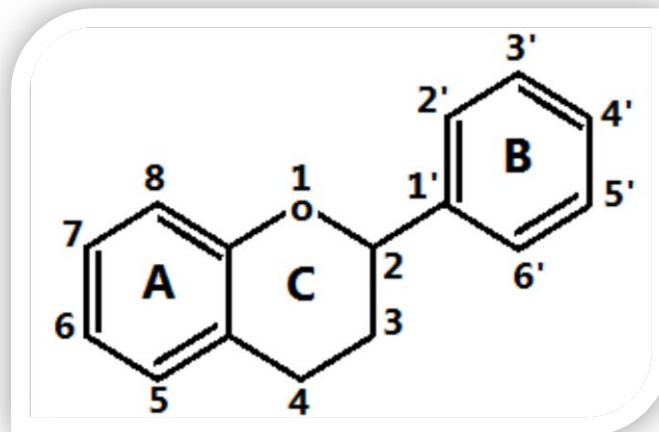
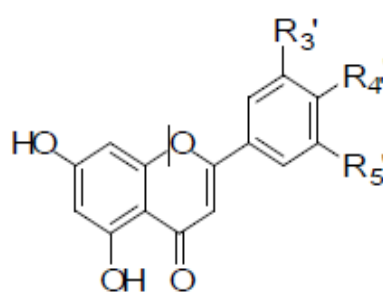
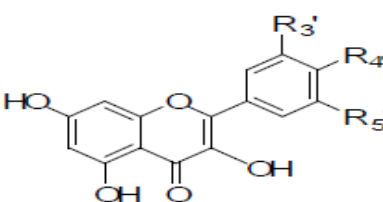
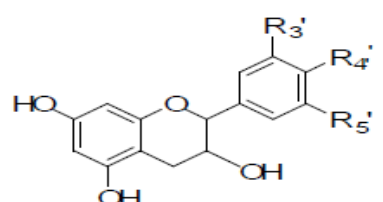
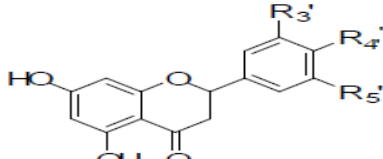
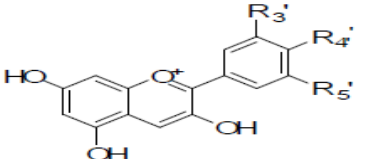
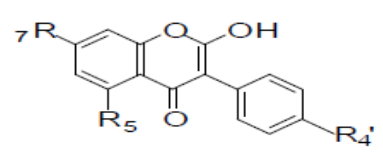


Figure 02 : Squelette de base des flavonoïdes (**Heim et al., 2002**).

Tous les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et de ce fait possèdent le même élément structural de base (**Bouakaz, 2006**). Ils peuvent être subdivisés en sous-classes selon la structure de l'hétérocycle C. Il existe dans chaque sous-classe de nombreux composés selon les substitutions des cycles aromatiques. La plupart des flavonoïdes sont glycosylés, ce qui augmente leur solubilité dans l'eau (**Crozier et al., 2009**).

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

Classe	Structure chimique	R ₃	R ₄	R ₅	Exemple
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH ₃	H	Déosmétine
Flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myecétine
Flavanols		OH	OH	H	Catéchine
Flavanones		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Anthocyani- dines		H	OH	H	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine
Isoflavones		R ₅	R ₇	R ₄	
		OH	OH	OH	Genisteine
		H	O-Glu	OH	Daidezine

I.3. Tanins

Les tanins sont des composés phénoliques solubles dans l'eau, de poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Dalton (**Peronny, 2005**), ayant en commun la propriété de tanner la peau, c'est-à-dire de la rendre imputrescible. Ces substances ont en effet la propriété de se combiner aux protéines, ce qui explique leur pouvoir tannant. Très répandus dans le règne végétal ils peuvent exister dans divers organes, mais on note une accumulation plus particulièrement dans les tissus âgés ou d'origine pathologique. Ils sont localisés dans les vacuoles, quelque fois combinés aux protéines et aux alcaloïdes (**Roux et Catier, 2007**).

On distingue habituellement chez les végétaux supérieurs deux groupes basés sur des différences structurales : les tanins hydrolysables et les tanins non hydrolysables (**Fiorucci, 2006**).

I.3.1. Tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables, comme leur nom l'indique, sont caractérisés par le fait qu'ils s'hydrolysent facilement en milieux acides et alcalins ou sous l'action d'enzymes (telle que la tannase) (**Quideau, 2009**). Se sont des esters d'un sucre (glucose) et d'un nombre variable de molécules d'acide phénol (**Fig.03**), ces tanins sont de deux types : Les tanins galliques qui sont les esters d'oses (glucose) et d'acides galliques; et les tanins éllagiques qui sont des esters d'oses et d'acide éllagiques (**Fig.04**), (**Atefeibu, 2002 ; Asres et al., 2005**).

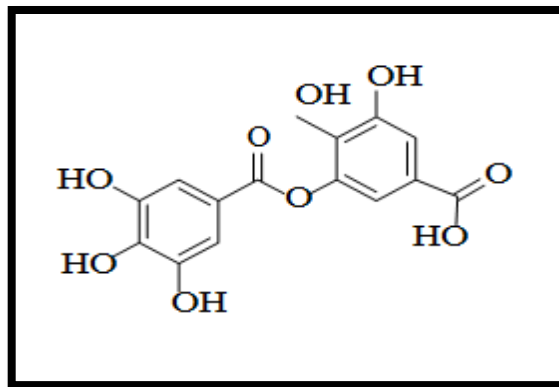
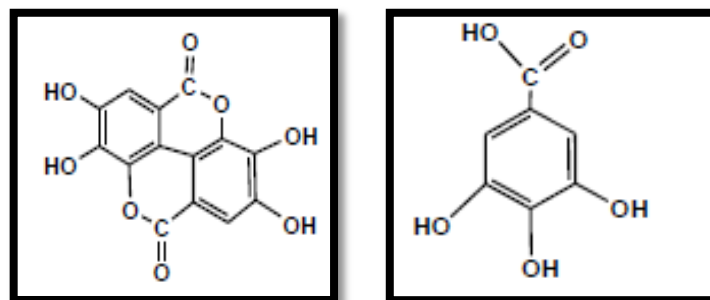


Figure 03: Structure de base des tanins hydrolysables (**Hartzfeld et al., 2002**).



Acide éllagique

Acide gallique

Figure 04 : Structure chimique de quelques tanins hydrolysables (**Crestini et Lange, 2015**).

I.3.2. Tanins condensés

Les tanins condensés sont des oligomères de flavane-3-ols (des anthocyanidines) et des flavane-3,4-diols (des leucoanthocyanidines) (**Fig.05**), dérivés de la catéchine ou de ses nombreux isomères (**Stevanovic et Perrin, 2009**).

Contrairement aux tanins hydrolysables, les tanins condensés sont résistants à l'hydrolyse et seules des attaques chimiques fortes permettent de les dégrader (**Macheix et al., 2005**).

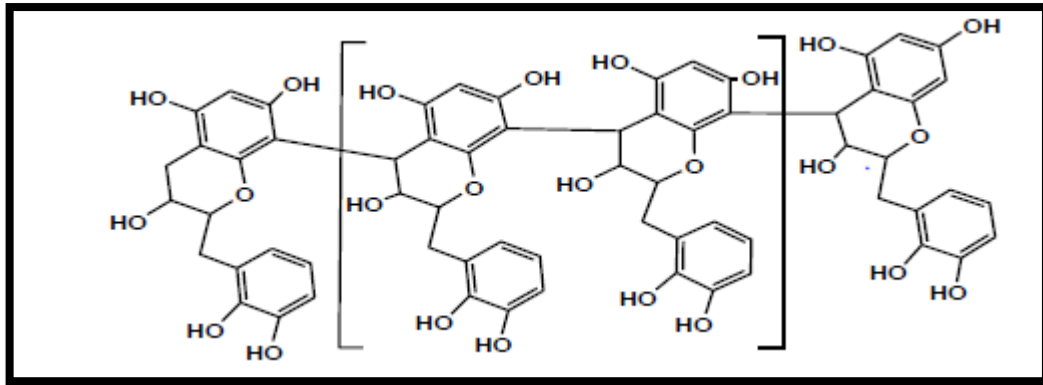


Figure 05 : Structure chimique des tanins condensés (**Macheix et al., 2005**).

I.4. Propriétés biologiques des polyphénols

I.4.1. Activité antioxydante

Comme la vitamine C et les caroténoïdes, les polyphénols ont la capacité de piéger les radicaux libres, générés en permanence par notre organisme ou formés en réaction à des agressions de notre environnement (tabac, polluants, infections ...). Quand ils sont ingérés avec les aliments, ils renforcent nos défenses naturelles en protégeant nos cellules et nos tissus contre le stress oxydant (**Scalbert, 2004**).

Les flavonoïdes, peuvent empêchés les dommages oxydatifs par différentes mécanismes d'actions : soit par capture des radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes (**Hodek et al., 2002**) ; soit par chélation des métaux (le fer et le cuivre) qui sont d'importance majeure dans l'initiation des réactions radicalaires ; soit l'inhibition des enzymes responsables de la génération des radicaux libres (**Van Acker et al., 1996 ; Benavente-Garcia et al., 1997**). Concernant le pouvoir antioxydant des tannins, cette propriété est très remarquable due à leurs noyaux phénols (**Rahman et al., 2006**). Les autres composés phénoliques qui possédant les activités antioxydantes et antiradicalaires sont l'acide caféique, l'acide gallique et l'acide chlorogénique (**Bossokpi, 2002**).

I.4.2. Activité antimicrobienne

Les polyphénols notamment les flavonoïdes et les tannins sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes. Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrolases) ou d'autres interactions pour inactiver les adhésines microbiens, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire (Cowan, 1999).

Il a été reporté que les raisins *Vitis vinifera* possèdent des propriétés pharmacologiques importantes, en particulier des activités antimicrobiennes grâce à la présence de nombreux polyphénols, notamment d'acide gallique, d'acide hydroxycinnamique, de flavanols, de flavonols, et de tanins (Nassiri-asl et Hosseinzadeh, 2009).

Une étude faite sur *Tibouchina grandifolia* a montré une forte activité antifongique de flavonoïde contre différents types de moisissures (Kuster *et al.*, 2009).

Pour l'acide caféique, il se montre très efficace contre les virus, bactéries et champignons (Cowan, 1999). Les flavonoïdes sont aussi connus pour leur activité antivirale, principalement contre le rétrovirus HIV responsable du symptôme d'immunodéficience acquise (SIDA), virus d'influenza, virus de l'herpes (HV), adénovirus (ADV) et virus de la grippe A (A/WS/33) (Choi *et al.*, 2009).

I.4.3. Activités anti-inflammatoire

L'inflammation est la réponse immunitaire de l'organisme à une agression par des agents pro-inflammatoires d'origine virale, bactérienne ou autre (par exemple, les lipoprotéines oxydées, marqueurs du stress oxydant). L'inflammation est précisément régulée afin de limiter les altérations des biomolécules de l'hôte. Cependant, une régulation inappropriée de ce phénomène peut conduire à un état inflammatoire chronique (Bengmark, 2004), et la plupart des pathologies chroniques citées précédemment, possèdent une composante inflammatoire (Hotamisligil, 2006).

Les différentes études menées sur les effets protecteurs des polyphénols dans ces contextes pathologiques ont montré que ceux-ci diminuaient les marqueurs de l'inflammation (Gonzalez-Gallego *et al.*, 2010) et agissaient sur de nombreuses cibles moléculaires au centre des voies de signalisation de l'inflammation (Santangelo *et al.*, 2007).

Dans la famille des stilbènes, le resvératrol, a montré des propriétés anti-inflammatoires *in vivo* et *in vitro*. Les recherches se tournent actuellement vers la synthèse de produits à base de resvératrol dans le but de diminuer l'utilisation de médicaments synthétiques (Udenigwe *et al.*, 2008).

I.4.4. Effets cardiovasculaires

De nombreux travaux suggèrent que les polyphénols participent à la prévention des maladies cardio-vasculaires. Leur consommation se traduit par une augmentation transitoire de la capacité antioxydante du plasma dans les heures qui suivent le repas. Parvenus au niveau des artères, ils préviennent l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (Low Density Lipoproteins ou LDL), qui est l'un des facteurs clé du processus physiopathologique de l'athérosclérose (**Manach *et al.*, 2005**).

Les mécanismes d'action des polyphénols, impliqués dans la prévention de ce type de pathologies, incluent l'inhibition de l'oxydation des LDL, l'inhibition de l'agrégation des plaquettes et l'inhibition de la formation de cellules spumeuses dans les aortes (**Scalbert *et al.*, 2005**).

I.4.5. Ostéoporose

Certains polyphénols peuvent agir comme des hormones, tels que par exemple les isoflavones de soja ; même si leur rôle contre la diminution du capital osseux reste encore controversé chez l'homme (**Scalbert, 2004**).

I.4.6. Vieillesse

Les laboratoires cosmétiques s'intéressent de près aux polyphénols et les incorporent dans leurs crèmes anti-âge. En effet, les polyphénols agissent directement contre le vieillissement de la peau ; ils luttent contre les radicaux libres et donc ralentissent le vieillissement cellulaire (**Guillard, 2011**).

I.5. Rôles des polyphénols dans les plantes

Les flavonoïdes sont responsables de la coloration des fleurs et des fruits qui couvrent une large gamme de couleur allant du rouge au violet en passant par le jaune. Leur couleur dépend de leur structure, mais aussi de l'acidité du milieu (**Bruneton, 2009**).

On peut également noter que les flavonoïdes, en repoussant certains insectes par leur goût désagréable, peuvent jouer un rôle dans la protection des plantes. Les flavonoïdes montrent d'autres propriétés intéressantes dans le contrôle de la croissance et du développement des plantes en interagissant d'une manière complexe avec diverses hormones végétales de croissance. Certains d'entre eux jouent également un rôle de phytoalexines, c'est-à-dire des métabolites que la plante synthétise en grande quantité pour lutter contre une infection causée par des champignons ou par des bactéries (**Ghedadba *et al.*, 2015**). De plus ils sont impliqués dans la photosensibilisation, la morphogénèse, la détermination sexuelle, la photosynthèse et la régulation des hormones de croissance des plantes (**Lhuillier, 2007**).

I.6. Extraction des composés phénoliques

Plusieurs techniques sont utilisées pour extraire les composés phénoliques. Ces techniques sont soit conventionnelles, telles que l'extraction par macération, par soxhlet, ou nouvelles comme l'extraction assistée par micro-ondes, par ultrasons, par fluide supercritique, par subcritique, ou en phase solide (EPS).

I.6.1. Méthodes conventionnelles

I.6.1.1. Macération

Elle consiste à mettre une plante ou partie de plante, dans de l'eau froide (macération aqueuse) ou une huile végétale (macération huileuse), pendant plusieurs heures, voir plusieurs jours, pour permettre aux constituants actifs de bien diffuser. Elle convient pour l'extraction de plantes contenant du mucilage, comme les graines de lin ou les graines du plantain des sables, leur forte concentration en amidon ou pectine peut causer une gélatinisation s'ils se préparent dans de l'eau bouillante. Egalement utilisée pour empêcher l'extraction de constituants indésirables qui se dissolvent dans l'eau chaude (**Kraft et Hobbs, 2004**). Elle concerne aussi les plantes dont les substances actives risquent de disparaître ou de se dégrader sous l'effet de la chaleur par ébullition (**Baba-Aïssa, 2000**).

I.6.1.2. Soxhlet

L'extraction par l'appareil Soxhlet (nous allons l'appeler simplement Soxhlet) est une méthode simple et convenable nous permettant de répéter infiniment le cycle d'extraction avec du solvant frais jusqu'à épuisement complet du soluté dans la matière première, d'où vient son efficacité élevée (**fig 06**) (**Penchev, 2010**).

Cependant, le Soxhlet possède quelques désavantages comme, par exemple, le temps d'extraction relativement long, la possibilité de dégradation des composés à cause d'une surchauffe locale, le choix limité du solvant, les difficultés d'utilisation de mélanges de solvants, etc (**Penchev, 2010**).

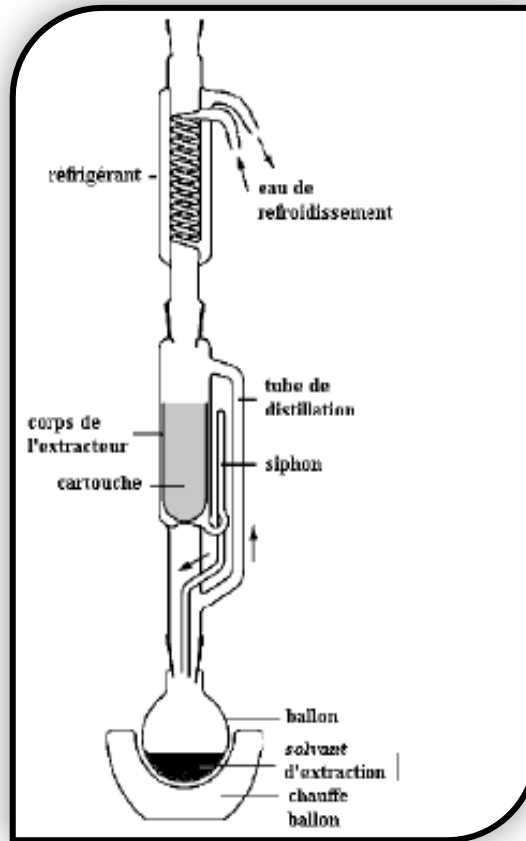


Figure 06 : Extracteur Soxhlet (Penchev, 2010).

I.6.2. Nouvelles méthodes

I.6.2.1. Extraction Assistée par Micro-onde (EAM)

L'EAM est une nouvelle technique d'extraction utilisée pour extraire des polyphénols et des tanins, et pour extraire les acides phénoliques et les flavonoïdes (fig 07). Son principe consiste en la propagation des radiations électromagnétiques dans le matériau, pour atteindre les molécules polaires présentes dans la matière d'extraction. Ces molécules génèrent de la chaleur qui chauffe le matériau à cœur. Les radiations se propagent sous forme de vagues avec des fréquences allant de 0,3 à 300 GHz (Wang et Weller, 2006). La pression élevée provoque la rupture des cellules, ce qui facilite la pénétration du solvant (Mondal *et al.*, 2007). L'EAM présente l'intérêt d'être une source d'énergie contrôlable de façon instantanée et réglable avec précision. Elle permet d'accélérer la cinétique d'extraction et de réduire le ratio solvant/charge, ce qui permet de préserver les composés les plus thermolabiles des réactions de dégradation traditionnelles. De plus, en raison de la rapidité du procédé, il y a une augmentation de la sélectivité de l'extraction par rapport à la méthode traditionnelle (Anizon *et al.*, 2003).



Figure 07 : Four micro-onde (Rhazi, 2015).

I.6.2.2. Extraction assistée par ultrasons

Cette technique présente l'intérêt de faire des extractions à température ambiante, 20-25°C et pour des durées très courtes de 3-30 min, ce qui permet de préserver les composés thermolabiles (acide gras, polyphénols) (Routray et Orsat, 2012), des colorants, des antioxydants, des arômes ou aussi des caroténoïdes. Son principe consiste à la destruction des parois cellulaires par des fréquences d'ultrasons, ce qui permet une meilleure pénétration du solvant au cœur de la matière, et par conséquent un meilleur rendement d'extraction. Les fréquences utilisées sont généralement supérieures à 20 kHz. En milieu liquide, les ultrasons provoquent des cycles d'expansion et de compression des cellules formant ainsi des bulles. Le développement excessif des bulles microscopiques à proximité des parois cellulaires, entraîne une élévation de température et de pression, ce qui provoque l'explosion des bulles et la destruction des parois cellulaires (Perraut, 2013 ; Wang et Weller, 2006).

I.6.2.3. Extraction en phase solide (EPS)

Cette technique peut être également employée pour le fractionnement et/ou la purification ou pour obtenir la concentration initiale des composés. En effet, l'extraction en phase solide avec des cartouches C18 a été régulièrement utilisée pour l'extraction sélective d'acides phénoliques et de flavonoïdes des vins rouges (Pinelo *et al.*, 2006).

Cette méthode constitue aussi une autre option rapide et économique puisqu'elle réduit de manière significative le volume des solvants requis (Escribano-Bailon et Santos-Buelga, 2003).

I.6.2.4. Extraction par fluide supercritique

Cette technique utilise le CO₂ dans des conditions de température et pression supercritique, respectivement 304 °K et 7,28 M Pa. Le dioxyde de carbone présente l'avantage de créer un environnement sans oxygène et donc éviter d'avoir des réactions d'oxydation, c'est un fluide non polaire ce qui limite la solubilité des composés polaires (**Murga et al., 2000**). Généralement, il est utilisé avec des co-solvants polaires avec une faible concentration (3-5%) pour améliorer la solubilité des produits polaires. Les co-solvants utilisés sont : l'eau, le méthanol, l'éthanol, l'acétone. Un mélange méthanol-eau permet une bonne extraction des composés phénoliques par rapport aux autres solvants (**Pensera et al., 2004**).

I.6.2.5. Extraction par Eau Surchauffée ou Subcritique

L'eau surchauffée ou subcritique est l'eau liquide au-dessus de sa température d'ébullition (100°C) sous pression. Sous ces conditions l'eau liquide est moins polaire qu'à la température ambiante et possède une capacité croissante à dissoudre les composés organiques, ainsi lui donnant un caractère étendu des solvants organiques polaires. Le terme eau surchauffée est attribué à l'eau liquide sous pression à température comprise entre 100°C et 374°C qui est sa température critique. Pour l'extraction des produits naturels la température ne peut pas être trop élevée à cause de leur thermosensibilité, alors l'intervalle entre 100 et 200°C est le plus utilisé. (**Clifford, 2002**).

Parmi les avantages de cette technique: faible coût, non toxique, un rendement meilleur, une bonne qualité de produits propres, un bénéfice environnemental, et de l'économie d'énergie (pour l'élévation de la température de l'eau de 30 à 150°C il faut 505kJ/kg, alors que pour transformer l'eau à 30°C en vapeur à 100°C il faut 2550kJ/kg) (**Clifford, 2002; Smith, 2002**).

Chapitre II.

Généralités sur l'espèce

Pergularia tomentosa

II.1. Présentation d'Asclepiadaceae

Asclépiades (Asclepiadaceae) est une famille des mauvaises herbes laiteuses (Benhouhou, 2005), qui comprend quelques 200 genres et 2500 espèces d'arbustes et d'herbes vivaces distribuées dans les régions tropicales et tempérées du monde. La famille est réputée pour les plantes contenant des cardénolides, notamment dans les genres *Asclepias*, *Pergularia*, *Gomphocarpus* et *Calotropis* (Gohar *et al*, 2000).

II.2. Présentation de l'espèce *Pergularia tomentosa* L.

II.2.1. Description botanique de *Pergularia tomentosa* L.

C'est une plante herbacée ou semi-ligneuse, à tige grimpante ou volubile. Est un arbrisseau vivace pouvant dépasser 1m de hauteur (Schmelzer et Guribfakim, 2013).

Les feuilles sont simples, pétiolées, ovales, orbiculaires, cordées à la base et apiculées, elles sont tomenteuses sur les deux faces au stade jeune et glabres au stade adulte, elles mesurent environ 5 cm de diamètre mais souvent plus petites. Les fleurs sont souvent blanc pourpre et odoriférantes avec une corolle tubulaire blanche ou pourpre qui mesure 8 mm de long. Les fruits, qui sont des follicules groupés par paire, sont fusiformes, divergents et couverts de rugosités. Ils sont pubescents et crochus à leur sommet. Ils mesurent 7 cm de long et s'ouvrent par une fente longitudinale par où s'échappent les graines (Amani et Barmo, 2010). Les graines sont plates et densément pubescentes avec une marge plus légère et crénelée (Goyder, 2006).

La période de végétation: Floraison en printemps (Chehema, 2006).



Figure 08: les différentes organes de *Pergularia tomentosa* L. (<https://www.projectnoah.org>)

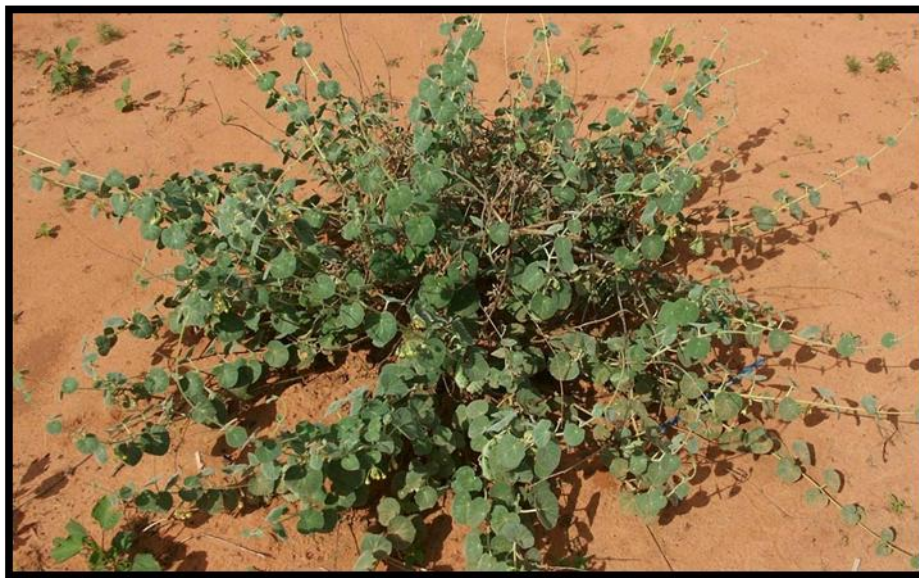
II.2.2. Position systématique de *Pergularia tomentosa* L**Embranchement:** Spermatophyte**Sous- embranchement:** Angiosperme**Classe:** Dicotylédones**Sous classe:** Rosidae**Ordre:** Gentianale**Famille:** Asclepiadaceae**Genre:** *Pergularia***Espèce:** *Pergularia tomentosa* L. (Dupont et Guignard, 2007).

Figure 09 : *Pergularia tomentosa* L. (<https://www.jircas.affrc.go.jp>)

II.2.3. Étymologie

"*Pergularia*" vient du latin "Pérgula" qui signifie "vigne" en raison de la capacité de la plante à conserver son environnement; la pergola a la même origine. "Tomentosa" signifie poilu: la plante est couverte de petits poils qui lui donnent sa couleur verdâtre (Maiza *et al.*, 1993).

Pergularia tomentosa L. porte de nombreux noms folkloriques :

Tableau III: Noms folkloriques de *P. tomentosa*

Pays	Nom	Référence
Algérie	Ghalaka ; Kabbar	Maiza <i>et al</i> (1993) ; Baba Amer (2013)
Égypte et Arabie Saoudite	Ghalaka	Al-Said <i>et al</i> (1988)
Niger	Tachkat	Baba Amer (2013)
Tunisie	Bouhliba	Goyder (2006)

II.2.4. Origine et répartition géographique

Pergularia tomentosa est largement réparti dans le désert du Sahara jusqu'aux déserts du sud et de l'est de l'Iran, à l'Afghanistan et au Pakistan, en passant par la Corne de l'Afrique, le Sinaï (Égypte), la Jordanie et la péninsule Arabique (**Schmelzer et Gurib-Fakim, 2013**). C'est un arbrisseau vivace, spontané, xérophyte et très répandue en Afrique du Nord, plus commune dans le Sahara algérien (**Al-Said *et al.*, 1988**).

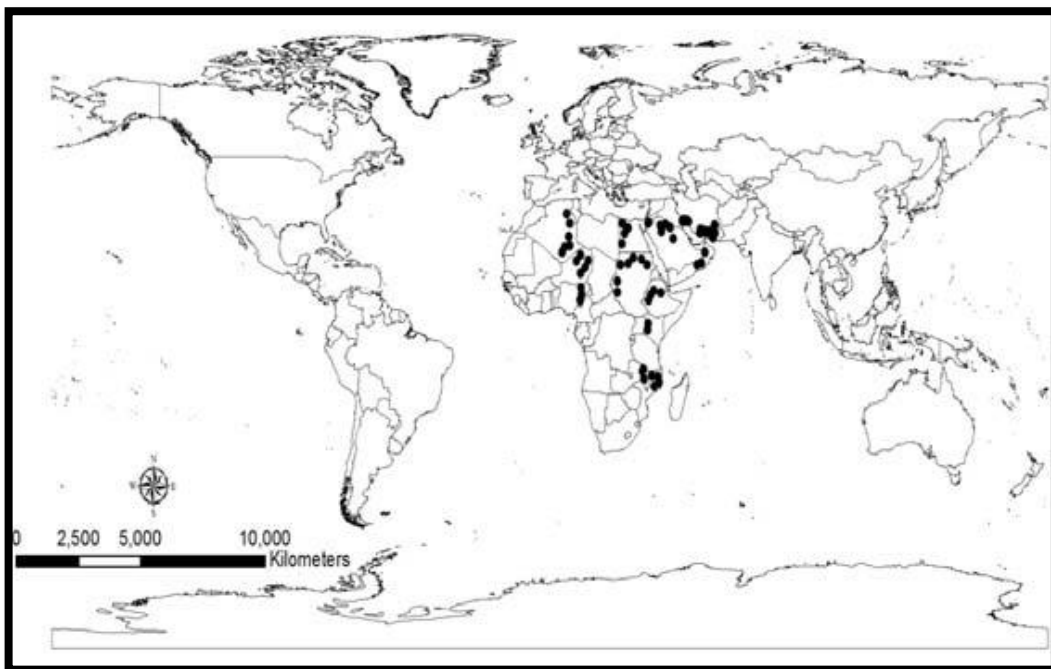


Figure 10: Distribution de *P. Tomentosa* dans tous les parties du monde (**Hosseini *et al.*, 2017**).

II.2.5. Ecologie

P. tomentosa pousse bien dans les déserts où les précipitations ne dépassent souvent pas les 100 mm par an, dans le lit des oueds et sur les plateaux, sur des sols argileux à sablonneux, graveleux et pierreux. Il est présent depuis le niveau de la mer jusqu'à 1000 m d'altitude. Le long de la mer Rouge, on le trouve au sein des communautés de plantes qui dominent les plaines sablonneuses (Schmelzer et Gurib-Fakim, 2013).

II.3. Usage traditionnel

Cette plante est utilisée dans les remèdes populaires comme antirhumatismal, laxatif, abortif et traitement de certaines maladies de la peau, l'asthme et la bronchite (Hamed *et al.*, 2006). Ainsi que dans le traitement de diarrhée, constipation, dermatoses, tuberculose et utilisés comme cataplasme, les Frissons dépilatoire et anthelminthique (Abou- Zeid *et al.*, 2008 ; Clauzel, 2006; Hammiche et Maiza, 2006).

II.4. Travaux antérieurs

II.4.1. Composition biochimique du *Pergularia tomentosa*

Les études phytochimiques menées sur le *Pergularia tomentosa* montrent la présence des éléments nutritifs, métabolites secondaires, et compositions minérale.

II.4.1.1. Analyse proximale et composition en éléments nutritifs

Tableau IV: Valeurs nutritionnelles de différents organes de *Pergularia tomentosa* (Lahmar *et al.*, 2017).

Paramètres	Racines	Tiges	Feuilles	Fruits
Humidité(%)	11.12 ± 0.56	13.02 ± 0.47	15.31 ± 0.79	23.1 ± 0.85
Cendres(%)	6.72 ± 0.75	8.55 ± 0.42	19.44 ± 0.51	15.73 ± 0.68
Protéines (%)	3.67 ± 0.13	5.14 ± 0.2	5.72 ± 0.26	6.89 ± 0.33
Lipides (%)	2.51 ± 0.25	3.53 ± 0.18	4.63 ± 0.19	5.46 ± 0.26
Glucides (%)	76.58 ± 0.52	70.62 ± 0.38	55.82 ± 0.71	49.93 ± 0.49
Sucres totaux (g DW/L)	20.35 ± 0.15	22.12 ± 0.09	15.37 ± 0.11	19.98 ± 0.12
Sucres réducteurs (g DW/L)	1.56 ± 0.13	0.74 ± 0.12	0.27 ± 0.07	1.55 ± 0.09

DW: poids sec de la plante. Les valeurs sont la moyenne de trois déterminations ± écart type.

II.4.1.2. Métabolites secondaires

Tableau V: Analyse phytochimique quantitative de *Pergularia tomentosa* par mg.g⁻¹ poids sec (Alghanem et El-Amier, 2017).

Tanins	Alcaloïdes	Saponines	Flavonoïdes	Steroids	Composés Phénoliques	Glycosides
9.39±0.02	2.64 ±0.03	3.45±0.04	2.01 ± 0.02	Non détecté	7.94 ±0.04	2.51 ± 0.02

A partir de **Abu Rayyan et al (2018)**, les résultats des compositions phytochimiques et les propriétés biologiques de *Pergularia tomentosa* grandi dans le district de Hail a montré qu'il existe 18 composés (composés phénoliques et cardénolides) dans l'extrait. Quatorze composés appartenant aux phénoliques et flavonoïdes, et 4 cardénolides ont été identifiés à partir de la solution aqueuse de feuilles extrait de *P. tomentosa*.

II.4.1.3. Composition minérale

Tableau VI: Composition minérale d'extrait de *Pergularia tomentosa* (Hassan et al., 2007).

La partie de plante	Phosphore (ppm)	Potassium(ppm)	Sodium(ppm)	Magnésium(%)	Calcium (%)
Feuilles	1,85 ± 0,05	2,97 ± 0,21	4,13 ± 0,31	0,32 ± 0,06	0,25 ± 0,01
Racines	8,13 ± 0,06	167,3 ± 5,03	2,33 ± 0,15	0,25 ± 0,008	0,08 ± 0,003
Tiges	7,07 ± 0,06	215,0 ± 10	2,03 ± 0,15	0,15 ± 0,03	0,16 ± 0,01

II.4.2. Activités biologiques et thérapeutiques du *Pergularia tomentosa*

II.4.2.1. Activité antioxydante

A partir **Lahmar et al (2017)**, la capacité antioxydante des extraits méthanoliques de différentes organes (les racines, les tiges, les feuilles et les fruits) de *Pergularia tomentosa* dépendrait fortement de la composition de ces extraits et des conditions de manipulation appliquées lors des tests *in vitro*. Dans les conditions de dosage parmi les quatre extraits, l'activité antioxydante la plus puissante a été détectée dans l'extrait de feuilles.

II.4.2.2. Activité antimicrobienne

A partir **Alghanem et El-Amier (2017)**, les métabolites de la plante ont été extraits avec différents solvants et l'activité antimicrobienne de *P. tomentosa* a été testée *in vitro* par un puits d'agar méthode de diffusion. En cas d'extrait d'éther de pétrole inhibé la croissance de *Stroptococcus pyogenes* et de *Staphylococcus aureus*. Extrait de chlorure de méthylène

inhiber toutes les bactéries pathogènes sauf *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumonia*. L'extrait d'acétate d'éthyle n'a aucun effet *K. pneumonia* et *Bacillus subtilis*, mais inhibe les autres. L'extrait d'acétone n'a aucune activité antibactérienne sur toutes les bactéries pathogènes sauf *K. pneumonia* et *S. pyogenes*.

Cette étude a révélé que les extraits de *P. tomentosa* peuvent être utilisés comme antimicrobiens naturels agents dans les systèmes de conservation pharmaceutiques et alimentaires (Alghanem et El-Amier, 2017).

II.4.2.3. Larvicide

D'après les résultats d'Acheuk et Doumandji-Mitiche (2013), les alcaloïdes de la partie aérienne de *P. tomentosa* présentaient une toxicité et une activité larvicide inhibitrices de la croissance considérables, Cette efficacité larvicide dépend de la concentration de l'extrait.

II.4.2.4. Activité allélopathique

les extraits aqueux de *Pergularia tomentosa* possèdent un effet d'inhibiteur agissant même à faibles concentrations et empêchent ainsi la germination des graines d'orge. De ce fait, une meilleure connaissance de ce phénomène pourrait offrir des perspectives intéressantes pour la gestion de la flore spontanée des parcelles cultivées, et ainsi contribuer à diminuer l'utilisation d'herbicides de synthèse (Cheriflet *et al.*, 2016).

II.4.2.5. Activité cytotoxique

Huit glycosides cardénolides ont été isolés à partir des racines de *Pergularia tomentosa* L pour étudier l'activité potentielle contre les cancers, ces composés testés in vitro ont montré l'inhibition de croissance de cellule de différentes lignées cellulaires cancéreuses humaines, et pour leur capacité à inhiber la Na⁺ / K⁺ ATP ase (Piacente *et al.*, 2009).



Deuxième partie

Expérimentale

Chapitre I.

Matériel et Méthodes

I.1. Matériel d'étude

I.1.1. Présentation de site expérimental

La Wilaya d'El-Oued est située au Sud-Est de l'Algérie, elle a une superficie de 08..85 44 Km² (Neguia, 2014).

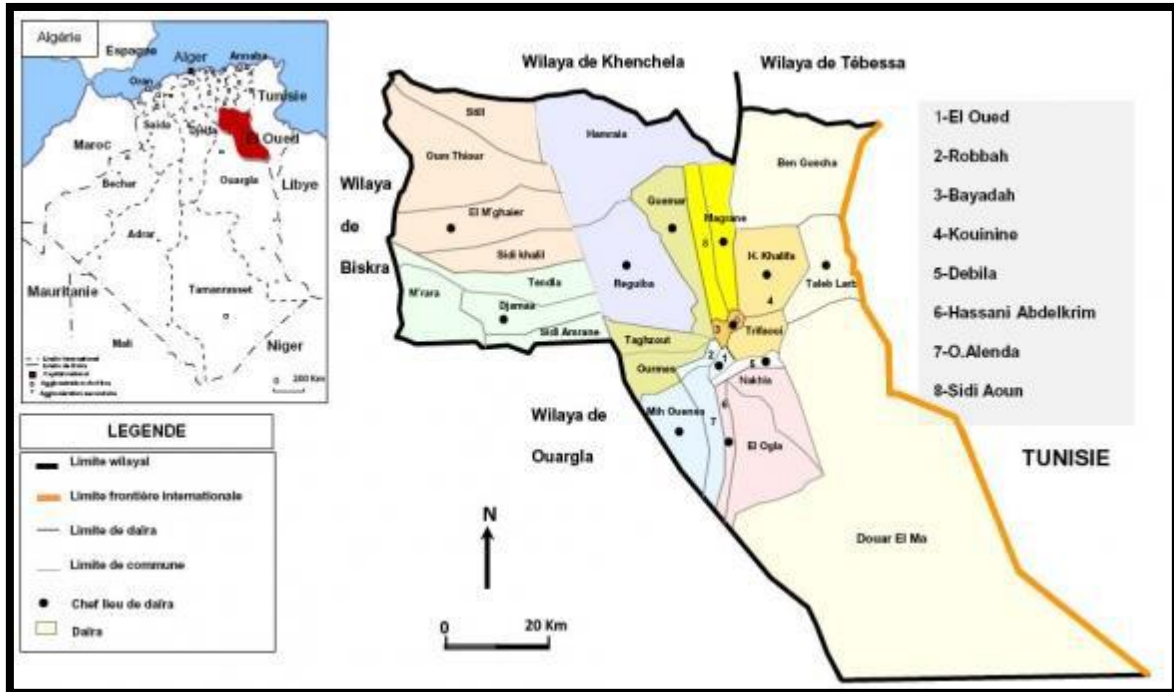


Figure 11: Géolocalisation de la région d'El-Oued (Remini, 2006) .

I.1.2. Matériel végétal

La plante *Pergularia tomentosa* est récoltée au mois d'Avril 2017 dans la région de Méguibra à El-oued (sud-est d'Algérie). Les feuilles sont nettoyées, séchées à l'ombre et à température ambiante. Ensuite le matériel végétal est broyé avec un broyeur électrique et la poudre obtenue a été conservé dans de flacon en verre à température ambiante puis stockée à l'abri de la lumière jusqu'à son utilisation.

I.1.3. Choix de plante

Le choix s'est porté sur *Pergularia tomentosa* L. l'une des plantes du Sahara d'Algérie et surtout dans la région d'El-oued et connue par son large utilisation médicinales grâce à ses effets bénéfiques qu'on a déjà détaillé dans la recherche bibliographique.

I.1.4. Produits chimiques utilisés

Dans cette étude nous avons utilisé: méthanol et éthanol comme solvants et les réactifs chimiques: AlCl₃ ; Folin ciocolteu ; Carbonate de sodium (Na₂CO₃); 2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl (DPPH); Acide ascorbique; acide gallique; quercétine; diméthyle sulfoxyde (DMSO); l'eau physiologique; eau distillée; FeCl₃; H₂O₂; HCl; vanilline.

I.1.5. Matériel et appareils utilisés

Spectrophotométrie	Balance de précision	Papier filtre
Bain marie	Agitateur	Ecouvillon stérile
Etuve	Autoclave	Tube à essai
Rotavapeur de type Buchi R-210	Micropipette	Tube EDTA
Papier aluminium	Bec Benzène	Pince stérilisée
Réfrigérateur	Disques vide stériles	Pipette Pasteur
Entonnoire	Erlenmeyer	Spatule
Cuve	Centrifugeuse	Seringue
Alcool chirurgical	Couton	

I.1.6. Souches bactériennes ciblées

Les souches bactériennes ayant fait l'objet de cette étude ont été gracieusement fournies par l'institut de Pasteur d'Alger au sein duquel nous avons réalisé cette partie de notre travail, à savoir le test antibactérien.

Nous avons choisi de tester notre extrait sur les souches microbiennes suivantes parce qu'elles sont les agents pathogènes les plus fréquemment impliquées dans les infections humaines.

✓ *Escherichia coli* (ATCC 8737)

C'est un coccobacille, gram négatif et mobile, appartient à la famille des Enterobacteriaceae. (Kayser *et al.*, 2005). C'est une bactérie aérobie ou anaérobie facultative, (Irving *et al.*, 2005). C'est l'espèce dominante de la flore aérobie du tube digestif. *E. coli* est habituellement une bactérie commensale (Nauciel et Vildé, 2005). C'est une bactérie indicatrice de contamination fécale des eaux potables et des aliments (Kayser *et al.*, 2005).

✓ *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027)

C'est un bacille, gram négatif et mobile. C'est une bactérie aérobie stricte, (Irving *et al.*, 2005). *P. aeruginosa* se caractérise par la pigmentation bleu-vert de ses colonies. (Nauciel et Vildé, 2005). Cette bactérie peut vivre en commensale dans le tube digestif de l'homme et de divers animaux. Considérée comme une bactérie pathogène opportuniste, c'est le germe-type des infections hospitalières ou nosocomiales (Kayser *et al.*, 2005).

✓ *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538)

Les staphylocoques sont des cocci à gram positif immobiles, anaérobies facultatives. *S. aureus* appartient à la famille des Staphylococcaceae. C'est une bactérie productrice de

l'enzyme coagulase, et d'un ensemble de toxines responsables des symptômes cliniques observés lors des infections invasives, des toxicoses et des formes mixtes causées par cette espèce (**Kayser et al., 2005**). Elle est très répandue chez l'homme et dans de nombreuses espèces animales. Il développe rapidement des résistances aux antibiotiques et les souches hospitalières ne sont souvent sensibles qu'aux glycopeptides (**Nauciel et Vildé, 2005**).

✓ ***Listeria innocua* (CLIP 74915)**

Est un bâtonnet court et régulier avec des extrémités arrondies (**Zaika et Faneli, 2003**), psychrophiles, gram positif (**Augustin, 1999**), elle fait partie de des *Listeriaceae*.

L. innocua, sont des germes ubiquitaires, présentes dans le milieu extérieur dans de sol et la végétation, ainsi que chez des porteurs sains. (**Hugas et al. 1998**). La listériose est une des plus importantes maladies transmises lors de consommation des aliments contaminés par *Listeria* (**Swaminathan et Gerner-Smidt, 2007**).

✓ ***Salmonella typhi* (ATCC 14028)**

Est un bacille aigu, gram-négatifs, mésophile et aérobic. Elle fait partie de la famille des *Enterobacteriaceae* (**Scaria et al., 2008**). Les animaux constituent un réservoir et la dissémination dans l'environnement provient essentiellement de contaminations fécales (**Hanes, 2003**). *S. typhi* est obligatoirement pathogène et peut infecter une grande variété de mammifères, d'oiseaux, de reptiles et d'autres animaux (**Wigley, 2004**).

✓ ***Fusarium culmorum***

Le principal caractère morphologique des *Fusarium* est la présence de macroconidies fusiformes et cloisonnées. Sur milieux usuels le thalle, il donne un mycélium plus ou moins aérien. De couleur rarement blanche ou crème, il peut être ochracé ou plus souvent de colorations vives : rose, rouge ou violet (**Aoki et Donnel, 1999**).

I.1.7. Antibiotiques de références

On a utilisé deux antibiotiques différents comme références. Il s'agit de la Ciprofloxacin 5 µg (**CIP5**) et Imipenem 10 µg (**IPM10**).

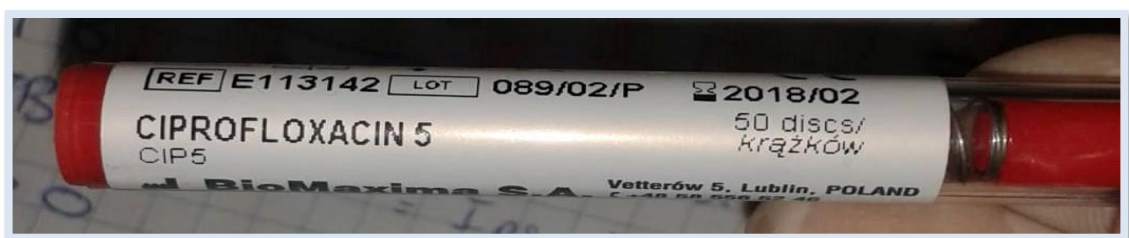


Figure 12: Ciprofloxacin 5 µg/disque.

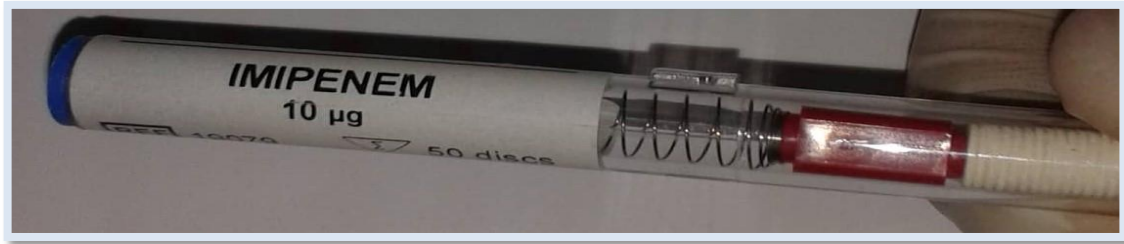


Figure 13: Imipenem 10 µg/disque.

I.1.8. Milieux de culture

- Milieux Sabouraud Dextrose agar (SDA): milieux de culture pour la levure
- Milieux Muller-Hinton (MI-1) gélose: milieux de culture pour les bactéries
- Gélose nutritif pour revivification des souches microbiennes.

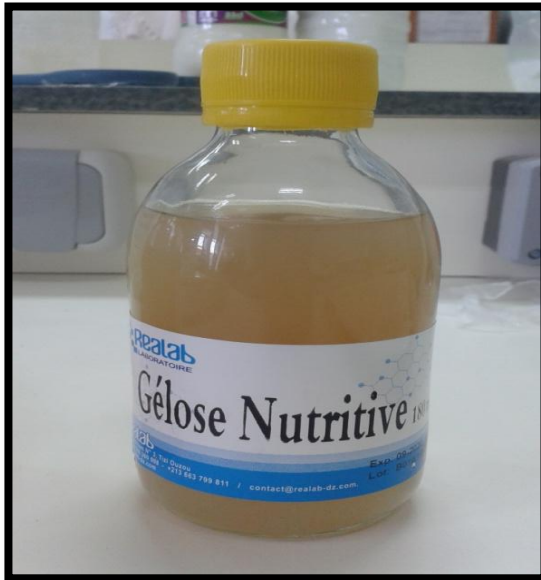


Figure14: Gélose nutritvie.

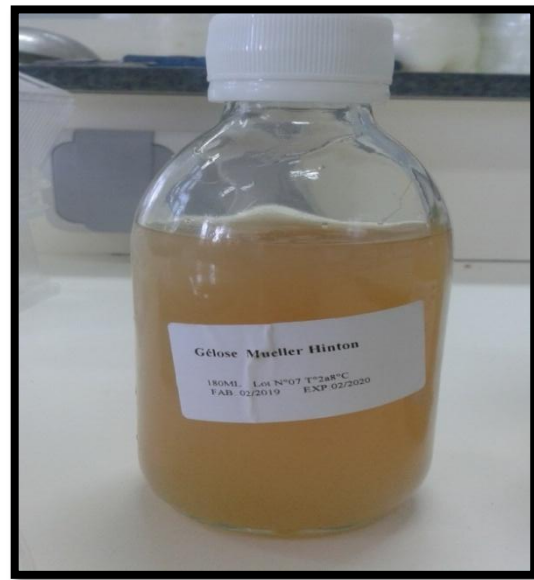


Figure 15: Gélose Mueller Hinton



Figure 16: gélose Sabouraud (<https://www.techniclab-dz.com>)

I.2. Méthodes

I.2.1. Extraction des composés phénoliques par macération

❖ Principe

Cette méthode consiste de la mise en contact du matériel végétal avec le solvant sans ou avec agitation. Cette procédure, malgré les temps longs d'extraction et l'utilisation d'une quantité considérable de solvants, est relativement peu coûteuse. En plus, elle se déroule à température ambiante ce qui est très positif pour conserver l'intégrité des molécules polyphénoliques (Spigno et De faveri, 2007; Budic-letoc *et al.*, 2005).

❖ Protocole

50 g des feuilles de *Pergularia tomentosa* broyé est macérée dans 500 ml de solution hydro-alcoolique (éthanol-eau : 80/20), en considérant que le matériel végétal devait être entièrement submergé par la quantité suffisante d'éthanol. Après 24 h le mélange a été séparés par filtration sur papier filtre. La solution éthanolique est évaporée à sec sous pression réduite dans un évaporateur rotatif type Buchi R-210 à 60°C et repris dans 4 ml d'Ethanol. L'extrait ainsi obtenu est conservé au réfrigérateur à 4°C jusqu'à l'utilisation. Cette opération a été répétée trois fois (Lahmar *et al.*, 2017), et ces étapes sont illustrées dans la (Fig. 17).

I.2.2. Calcul de rendement

Le rendement en pourcentage (%), est défini comme étant le rapport entre la masse d'extrait et celle de la plante sèche en poudre. Il est calculé par la formule suivante :

$$\text{Rdt (\%)} = (P_B / P_A) \times 100$$

P_B : poids d'extrait brut.

P_A : poids de la plante sèche en poudre.

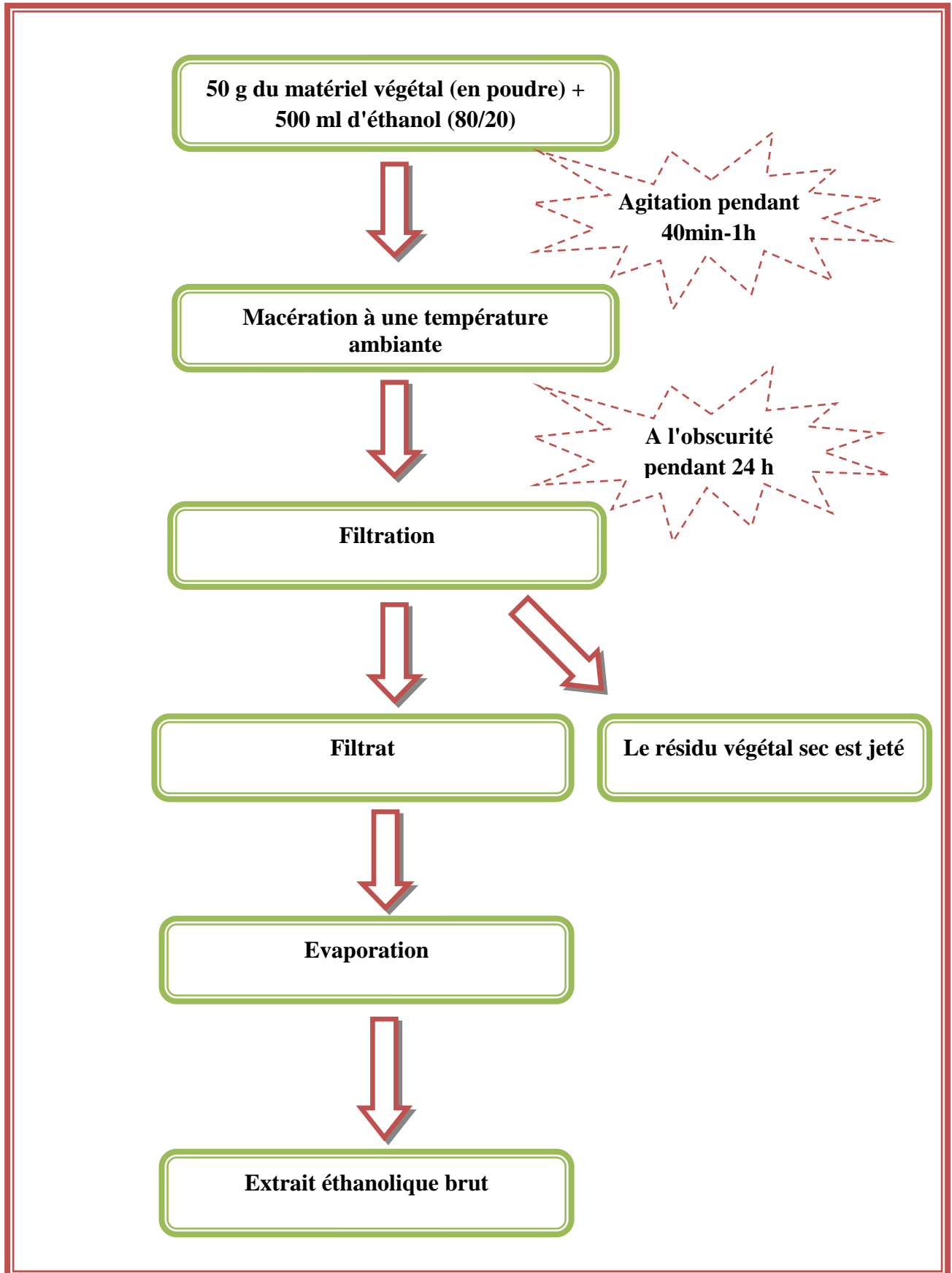


Figure 17: Protocole de préparation d'extrait éthanologique par macération (Lahmar *et al.*, 2017).

I.2.3. Analyses quantitatives des composées phénoliques

I.2.3.1. Dosage des polyphénols totaux par Folin Ciocalteu

✓ Principe

La teneur phénolique totale est habituellement déterminée colorimétriquement avec un spectrophotomètre en utilisant l'essai de Folin-Ciocalteu. Les composés phénoliques réagissent avec le réactif de folin-ciocalteu. Le mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) est réduit, lors de l'oxydation des polyphénols, en un mélange d'oxyde bleu de tungstène (W_8O_{23}) et molybdène (MO_8O_{23}). La coloration produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présente dans les extraits végétaux (Boizot et Charpentier, 2006).

✓ Protocole

Les polyphénols (PP) ont été déterminés par spectrophotométrie, suivant le protocole appliqué en 2007 par Li et ses collaborateurs. 100µl d'extrait végétal dilué est mélangé avec 500 µl de réactif de Folin Ciocalteu (FCR) dilué 10 fois dans de l'eau distillée. Après 10 minutes, 400 µl de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à concentration de 7,5 g/l sont ajoutés. Après une incubation du mélange réactionnel pendant 2 heures à température ambiante et à l'obscurité, L'absorbance est mesurée à 765 nm.

La courbe d'étalonnage est effectuée par l'acide gallique à différentes concentrations (0 - 1mg/ml), dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage. Les résultats sont ainsi exprimés en mg d'équivalent d'acide gallique par 1g de l'extrait (mg EAG/g E). Toutes les mesures sont répétées 3 fois.

I.2.3.2. Dosage des flavonoïdes

✓ Principe

Le dosage des flavonoïdes totaux est basé sur un test colorimétrique utilisant le trichlorure d'aluminium $AlCl_3$ avec lequel ils forment des complexes acides stables soit avec le carbonyle (C=O) en position C-4, soit avec le groupe hydroxyle en C-3 ou C-5 des flavones et des flavonols. Par ailleurs, $AlCl_3$ peut également former des complexes acides labiles avec les groupements orthodihydroxyles éventuellement présents sur le noyau A et/ou B des flavonoïdes (Chang *et al.*, 2002).

✓ Protocole

La méthode de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) cité par Chang *et al* (2002) et Djeridane *et al* (2006) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans notre extrait. Le protocole de dosage est le suivant:

Dans des tubes à essai, on mélange 500 µl d'extrait dilué avec 500 µl de solution d'AlCl₃ (2%). Après 10 min d'incubation à température ambiante et à l'abri de la lumière, la lecture des absorbance est faite à 430 nm.

La quantification des flavonoïdes a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire réalisée par la quercétine à différentes concentrations (0 - 0.1mg/ml) dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalent de quercétine par gramme de l'extrait (mg EQ/g E).

I.2.3.3. Dosage de tanins condensés

✓ Principe

Les tanins condensés sont déterminés par la méthode de la vanilline en milieu acide. Le principe de ce dosage est basé sur la fixation du groupement aldéhydique de vanilline sur le carbone 6 du cycle A de la catéchine pour former un complexe chromophore rouge qui absorbe la lumière à 500 nm (Mahmoudi *et al.*, 2013; Schofield *et al.*, 2001).

✓ Protocole

Le dosage des tanins condensés dans les extraits de *Pergularia tomentosa* est effectué selon la méthode de Schofield *et al* (2001).

A 400 µL de l'échantillon ou standard, on ajoute 3 ml d'une solution de vanilline (4% dans le méthanol), et 1,5 ml de HCl concentré. Le mélange est incubé durant 15 min et l'absorbance est lue à 500 nm. Les concentrations des tanins condensés sont déduites à partir un gamme d'étalonnage établie avec la catéchine (0 - 0,5 mg/ml), et sont exprimées en milligramme d'équivalent catéchine par gramme de l'extrait (mg ECT/g E).

I.2.4. Activités biologiques

I.2.4.1. Activité antioxydante

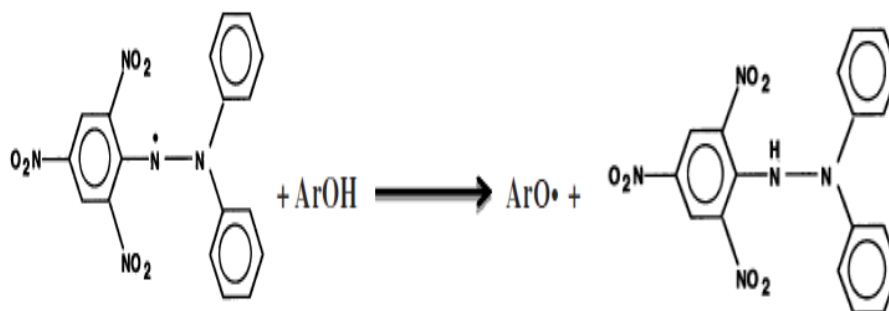
La mise en évidence du pouvoir antioxydant de notre extrait éthanolique a été réalisée par deux tests; un test chimique et l'autre biologique. Dans le test chimique, on s'intéresse à mesure l'activité de balayage d'un radical libre par le fraction antioxydant en employant le 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl DPPH, et nous avons adopté une technique biologique d'évaluation de l'état de défense des substances phénolique vis-à-vis de l'intégrité des cellules sanguines induit par un générateur des radicaux libre c'est l'hémolyse.

A. Test de piégeage du radical DPPH

✓ Principe

Le test DPPH, qui utilise une réaction d'oxydoréduction avec le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl radicale, a été utilisé pour déterminer la capacité anti-oxydante des extraits. Le

radical a une couleur violette en raison de l'électron non apparié d'azote et, après réaction avec l'atome d'oxygène d'un piègeur de radicaux de la réduction de DPPH-H (2,2- diphényl-1-picrylhydrazin) est formé, qui est jaune (Villano *et al.*, 2007). Le changement de couleur peut être suivie par spectrophotométrie à 517nm et de cette façon le potentiel antioxydant d'une substance ou un extrait de plante peut être déterminée (Popovici, 2009 ; Molyneux, 2004).



1: Diphenylpicrylhydrazyl
(Forme radicalaire)

2: Diphenylpicrylhydrazine
(Forme nonradicalaire)

Figure 18: Réduction du radical DPPH• (Molyneux, 2004)

✓ Protocole

Dans notre étude on a suivi la procédure faite par Al-Nadaf *et al* (2018) comme elle est décrite ici, 50 µl d'extrait et de différents dilutions qui sont comprises entre 0 et 10 mg/ml , ainsi que les standards le vitamine C et l' acide gallique (entre 0 et 0.12 mg/ml), et le contrôle sont ajoutées à 1950 µl d'une solution méthanolique du DPPH (0.04 mg/ml). Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min et la décoloration par rapport au contrôle négatif contenant uniquement la solution de DPPH est mesurée à 517 nm.

L'activité antiradicalaire est estimée selon l'équation suivante :

$$\text{Activité antiradicalaire \%} = [(\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}) / \text{Abs contrôle}] \times 100$$

La réalisation de la cinétique de cette activité a permis de déterminer les concentrations qui correspondent à 50 % d'inhibition (IC₅₀); la valeur d'IC₅₀ la plus faible correspond à l'efficacité de l'extrait la plus élevée. La valeur d'IC₅₀ est exprimée en mg/ml (3 répétitions pour chaque concentration).

B. Test hémolyse

Les érythrocytes constituent un modèle cellulaire très adéquat pour l'étude du stress oxydant. En raison de la richesse de leurs membranes en acides gras polyinsaturés et la concentration cellulaire élevée en oxygène et en l'hémoglobine, ces cellules sont extrêmement susceptibles aux endommagements oxydatifs (Arbos *et al.*, 2008), tel que l'hémolyse causé par le peroxyde d'hydrogène.

✓ Principe

Cette activité est basée sur la reconnaissance de la capacité protectrice de l'extrait végétale aux globules rouges de l'agression après leurs mise en contact avec les oxydants et les radicaux libres, par la mesure de pourcentage des globules rouges éclatées (Shobana et Vidhya, 2016).

L'hémolyse induite par H_2O_2 résulte des dommages oxydatifs destructeurs de la membrane cytoplasmique suite à la peroxydation lipidique des AGPI présents dans celle-ci (Singh et Rajini, 2008). Lorsque le H_2O_2 traverse cette membrane, il peut causer la dégradation de l'hème de l'hémoglobine ainsi les ions Fe^{2+} , ce qui génère le radical hydroxyle qui est très réactif par la réaction de Fenton. Ces deux radicaux induisent une chaîne de peroxydation lipidique aboutissant à la lyse des érythrocytes (Okoko et Ere, 2012).

✓ Protocole

Le pouvoir anti-hémolytique d'extrait a été réalisé à partir de cinq concentrations (0.1; 0.25; 0.5; 0.75; et 1 mg/ml) sur une suspension d'érythrocytes du sang humain.

Le sang prélevé dans des tubes d'héparine à partir d'un donneur sain est utilisé pour préparer la suspension érythrocytaire. Il est centrifugé à 3000 tours/min durant 10 minutes pour séparer les globules rouges des autres éléments constitutifs du sang, et après élimination du plasma, le culot est diluée deux fois par l'eau distillée, ensuite il est centrifugé à 3000 tours/min pendant 10 min.

Selon Abirami *et al.*, (2014), dans des tubes à hémolyse, 2 ml de différentes concentrations de l'extrait sont ajoutés à 40 μ l de la suspension érythrocytaire préparée. Ces tubes sont ensuite incubés à 37 °C pendant 5 minutes. Puis on ajoute 40 μ l de solution de : H_2O_2 ($30 \cdot 10^{-3}$ mol/ml), $FeCl_3$ ($80 \cdot 10^{-3}$ mol/ml) et acide ascorbique ($50 \cdot 10^{-3}$ mol/ml). Après l'incubation dans l'étuve à 37 °C pendant 1 h, le mélange est centrifugé à 700 tours/min durant 10 min.

La lecture des absorbances est effectuée à 540 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Le taux d'hémolyse des différents extraits est calculé en pourcentage par rapport à l'hémolyse totale, après 60 minutes d'incubation, selon la formule suivante :

$$\% \text{ Hémolyse} = [\text{Abs contrôle} / \text{Abs échantillon}] \times 100$$

- **Abs contrôle:** l'absorbance à l'absence de l'extrait.
- **Abs échantillon:** absorbance à la présence de l'extrait.

I.2.4.2. Activité antimicrobienne

Pour tester l'activité antimicrobienne de l'extrait étudiée, nous avons adopté la technique de diffusion sur milieu solide, à partir des disques imprégnés de notre extrait. Elle permet de déterminer l'activité inhibitrice de croissance bactérienne par la mesure du diamètre d'inhibition autour d'un disque (Sharififar *et al.*, 2007). Les souches testées sont présentées dans le tableau VII.

Tableau VII : Les souches microbiennes testées.

Les souches	Le code	Gram	La source
Bactéries	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8737	-
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 9027	-
	<i>staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	+
	Salmonella typhi	ATCC 14028	-
	<i>Listeria innocua</i>	CLIP 74915	+
Champignons	<i>Fusarium culmorum</i>	/	/
			Institut de Pasteur d'Alger
			Institut de Pasteur, France
			laboratoire des Produits Bioactifs et la Valorisation de la Biomasse de l'ENS Alger

❖ Revivification des souches bactériennes

La revivification des souches est une étape nécessaire avant leur utilisation car leur activité biologique est nulle. Donc, elle a pour but l'obtention d'une culture jeune et pure. Elle consiste à ensemencer en stries la surface de la gélose nutritive préalablement coulée et solidifiée dans les boîtes de Pétri quelques colonies des souches conservées à 4°C (milieu gélose nutritif pour les bactéries).

Les boîtes de Pétri renfermant chacune une souche de bactérie sont incubées à 37°C pendant 24 h (Bouchouka, 2016).

❖ Préparation des disques

Des disques de 6 mm de diamètre sont découpés du papier Wattman N° 3 et stérilisés dans un autoclave pendant 20 min à 120°C (Yin *et al.*, 2013).

❖ Préparation des dilutions

Différentes concentrations (0.5 mg/ml; 1 mg/ml; 2.5 mg/ml; 5mg/ml) d'extrait éthanolique de *Pergularia tomentosa* L. ont été préparé dans DMSO (Vora *et al.*, 2017).

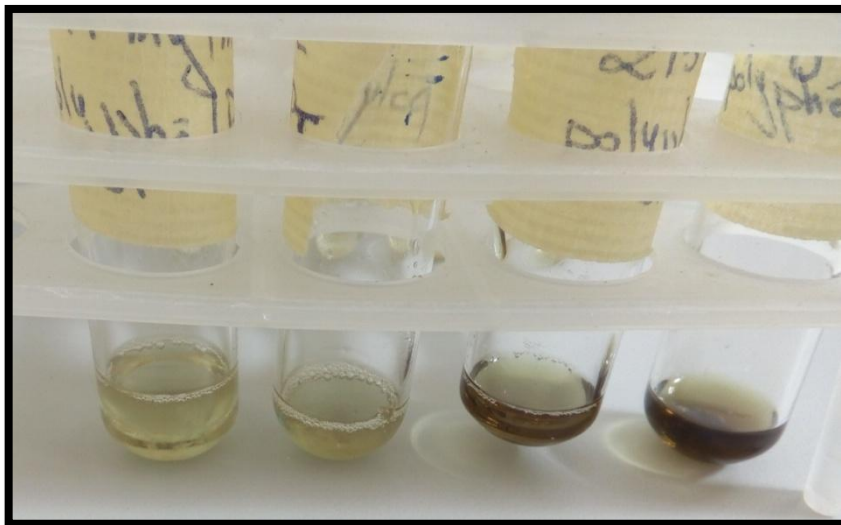


Figure 19: Les dilutions de l'extrait éthanolique de *P. tomentosa*

❖ Préparation de l'inoculum

A partir des cultures jeunes préparées, on prélève quelques colonies des bactéries dans 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9 %. On agite ensuite les tubes au vortex pendant quelques secondes.

Puis, on réalise une lecture de la densité de chacune des suspensions microbiennes préparées à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 625 nm. Donc la densité

optique obtenue doit être comprise entre 0,1 et 0,2 pour les bactéries, qui correspondent à une concentration de 10^8 CFU/ml (Ouis, 2015 ; Reghioua, 2006).

❖ Préparation des milieux de culture avec des suspensions microbiennes

Cette étape consiste à liquéfier le milieu de culture Mueller-Hilton (pour les bactéries) ou sabouraud (pour les champignons) dans un bain marie, puis, on coule aseptiquement les milieux en sur fusion dans des boîtes de Pétri à raison de 6 mm par boîte. On laisse refroidir et solidifier sur la paillasse puis, on réalise l'ensemencement par écouvillonnage à l'aide d'un coton-tige stérile contenue des suspensions microbiennes et on verse en tournant la boîte (Hoekou *et al.*, 2012).

❖ Dépôt de disques

Une fois le milieu de culture qui contient les suspensions microbiennes est solidifié, on prélève aseptiquement à l'aide d'une pince stérile 4 disques absorbant stérile de 6 mm et on l'imbibe avec 10 μ l de quatre concentrations de l'extraie de *Pergularia tomentosa* L. à tester, puis on le dépose sur la gélose préalablement préparée (3 boîtes pour chaque espèce) (Labioud, 2016).

Un disque préparé imbibé de DMSO est utilisé comme contrôle négatif; et 2 disques des antibiotiques (IPM10 et CIP5) sont utilisés comme contrôle positif (3 boîtes).

❖ Incubation

On incube les boîtes de Pétri à 37°C pendant 24h pour les bactéries, et 48h pour l'espèce fongique (Lahoum *et al.*, 2016).

❖ Lecture des résultats

La lecture des résultats est effectuée en fonction de l'existence ou non des zones d'inhibition. La sensibilité des espèces est estimée par la mesure du diamètre de zone d'inhibition autour des disques imprégnés de différentes concentrations d'extrait éthanolique de la plante.

Ces étapes sont présentées dans la Figure 20.

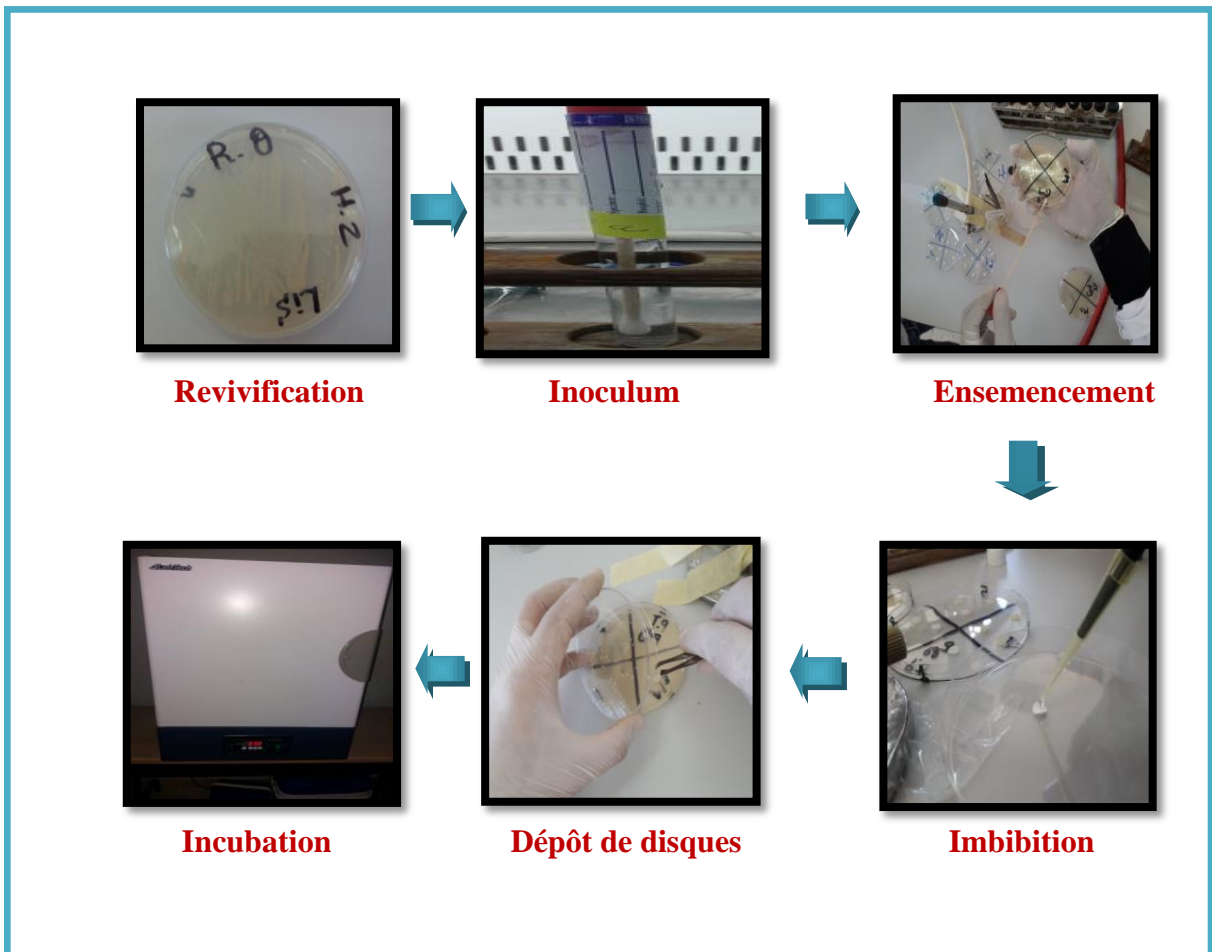


Figure 20: Schéma résume le protocole de l'activité antimicrobienne de *Pergularia tomentosa*

I.2.5. Analyse statistique

Les données expérimentales obtenues du dosage et de l'évaluation des activités biologiques ont été exprimées par une moyenne et plus ou moins l'écart type a été déterminé en utilisant l'Excel 2007.

Chapitre II.

Résultats et Discussion

II.1. Résultats

II.1.1. Rendement d'extrait éthanolique

Le rendement désigne la masse de l'extrait déterminée après évaporation du solvant, il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale de la plante soumise à l'extraction. Donc l'extrait par macération représente 20,73 % de rendement.

II.1.2. Résultats de l'étude quantitative

II.1.2.1. Dosage des polyphénols totaux

Les polyphénols totaux ont été déterminés par la méthode de Folin-Ciocalteu. L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 765 nm. Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

La quantité des polyphénols a été rapportée en milligramme d'équivalent de l'acide gallique par gramme de l'extrait (mg EAG/g E). À partir de la courbe d'étalonnage, la concentration des polyphénols totaux est $7,47 \pm 0,26$ mg EAG/g E.

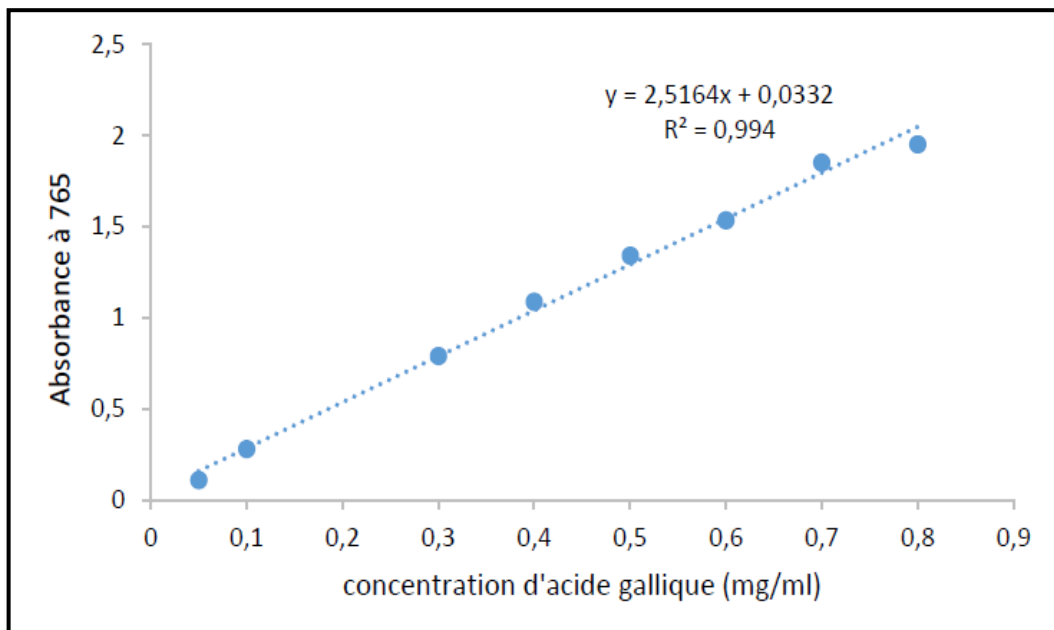


Figure 21: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.

II.1.2.2. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3). L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 430 nm. Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage de la quercétine.

La quantité des flavonoïdes a été rapportée en milligramme d'équivalent de la quercétine par gramme de l'extrait (mg EQ/g E).

D'après la courbe d'étalonnage obtenue lors du dosage des flavonoïdes, on constate que *Pergularia tomentosa* présente un teneur en flavonoïdes qui est de l'ordre de $42,93 \pm 0,48$ mg EQ/g E.

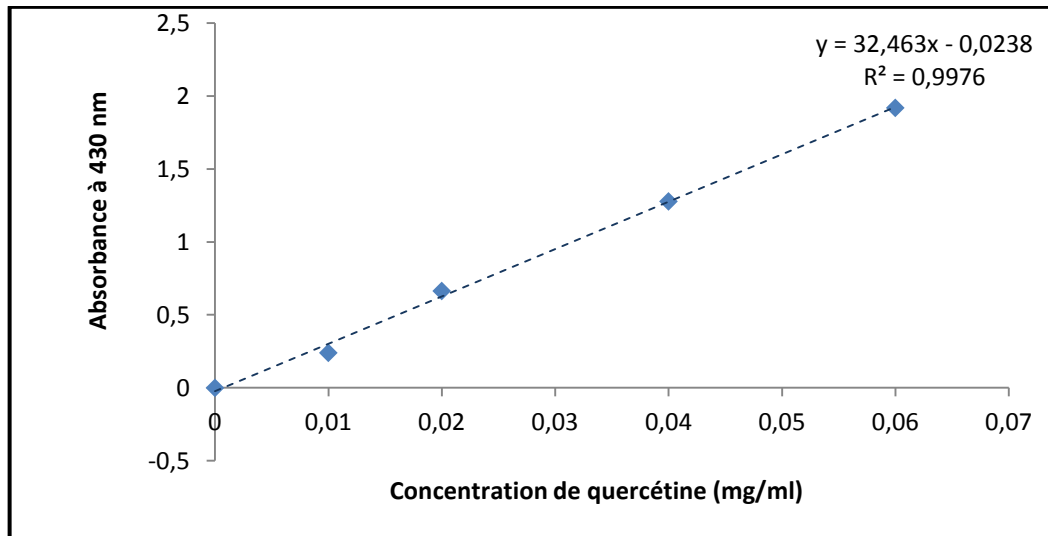


Figure 22: Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes.

II.1.2.3. Dosage des tanins condensés

Le dosage des tanins condensés a été réalisé selon la méthode de vanilline, la catéchine a été utilisé comme étalon. L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 500 nm. Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage. La quantité des tanins condensés a été rapportée en milligramme d'équivalent de la catéchine par gramme de l'extrait (mg ECT/g E).

D'après la courbe d'étalonnage, on remarque que la *Pergularia tomentosa* présente un teneur en tanins condensés qui est de l'ordre de $40,22 \pm 1,87$ mg ECT/g E.

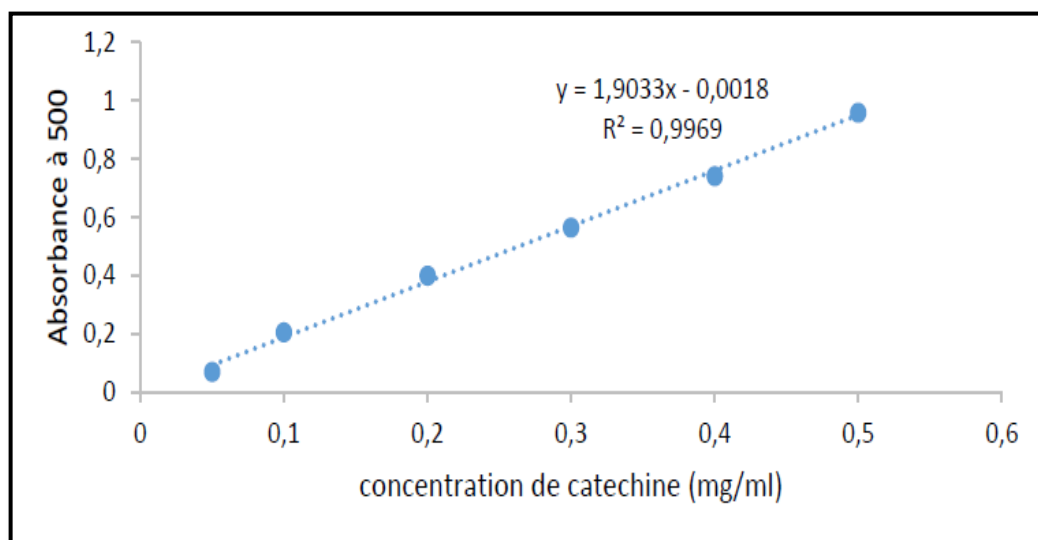


Figure 23: Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tannins condensés.

II.1.3. Evaluation biologique

II.1.3.1. Activité antioxydante

A. Test DPPH

Pour estimer l'activité antioxydante de notre extrait éthanolique, on s'est basé sur le test DPPH, qu'il est la plus largement utilisée pour cette but, dont les pourcentages d'inhibition de radicale libre ont été déterminés à partir de la loi de **Al-Nadaf *et al* (2018)**, L'activité antioxydante de notre extrait est exprimée en IC_{50} ; cette dernière est une valeur exprime la concentration de l'extrait nécessaire pour diminuer l'absorbance du DPPH de 50 % (inhibition de DPPH à 50%).

L' IC_{50} est déterminée graphiquement à partir des droites représentent les pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations croissantes de l'extrait (**Fig.24**). L'efficacité est estimée à partir de l'activité de l'acide gallique (**Fig.25**) et de l'acide ascorbique (**Fig.26**) comme références standards.

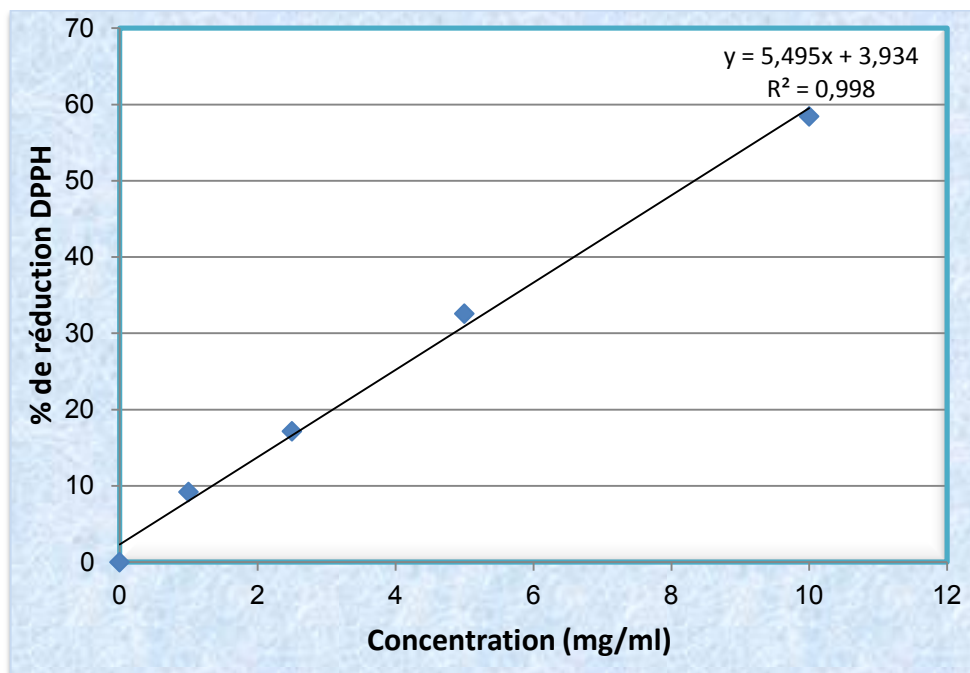


Figure 24: L'effet inhibiteur de l'extrait éthanolique de *Pergularia tomentosa* sur le DPPH.

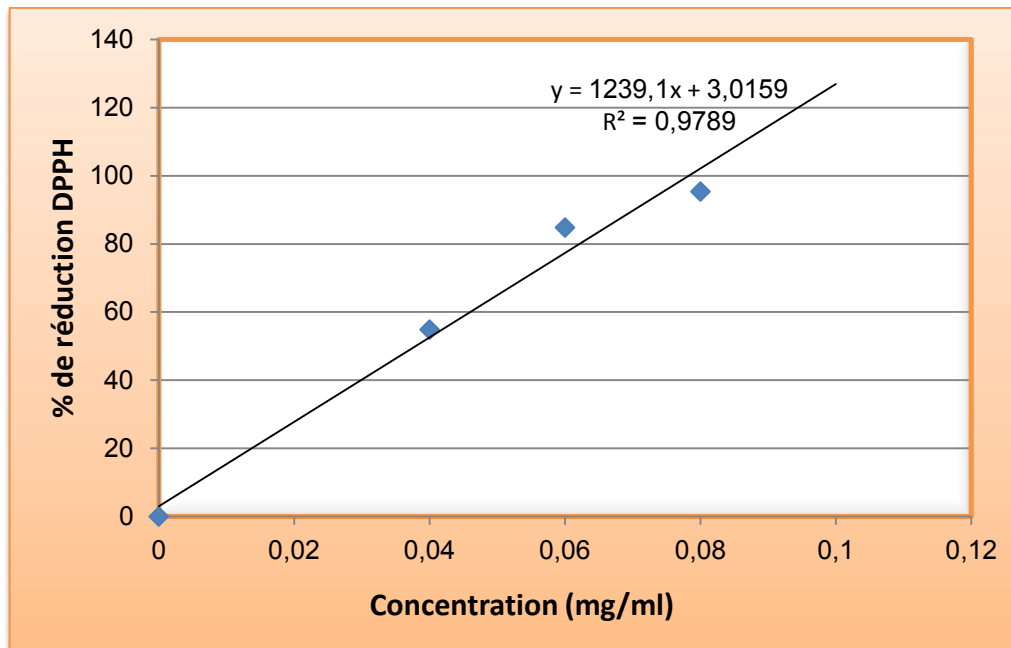


Figure 25: Courbe représentant le pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration en acide gallique.

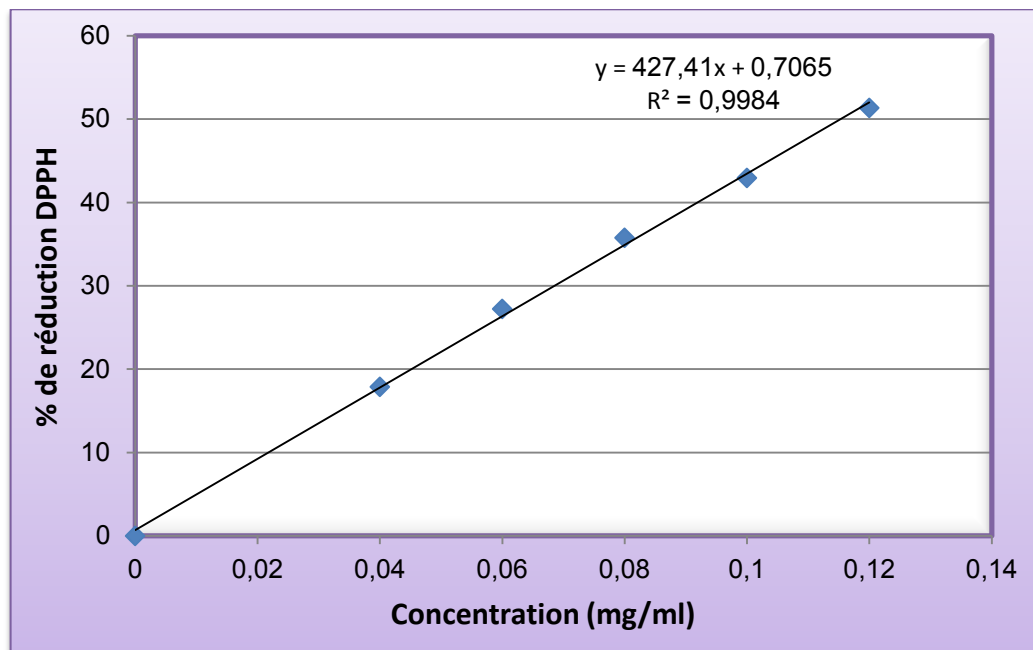


Figure 26: Courbe représentant le pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration en acide ascorbique.

D'après les courbes précédentes obtenant, la concentration correspondre pour éliminer 50% des radicaux libres à partir l'extrait phénolique exprimé en mg/ml.

On résume les résultats des tests du pouvoir réductrice dans la figure suivant:

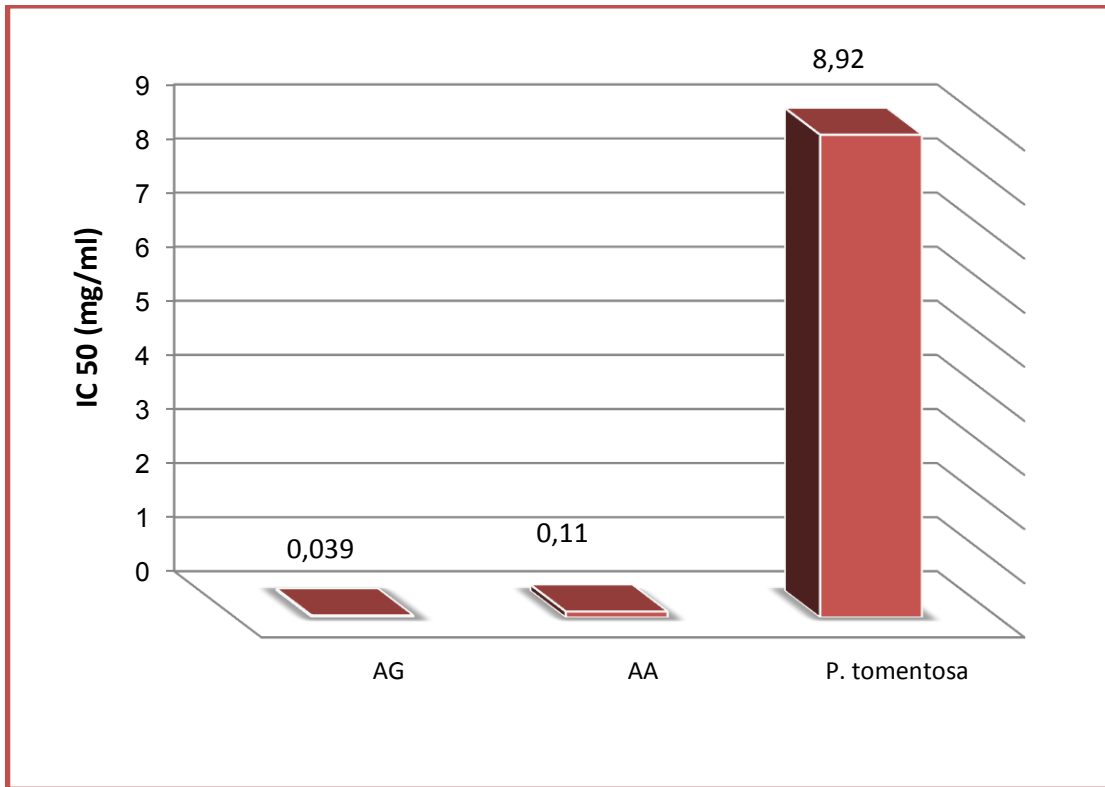


Figure 27 : Histogramme des résultats de concentrations inhibitrices 50 % de DPPH de *P.tomentosa*, A.G et A.A

Les résultats obtenus dans la figure 27 montrent que les deux antioxydants standards l'acide ascorbique et l'acide gallique sont montrés une activité antioxydante puissante avec une IC₅₀ de l'ordre de $0,11 \pm 0,001$ mg/ml et $0,039 \pm 0,0004$ mg/ml respectivement.

Concernant l'extrait de *Pergularia tomentosa*, l' IC₅₀ égale $8,92 \pm 0,40$ mg/ml, cette valeur est moins importante que celles de l'acide ascorbique et l'acide gallique, alors notre extrait présente un pouvoir antiradicalaire modéré.

B. Test hémolyse

Pour confirmer l'activité antioxydant de *Pergularia tomentosa*, nous basons sur le test hémolyse des globules rouges parce qu'il est le plus utilisé.

Les résultats sont déterminés par les pourcentages d'hémolyse avec l'extrait selon la méthode de **Abirami et ces collaborateurs (2014)**, leur efficacité est déterminé par rapport à l'acide ascorbique qui est considéré comme standard.

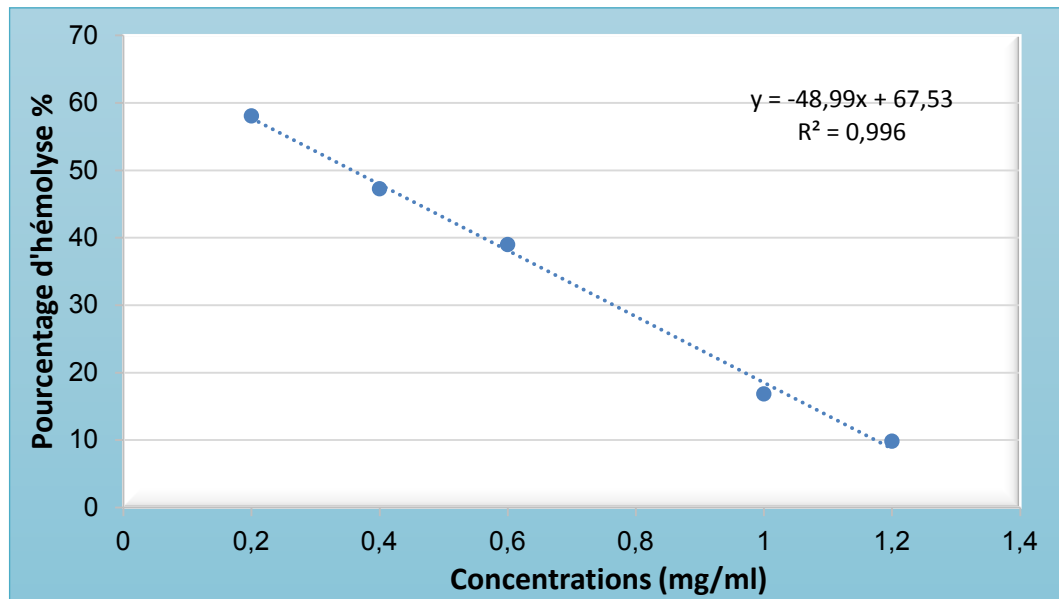


Figure 28: Courbe représentant le pourcentage d'hémolyse en fonction de la concentration en acide ascorbique.

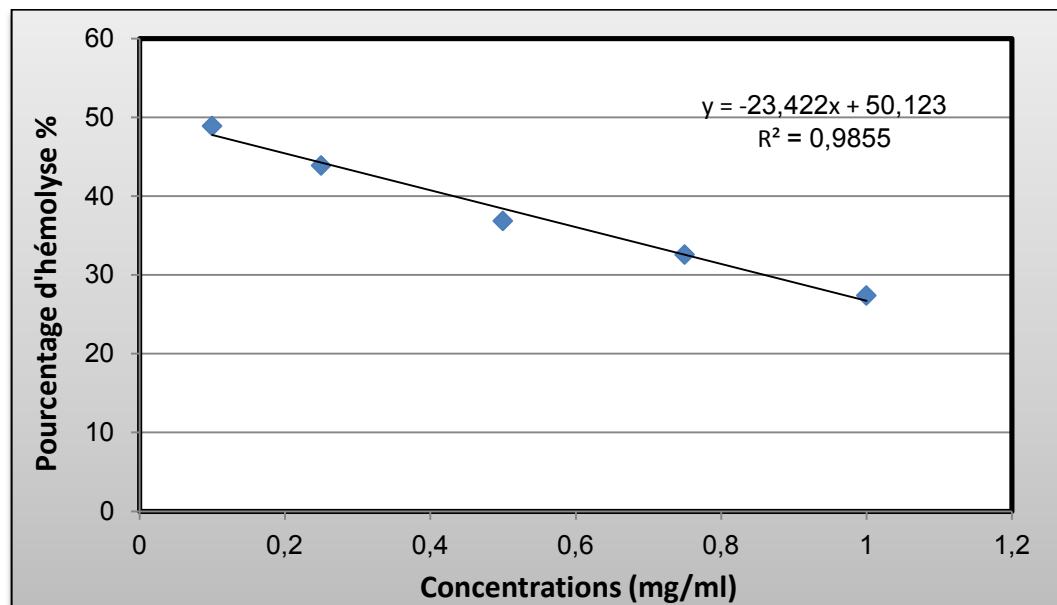


Figure 29: Courbe de pourcentage d'hémolyse en fonction des concentrations de l'extrait.

Les résultats obtenus montrent que les pourcentages d'hémolyse sont proportionnellement inversifs à l'augmentation des concentrations des extraits éthanoliques et vit C (Fig.28 et 29).

Les pourcentages d'inhibition du test hémolyse mesurées pour la concentration 1mg/ml de l'extrait de plante et l'acide ascorbique sont présentés dans le figure 30.

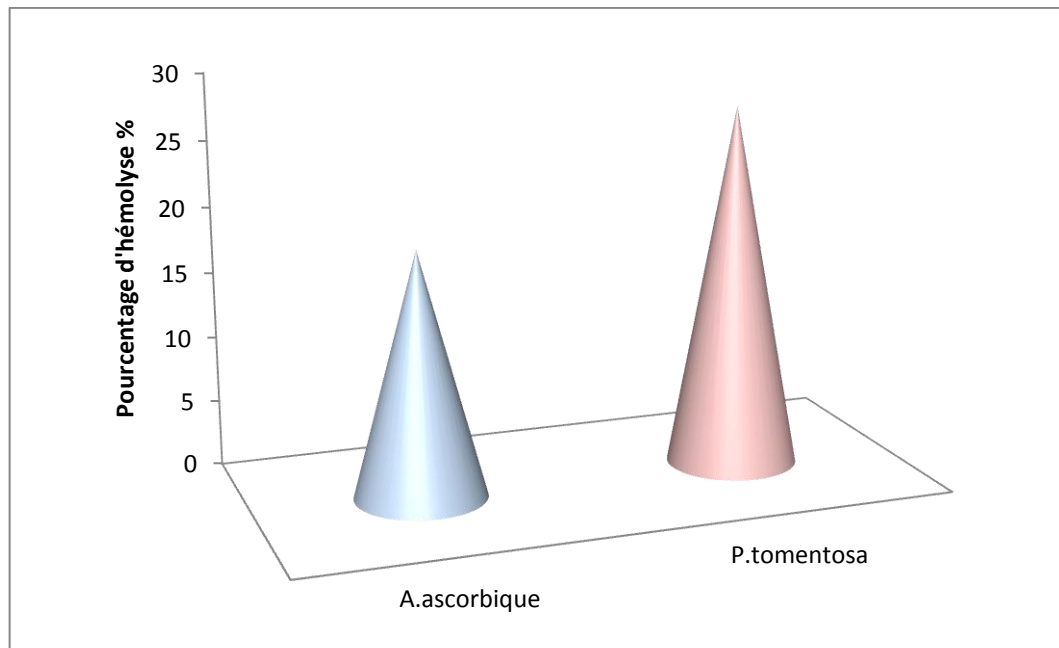


Figure 30: Pourcentage d'hémolyse de l'extrait et l'acide ascorbique à la concentration 1 mg/ml.

A partir de figure 30, les pourcentages d'hémolyse des érythrocytes à la concentration 1 mg/ml de *Pergularia tomentosa* et d'acide ascorbique sont comparables avec de taux d'hémolyse de 27,41 et 18,54 % respectivement.

Nous remarquons que, notre extrait possède un pouvoir anti-hémolytique important sur les érythrocytes humains malgré leur concentration faible.

II.1.3.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne

L'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'extrait éthanolique de *Pergularia tomentosa* a été réalisée par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé solide, Mueller- Hinton pour les bactéries et Sabouraud pour la levure.

L'activité antimicrobienne de l'extrait est déterminée en terme de diamètre de zone d'inhibition produite autour des disques contenant l'extrait après 24h d'incubation à la température adéquate pour le développement des bactéries et 48h pour la levure. Les résultats sont présentés dans les figures ci-dessous :

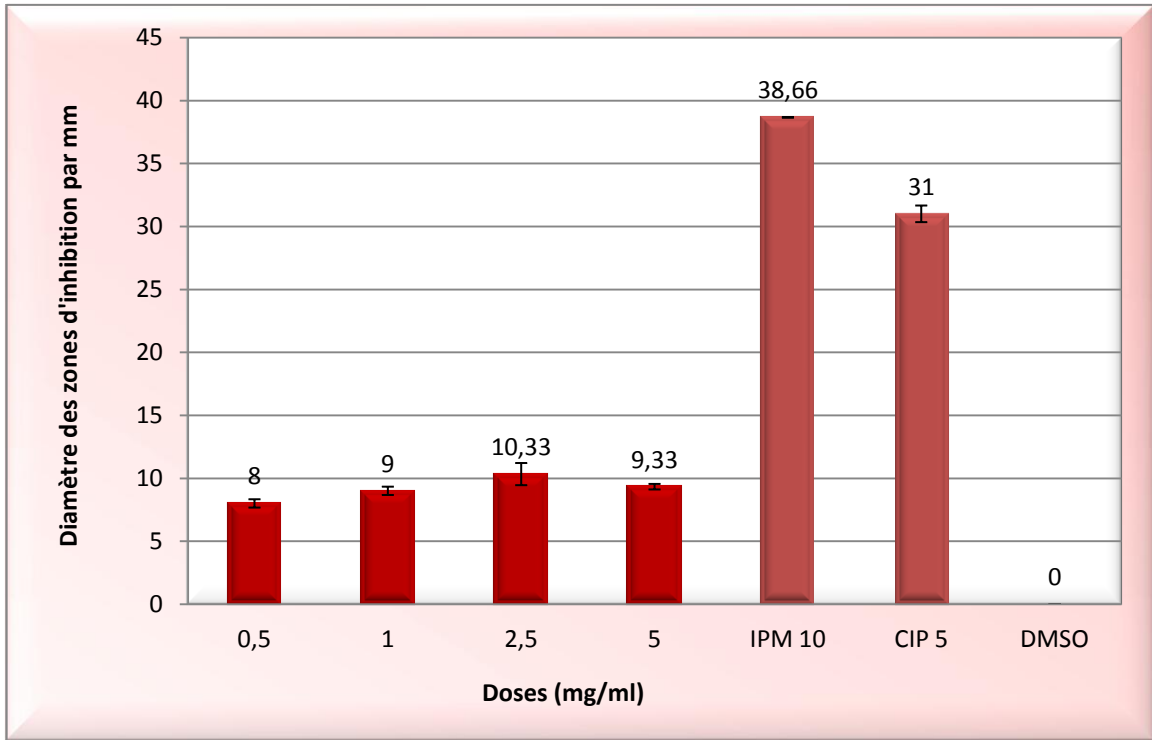


Figure 31: L'effet inhibiteur de l'extrait éthanolique du *P. tomentosa* contre *Salmonella typhi*.

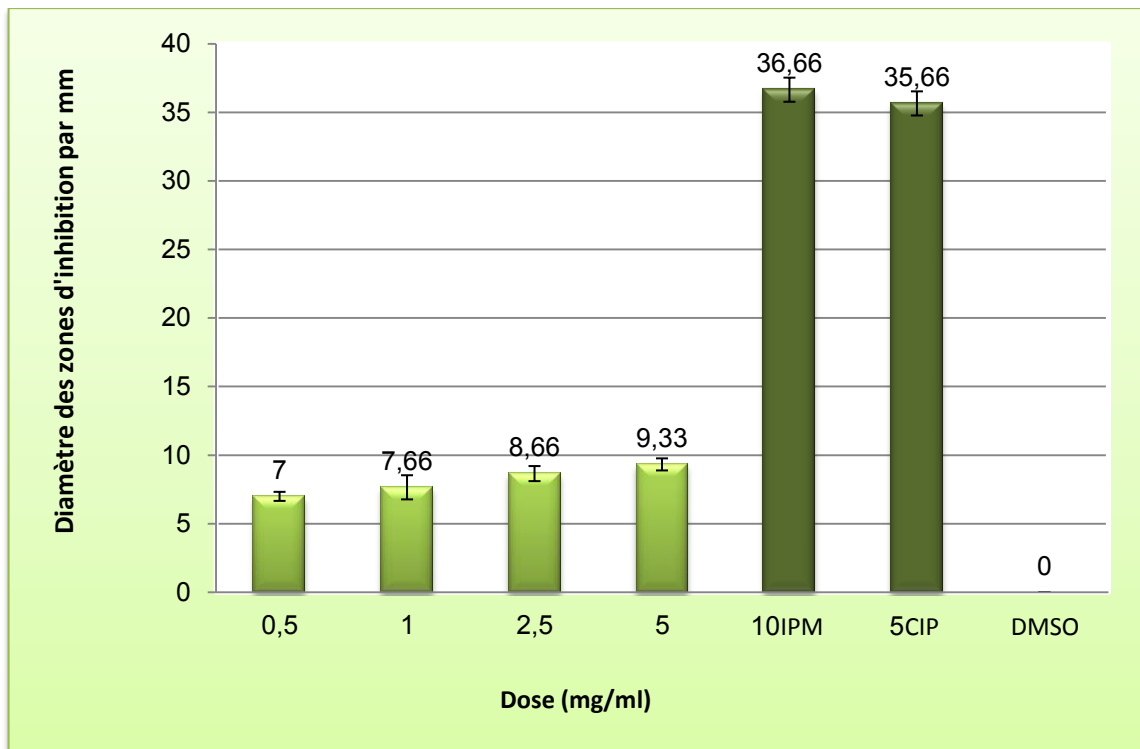


Figure 32: L'effet inhibiteur de l'extrait éthanolique du *P. tomentosa* contre *Pseudomonas aeruginosa*.

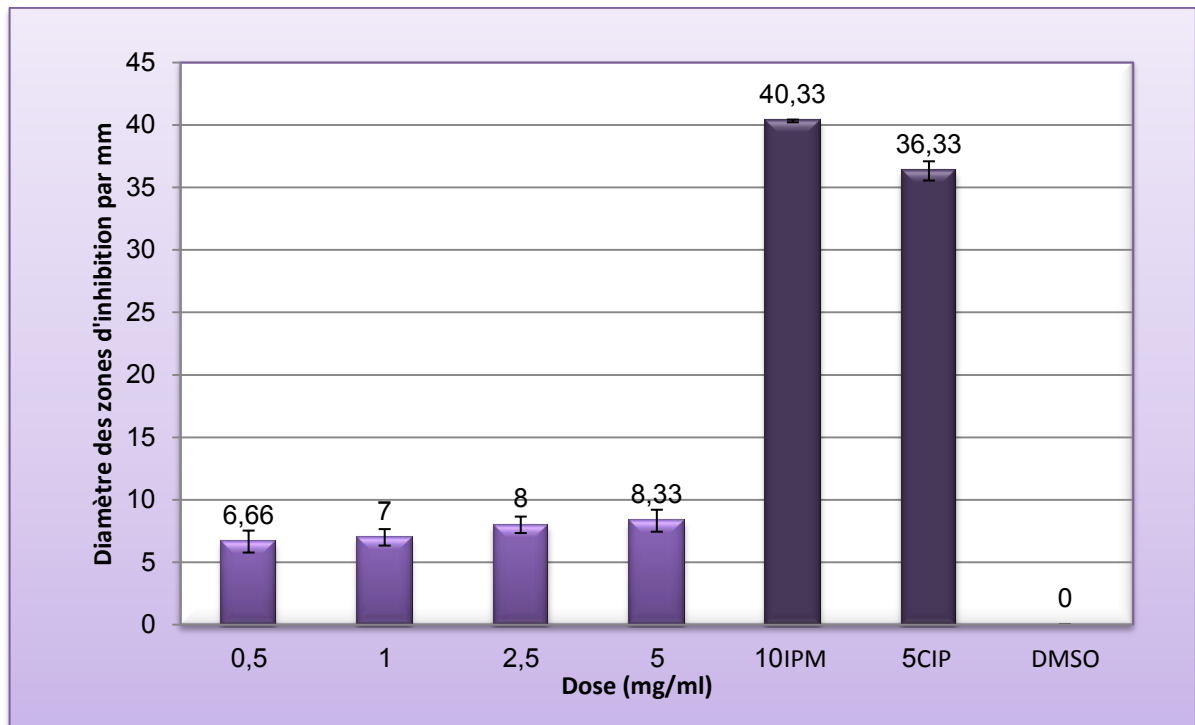


Figure 33: L'effet inhibiteur de l'extrait éthanolique du *P.tomentosa* contre *Escherichia coli*.

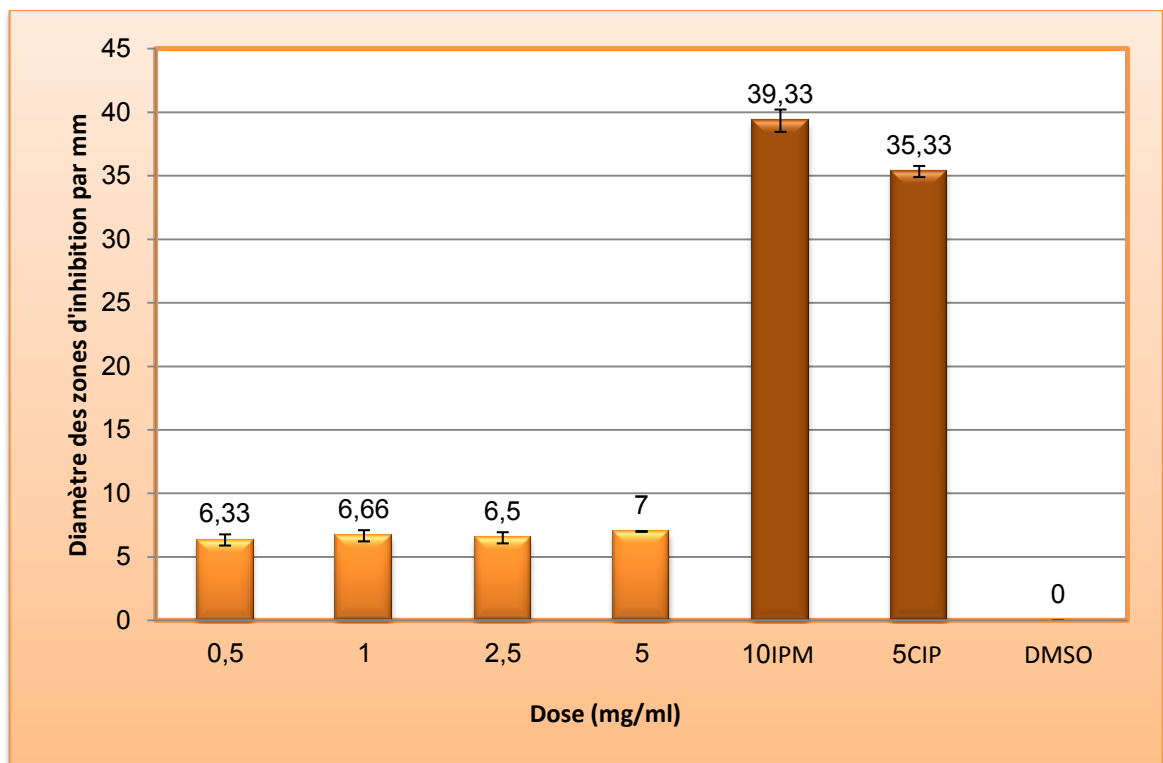


Figure 34: L'effet inhibiteur de l'extrait éthanolique du *P. tomentosa* contre *staphylococcus aureus*.

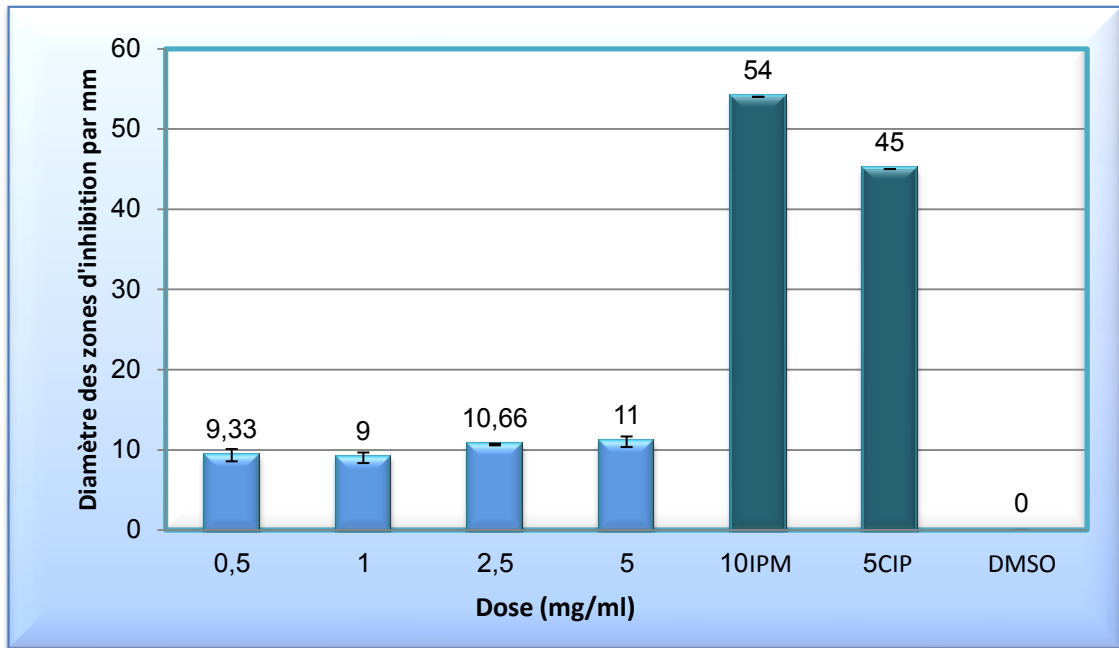


Figure 35: L'effet inhibiteur de l'extrait éthanolique du *P. tomentosa* contre *Listeria innocua*.

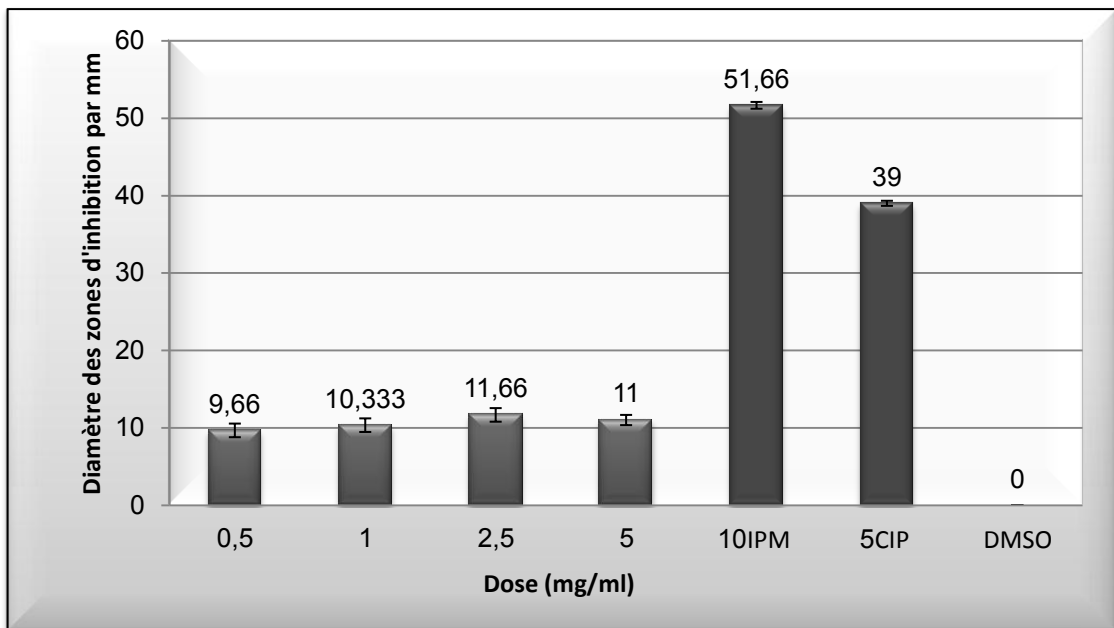


Figure 36: L'effet inhibiteur de l'extrait éthanolique du *P. tomentosa* contre *Fusarium culmorum*.

A partir des figures (31, 32, 33, 34, 35 et 36) qui représentent les résultats de l'effet antimicrobien de *Pergularia tomentosa* contre les germes pathogènes qui sont: *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria innocua* et *Fusarium culmorum*, nous remarquons que l'augmentation de concentration augmente le diamètre de zone d'inhibition.

Les antibiotiques utilisés comme control positif (Ciprofloxacine 5, Imipenem 10) ont des différentes sensibilités aux souches testées.

Le DMSO est un solvant utilisé pour la préparation de l'inoculum microbien qui n'a exercé aucune activité inhibitrice, les colonies se développent normalement en sa présence, donc c'est un bon diluant pour cet extrait.

On résume le pouvoir antimicrobien de *P. tomentosa* à la concentration 5 mg/ml vis-à-vis les souches testées dans la figure suivante :

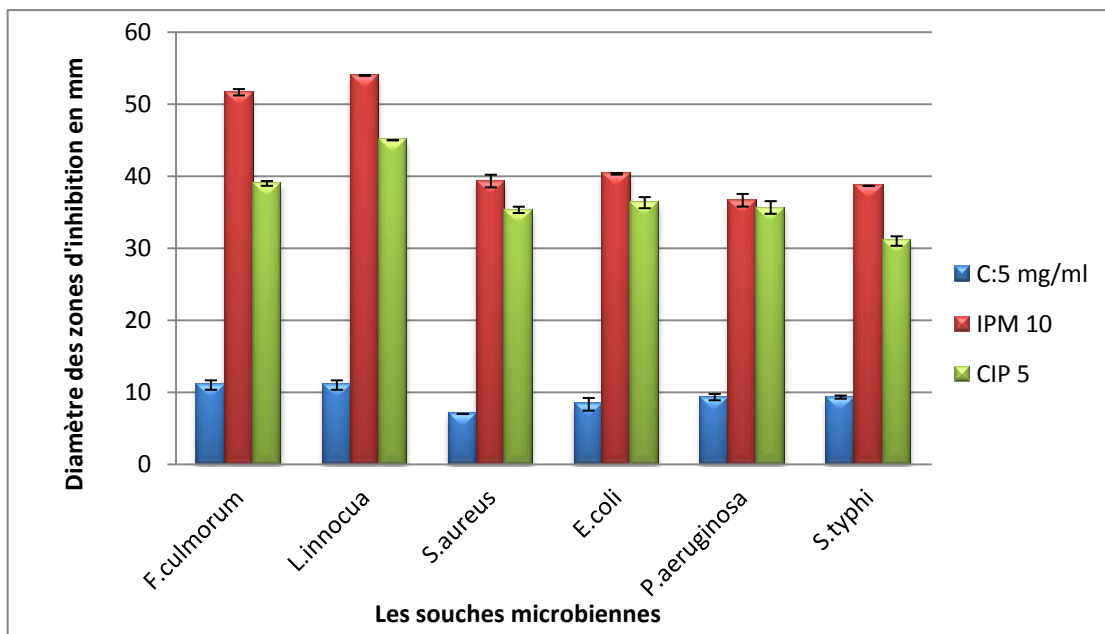


Figure 37: Histogramme représente les zones d'inhibition (par mm) des souches microbiennes testées par l'extrait, IPM10 et CIP5.

D'après la figure 37, le résultat des tests d'activités antimicrobiennes à la concentration 5 mg/ml montre que les souches *L. innocua* et *F. culmorum* sont sensibles à l'extrait éthanolique de la plante avec des zones d'inhibition de $11 \pm 0,66$ mm pour chacune. Par contre pour *S. typhi* et *P. aeruginosa* la zone d'inhibition est $9,33 \pm 0,22$ mm et $9,33 \pm 0,44$ mm respectivement; tandis que *E. coli* et *S. aureus* sont moins sensibles à cet extrait avec des diamètres des zones d'inhibition de $8,33 \pm 0,88$ mm et 7 ± 0 mm respectivement. Cet effet demeure modéré par rapport à celui d'IPM 10 et CIP 5, utilisés comme antibiotiques de référence.

Concernant les antibiotiques, nous remarquons que tous les souches testées présentent une sensibilité envers les antibiotiques examinés, mais IPM 10 a un diamètre de zone d'inhibition plus que CIP 5, dont ces deux ATBs sont influés sur les souches *L. innocua* et *F. culmorum* plus que les autres.

II.2. Discussion

II.2.1. Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction est le rapport de la quantité de substances naturelles extraites par l'action extractive d'un solvant à la quantité de ces substances contenues dans la matière végétale. Il est dépend de plusieurs paramètres tels que: le solvant, le pH, la température, le temps d'extraction et la composition de l'échantillon (**Do et al., 2014**), et de la durée du stockage et de la période de la récolte (**Haddouchi et al., 2016**), ces facteurs, peuvent conduire à une réduction très significative de certaines molécules (**Ouédraogo et al., 2018**).

Le rendement de l'extrait éthanolique de feuilles de *Pergularia tomentosa* est élevé (20,73%), cette valeur également d'accord avec le travail de **Bouchouka (2016)** sur les feuilles du plante *Periploca laevigata* (Asclepiadaceae) avec rendement égal à 20,82 %.

Ce résultat peut être expliqué par l'utilisation combinée de l'eau et du solvant organique faciliter l'extraction des substances chimiques qui sont solubles dans l'eau et / ou dans le solvant organique (**Do et al., 2014**). Parce que les solvants alcooliques sont capables d'augmenter la perméabilité des parois cellulaires (**Seidel, 2005**). De plus l'extraction à température ambiante et sous agitation continue peut permettre d'extraire le maximum de composés bioactifs et d'empêcher leur dégradation. Un certain degré de température peut inactiver les composés bioactifs et diminuer leur rendement d'extraction dans le solvant utilisé (**Lahmar et al., 2017**).

II.2.2. Analyse quantitative de composés phénoliques

II.2.2.1. Dosage des polyphénols totaux

Les composés phénoliques constituent le groupe principal qui contribue à l'activité antioxydante des végétaux, fruits, céréales et d'autres matériels à base de plantes (**Tachakittirungrod et al., 2007**). Ces composés possèdent aussi diverses activités biologiques telles que les activités anti-inflammatoire, antibactérienne, antivirale, antiallergique, anti-thrombotique et vasodilatatrice qui peuvent être reliées à leur activité antioxydante (**Gulcin et al., 2010**). C'est la raison pour laquelle, le dosage des phénols totaux de notre plante a été effectué dans cette étude.

Dans le but de déterminer la teneur totale des phénols de notre plante, un dosage a été effectué au niveau de l'extrait brut de composés phénoliques par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu. Cette méthode est la plus utilisée pour déterminer la quantité totale des polyphénols solubles mais elle reste très globale et ne donne aucune indication sur les différents composés présents dans l'extrait.

Après extrapolation des résultats de la D.O. sur la courbe d'étalonnage, la teneur en composés phénoliques totaux de notre échantillon est estimée à $7,47 \pm 0,26$ mg EAG/g E. Notre résultat est confirmée par **Alghanem et El-Amier (2017)** qui trouvent un teneur en polyphénols de valeur de $7,94 \pm 0,04$ mg EAG/g E dans *P.tomentosa*, et d'après les résultats de **Rached (2009)**, qui révèle la teneur en polyphénols de l'ordre de $42,46 \pm 3,09$ mg EAG/g E, qui est particulièrement très riches en substances phénoliques.

Ces différences des composés phénoliques des extraits dépend essentiellement: de leur origine (**Ebrahimzadeh et al., 2008**), la variété, la saison de récolte, la localisation géographique, les différentes maladies qui peuvent affecter la plante, la maturité de la plante (**Park et Cha, 2003**), et les conditions climatiques dures des endroits où elles poussent (température élevée, grande exposition au soleil, la sécheresse et la salinité) qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires comme les polyphénols. Aussi, elle peut être liée à la distribution des métabolites secondaires, peut changer pendant le développement de la plante (**Falleh et al., 2008**).

Le dosage des polyphénols totaux par le test Folin-Ciocalteu, implique que toutes les molécules réductrices, comme les sucres réducteurs ou la vitamine C, sont dosées, ce qui par conséquent rend ce dosage non sélectif vis-à-vis des polyphénols (**Fukushima et al., 2009**).

II.2.2.2. Dosage des flavonoïdes

La détermination de la teneur des flavonoïdes de l'extrait brut a été effectuée au moyen d'un dosage spectrophotométrique selon la méthode au trichlorure d'aluminium, celle-ci est la plus employée, elle se base sur la formation d'un complexe flavonoïde-ion d'aluminium ayant une absorbance maximale à 430 nm.

D'après les résultats expérimentaux obtenus lors du dosage des flavonoïdes, on constate que *Pergularia tomentosa* présente une teneur en flavonoïdes qui est de l'ordre de $42,93 \pm 0,48$ mg EQ/g E.

D'après les résultats de **Rached (2009)** montrent que *P. tomentosa* est globalement pauvre en flavonoïdes que notre extrait avec un taux de $11,80 \pm 0,48$ mg EQ/g E.

D'une manière générale la teneur en flavonoïdes de *P. tomentosa* est supérieur à celle de l'extrait méthanolique de *Pergularia daemia* de taux égal à $4,65$ mg EQ/g E qui est trouvée par **Karthishwaran et Mirunalini (2012)**.

A partir les résultats du dosage des flavonoïdes, **Bouchouka (2016)** constate que l'extrait aqueux du chloroforme de la plante *Periploca laevigata* (Asclépiadacées) possède une teneur égale à $46,99 \pm 5,32$ mg ECT/g E. Nous constatons également que c'est l'extrait aqueux du chloroforme qui a donné la teneur la plus élevée étant donné que les flavonoïdes

sont des petites molécules hydrosolubles riches en groupements hydroxyles se solubilisant donc dans les solvants polaire. La faible teneur des flavonoïdes dans l'extrait éthanolique brut s'expliquerait par la présence de plusieurs composés phytochimiques dans l'extrait éthanolique ce qui engendrerait un encombrement stérique et empêcherait ainsi la formation du complexe jaunâtre entre les groupements hydroxyles des flavonoïdes et le chlorure d'aluminium.

Les écarts trouvés entre les résultats obtenus et les données de la bibliographie sont tout à fait justifiés. En effet, les conditions d'extraction, l'état et l'origine de l'échantillon en terme de provenance géographique, saison de collecte et cultivation (**Ranalli et al., 2006 ; Falleh et al., 2008 ; Atmani et al., 2009**). Ainsi la diversité structurale des composés phénoliques conduit à la variabilité des propriétés physico-chimiques, la différence des standards utilisés, les méthodes de conservation et d'exposition des plantes à la lumière peuvent affecter la teneur en composés phénoliques (**Mateus et al., 2003 ; Athamena et al., 2010**).

II.2.2.3. Dosage des tanins condensés

La quantité de tanins condensés de l'extrait éthanolique de feuilles de *P. tomentosa* a été mesurée à l'aide du test à la vanilline (**Heimler, 2006**). Les résultats ont été exprimés en milligramme d'équivalent catéchine par gramme de l'extrait (mg ECT/g E).

A partir de **Tlili (2015)** les feuilles de *P. tomentosa* montrent que cet extrait est relativement riche en tanins condensés, avec un taux de $61,06 \pm 0,22$ mg ECT/g E, ce qui est une valeur supérieur à celle de notre extrait ($40,22 \pm 1,87$ mg ECT/g E).

Nos résultats sont en accord avec les travaux de **Lahmar et al (2017)** sur la plante *P. tomentosa*, et de **Bello et al (2011)** sur *Leptademia hastata*, qui sont montrés la richesse en ce classe phénolique.

La variation de taux de tanins pourrait être due aux conditions environnementales (**Fahmi et al., 2013**), Ainsi que dépend à la dégradabilité, est susceptible d'être influencé par le mode de culture, le stade phénologique (avec le temps, les plantes ont tendance à durcir par lignification et leur valeur nutritive décline), la nature du sol (les sols arides sont sablonneux, infertiles et pauvres en éléments nutritifs), le climat au moment du prélèvement (température et pluviométrie), de même que par la constitution de l'échantillon (proportion tiges-feuilles-fleurs). Le traitement de ces prélèvements en vue de l'expérimentation (mode de séchage, de broyage et de stockage) est aussi susceptible de faire varier les résultats (**Rira, 2006**).

II.2.3. Activités biologiques

II.2.3.1. Activité antioxydante

A. Teste DPPH

Le potentiel antioxydant des polyphénols est désormais munis d'un grand intérêt du à son effet chimio-protecteur contre les maladies dégénératives telles que les maladies neurologiques et cardiovasculaires ainsi qu'à son effet inhibiteur de la peroxydation lipidique des denrées alimentaires (**Bubonja-Sonje et al., 2011**).

Le radical libre stable 1, 1-diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH) est largement utilisé pour le dosage de l'activité d'élimination des radicaux des extraits de plantes. L'activité antioxydante a été évaluée en déterminant la valeur de IC₅₀, correspondant à la concentration de l'extrait capable d'inhiber 50% des radicaux libres (**Khasawneh et al., 2011**). Cette activité peut dépendre de nombreux facteurs tels que la composition en lipides, la concentration en antioxydants et le type de plante. La capacité antioxydante des échantillons de *Pergularia tomentosa* dépendrait fortement de la composition de ces extraits et des conditions de manipulation appliquées lors des tests in vitro (**Lahmar et al., 2017**).

A partir des résultats obtenus, l'extrait éthanolique des feuilles de *P.tomentosa* a une valeur d'IC₅₀ élevé de $8,92 \pm 0,40$ mg/ml, ce qui se traduit par de moyenne potentiel antiradicalaire, par rapport celles des antioxydants standards testés.

L'IC₅₀ de Cette activité antioxydante constatée, sont dues à une production des métabolites secondaires (**Gagandeep, 2006**). Considérant que Les flavonoïdes et les acides phénoliques sont plus efficaces dans le piégeage des radicaux libres après l'extraction par les solvants modérés ou hydrophiles (**Albano et Miguel, 2010**). En générale les plantes médicinales usitées dans les pharmacopées traditionnelles possèdent des propriétés antioxydantes (**Speroni et al., 2000**).

D'après **Alghanem et El-Amier (2017)** l'extrait méthanolique de *P.tomentosa* récoltée en Egypte a un IC₅₀ de l'ordre de 2,86 mg/ml, cette valeur est relativement élevé par rapport à notre résultat. On peut suggérer que le pouvoir antioxydant observé est du à la différence dans la constitution chimique de cette plante, elle-même variable en fonction des conditions du biotope. Et la quantité des composés bioactifs de la même plante dépend de plusieurs facteurs parmi eux le facteur de la région géographique qui, associée aux conditions climatiques comme la température et l'altitude, influent sur la composition chimique des constituants actifs et sur la capacité antioxydante des plantes (**khadri et al., 2008; Tlili, 2015**).

L'activité antioxydante de notre extrait éthanolique différente selon les espèces et selon les organes d'une même espèce serait directement liée à leur composition différente en composés polyphénoliques comme le montrent les résultats de **Abu Rayaan et al (2018)**, pour l'extrait éthanolique de tige des feuilles et racines de *P. tomentosa* montre une valeur d'IC₅₀ de l'ordre 0,63 mg/ml est très largement inférieur à celle de notre échantillons.

Nos résultats aussi indiquent que notre extrait possède un pouvoir antioxydant puissant par rapport à celui trouvés par **Tlili (2015)** sur même plante et de même région de l'ordre de 9,81±0,06 mg/ml. Cette différence peut être expliquée par le potentiel antioxydant des extraits dépend non seulement de la concentration des polyphénols mais aussi de leur structure ; c'est le concept de la « relation structure-activité » et de leur qualité de ces composés polyphénoliques (**Rached, 2009**).

A partir de ces comparaisons, on conclue que l'activité antioxydante puissante de l'extraits de feuilles de *P. tomentosa* peut être attribuée principalement à la teneur en composés phénoliques, en raison de leurs groupes hydroxyle, et / ou aux flavonoïdes qui réagissent avec le radical DPPH lors du don d'atomes d'hydrogène aux radicaux libres (**Calliste et al., 2001**), alors qu'il est extrêmement positif. La corrélation entre le contenu phénolique total et l'activité antioxydante a été établie dans le cas de nombreuses espèces végétales (**Juan et Chou, 2010; Khasawneh et al., 2011**). Cette corrélation et la valeur d'IC₅₀ est due à la présence des flavonoïdes, Ces derniers possèdent des propriétés antioxydantes puissantes. Le nombre et/ ou la position des groupes hydroxyle sur les noyaux de ces molécules, les substitutions sur les cycles B et A avec la présence de la double liaison C₂-C₃ en conjugaison avec la fonction 4-oxo sur le cycle C renforcent l'activité antioxydante des flavonoïdes (**Cai et al., 2006**).

B. Test hémolyse

Dans ce test biologique les hématies sont soumis à une agression oxydante, production contrôlée de radicaux libres par (FeCl₃) et (H₂O₂), dont le pouvoir antioxydant des globules rouges à la présence de l'extrait testé est mesuré colorimétrique par spectrophotomètre à longueur d'onde 540 nm.

A partir des résultats obtenus, on constate que l'extrait des feuilles de *P. tomentosa* est moins efficace contre l'oxydation des lipides dans la membrane d'érythrocyte que l'acide ascorbique, qu'il est considéré parmi les antioxydants les plus puissants connus. Cette différence d'activité pourra être due à l'effet de la solubilité des composés dans les milieux réactionnels. Ces résultats sont proportionnellement similaires avec ceux obtenus dans le test

DPPH, dont nous avons obtenu une activité antioxydante modérée pour le DPPH et bien importante pour l'hémolyse.

L'effet anti-hémolytique peut être attribué aux métabolites secondaires présents dans cet extrait tel que les flavonoïdes et les polyphénols, En effet, plusieurs études ont prouvé que certains des composés phénoliques, notamment les flavonoïdes possèdent des propriétés antiradicalaires, en neutralisant ou en piégeant les radicaux libres (**Hatia et al., 2014**). De plus, les polyphénols sont connus comme chélateurs de métaux de transition tels que le Fe^{2+} , réduisant ainsi la vitesse de réaction de Fenton. Ils peuvent aussi empêcher les oxydations causées par le radical hydroxyle (**Tsao, 2010**) et empêcher le passage de H_2O_2 à travers la membrane érythrocytaire et la génération des radicaux libres (**Hapner et al., 2010**).

II.2.3.2. Activité antimicrobienne

L'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique par la macération a été évaluée dans cette étude par la technique de diffusion sur disque (**Rios et Recio, 2005**). Le choix des souches bactériennes testées dans la présente étude était basé sur le caractère de multirésistance envers les antibiotiques classiques et l'agent pathogène le plus fréquemment impliqué dans les infections humaines, d'origines bactériennes (**Kayser et al., 2005**).

Ces résultats présentent que l'extrait éthanolique de *P.tomentosa* s'est révélé actif envers toutes les souches bactériennes testées mais avec des degrés différents, avec une légère activité antibactérienne contre la souche *staphylococcus aureus* à la concentration 5 mg/ml avec un diamètre de zone d'inhibition de 7 ± 0 mm, ce dernier est en accord avec les résultats trouvés par **Alghanem et El-Amier (2017)** sur l'extrait méthanolique obtenu de la même plante. D'autre part et à partir les résultats obtenus par **Abu Rayaan et al (2018)** qui sont révélés aucun effet inhibitrice sur la même souche.

D'après **Abu Rayaan et al (2018)** ont révélés aucune activité inhibitrice à la concentration 12,5 mg/ml vis-à-vis de la souche *Escherichia coli*, Mais il a une effet avec zone d'inhibition de 18 mm à la concentration 25 mg/ml. Une autre étude faite par **Bouchouka (2016)** a donné la même observation, ce qui confirme l'absence de tout effet de l'extrait méthanolique de la plante *Periploca laevigata* (Asclépiadacéae) sur la souche *E. coli*. Par contre nos résultats qui montrent une activité inhibitrice avec un diamètre de zone d'inhibition de $8,33 \pm 0,88$ mm à la concentration 5 mg/ml.

D'autre part, **Hoekou et al (2015)** ont constaté que l'extrait éthanolique des feuilles de la plante *Secamone afzelii* (Asclepiadaceae) sur *Salmonella typhi* et *Pseudomonas aeruginosa* a une activité antibactérienne avec des zones d'inhibition de l'ordre de $6,5 \pm 0,7$ et $8,5 \pm 2,1$ mm respectivement. Ces résultats sont faibles si elles sont comparée avec celles de

notre extrait qui montrent des valeurs des zones d'inhibition de $9,33 \pm 0,22$ pour *S. typhi* et $9,33 \pm 0,44$ mm pour *P. aeruginosa*.

Les résultats de l'activité antibactérienne apparaissent que *listeria innocua* (gram positive) est la bactérie la plus sensible par rapport aux autres souches (gram négative); ceci peut être attribué à la différence structurale entre les bactéries gram positives et les bactéries gram négatives (**David et Sudarsanam, 2013**). Cette différence est en relation avec la nature de leurs membranes (imperméables à la plupart des agents biocides) (**Bouزيد et al., 2011; Faucher et Avril, 2002**). Chez les bactéries à Gram⁺, le peptidoglycane est très épais et associé à des protéines pariétales exposées et à des structures polyosidiques (acides lipoteichoïques et acides teichoïques). En revanche chez les bactéries à Gram⁻, le peptidoglycane est très fin et associé à une enveloppe externe complexe définissant un espace périplasmique. Cette membrane externe est une bicouche lipidique asymétrique hydrophobe constituée de phospholipides, de protéines (porines) et de lipopolysaccharides (LPS). L'espace périplasmique est rempli d'enzymes qui dégradent les substances complexes pour qu'elles puissent traverser la membrane cytoplasmique, et inactivent les produits chimiques toxiques (antibiotiques). La résistance des bactéries à Gram⁻ aux glycopeptides et aux macrolides est due à l'incapacité de ces molécules à franchir la membrane externe (**Cristani et al., 2007; Boukhatem et al., 2014**).

Le diamètre de la zone d'inhibition dépend principalement de nombreux facteurs, par exemple: capacité de diffusion de substances (présentes dans les extraits) dans le milieu de gélose, pouvoir antimicrobien des substances diffusées, la croissance et activité métabolique des micro-organismes dans le milieu (**Bandeira, 2006**), en plus en fonction de la date de la récolte il aura des variations très importantes dans la composition chimique et de l'activité (**Athamena, 2009**).

A partir de ces résultats on conclue que les différentes classes de polyphénols essentiellement comme les tanins et les flavonoïdes peuvent augmenter la toxicité des extraits envers les micro-organismes (**Harrar, 2012**), les terpènes et stéroïdes et les composés phénoliques décelés sont deux classes de métabolites secondaires qui constituent des agents de lutte chimique contre les pathogènes tels les bactéries et les champignons (**Bruneton, 2009**). L'effet antimicrobien de ces phénols peut être expliqué par la multiplication des modes d'actions tels que: l'inhibition des enzymes extracellulaires microbiennes, la séquestration de substrat nécessaire à la croissance microbienne ou la chélation de métaux tels que le fer, l'inhibition du métabolisme microbien (**Daglia, 2011**), dégradation de la paroi cellulaire, perturbation de la membrane cytoplasmique, ce qui cause une fuite des composants

cellulaires, l'influence de la synthèse de l'ADN et l'ARN (**Zhang *et al.*, 2009**), des protéines des lipides, et la fonction mitochondriale (**Balentine *et al.*, 2006**), ainsi que la formation des complexes avec la paroi (**Gangoué, 2007**). Et l'induire d'une fuite d'ions de potassium au niveau de la membrane et par voie de conséquences des lésions irréversibles au niveau de cette membrane. Cette perméabilité au potassium est un effet précurseur de leur mort (**Rhayour, 2002**).

Un grand nombre de travaux ont décrit l'activité antifongique des polyphénols. Cependant, les polyphénols sont observés comme des phytoalexines et sont des moyens de défense utilisés par les plantes contre les champignons pathogènes (**Lahmar *et al.*, 2017; Tlili, 2015; Hoekou *et al.*, 2012**).

Il a été démontré que les polyphénols induisent des changements morphologiques au niveau de la matrice mitochondriale pour la rendre plus dense. Ces changements dans la structure mitochondriale peuvent provoquer un manque d'énergie intracellulaire, inhibant ainsi la mitose (**Mohammedi, 2013**).



Conclusion

A l'heure actuelle, les plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments. Elles sont considérées comme une source de matière première essentielles pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments. C'est pour cette raison que le patrimoine végétal doit être absolument préservé dans sa diversité et dans son étendue.

Le travail que nous avons entrepris a pour objectif principal la valorisation d'une plante spontanée (*Pergularia tomentosa*) du Sahara septentrional largement utilisée dans la médecine traditionnelle. Elle était choisie pour valoriser l'une des plantes médicinales du Sahara d'Algérie et surtout dans notre région El-oued. Donc, ce travail se veut une contribution à une meilleure connaissance de cette espèce végétale.

L'extraction des composés phénoliques des feuilles de la plante par la méthode de macération a permis d'obtenir un rendement de 20,73 %.

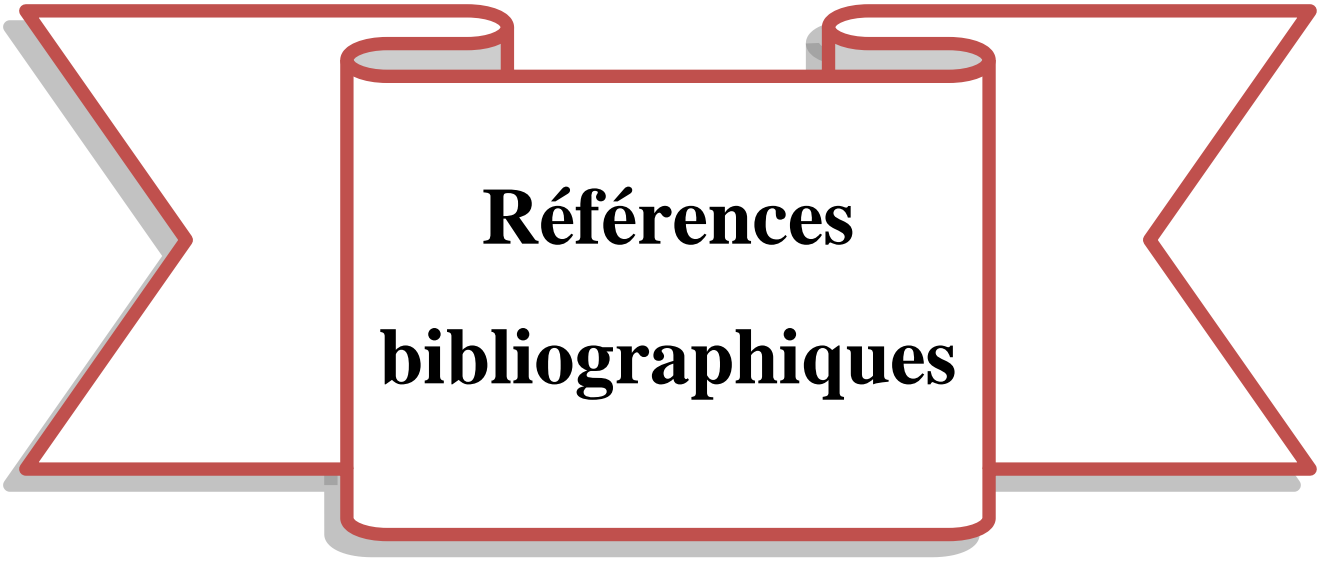
La teneur en composés phénoliques des plantes estimées par la méthode de Folin-Ciocalteu est $7,47 \pm 0,26$ mg EAG/g E. Le dosage par la méthode d' AlCl_3 a révélé que l'extrait est riche en flavonoïdes avec une teneur de $42,93 \pm 0,48$ mg EQ/g E. L'estimation de la quantité de tanins condensés montre que l'extrait présente une teneur de l'ordre de $40,22 \pm 1,87$ mg ECT/g E.

L'activité antioxydante de l'extrait de *Pergularia tomentosa* a été évaluée par deux méthodes; le test de piégeage de radical libre DPPH et le test hémolyse. Les résultats du DPPH montrent que l'extrait éthanolique étudié possède une activité antioxydante modérée grâce à leurs constituants (composés polyphénoliques), avec une IC_{50} égale à $8,92 \pm 0,40$ mg/ml, mais reste relativement faible par rapport à celui de l'acide gallique et l'acide ascorbique utilisés comme contrôles positifs. L'effet anti-hémolytique contre l'hémolyse induite par peroxyde d'hydrogène de l'extrait éthanolique de *Pergularia tomentosa* réalisé sur les érythrocytes humains est donné de bons résultats avec un pourcentage d'inhibition égal à 27,41% à la concentration 1 mg/ml. Les résultats obtenus suggèrent que les composants phénoliques de notre extrait pourraient être le principal constituant anti-hémolytique.

L'activité antimicrobienne a été déterminée sur cinq souches bactériennes et une souche fongique, selon la méthode de diffusion de disque. Les résultats indiquent que l'extrait éthanolique possède une activité antimicrobienne sur toutes les souches testées. Une bonne activité antimicrobienne a été remarquée contre *Salmonella typhi*, *Listeria innocua* et *Fusarium culmorum*.

Ces résultats confirment que la *Pergularia tomentosa* est une plante médicinale qui possède une importance non négligeable en médecine. En effet, les feuilles de la plante

possèdent de nombreuses propriétés thérapeutiques. Ces résultats restent cependant initiaux partiels. Il serait donc judicieux à l'avenir d'approfondir l'étude phytochimique de cette plante en essayant d'identifier et de purifier les substances bioactives responsables à des activités testées.



**Références
bibliographiques**

Références bibliographiques

- Abirami, A., Gunasekaran, N., & Perumal, S. (2014).** *In vitro* antioxidant, anti-diabetic, cholinesterase and tyrosine inhibitory potential of fresh juice from *Citrus hystrix* and *C. maxima* fruits. *Food Science and Human Wellness*, 10 (03), 18-22.
- Abou-Zeid, A.M., Altalhi, A.D. & Abd El-Fattah, R.I. (2008).** Fungal Control Of Pathogenic Fungi Isolated From Some Wild Plants In Taif Governorate, Saudi Arabia, *Mal. J. Microbiol*, 4(1), 30-39.
- Abu Rayyan, W., Alshammari, S.A.G., Alsammari, A.M.F., Alshammari, M.S.S., Seder, N., Abu Qatouseh, L., Bostami, M., Mansoor, K., Hamad, M.F., Almajali, I.S. & Abu Dayyih, W. (2018).** The Phytochemical Analysis and Antimicrobial Activity of *Pergulariata mentosa* in North East Kingdom of Saudi Arabia KSA. *Biomedical & Pharmacology Journal*, 11(4), 1763-1771.
- Acheuk, F. & Doumandji-Mitiche, B. (2013).** Insecticidal activity of alkaloids extract of *Pergularia tomentosa* (Asclepiadaceae) against fifth instar larvae of *Locusta migratoria cinerascens* (Fabricius 1781) (Orthoptera: Acrididae). *International Journal of Science and Advanced Technology*, 3(6) , 8-13.
- Albano, S.M & Miguel, M.G. (2010).** Biological activities of extracts of plants grown in Portugal. *Industrial Crops and Products*, 1-6.
- Alghanem, M.S & El-Amier, Y.A. (2017).** Phytochemical and Biological Evaluation of *Pergularia tomentosa* L. (Solanaceae) Naturally Growing in Arid Ecosystem. *International Journal of Plant Science and Ecology*, 3(2), 7-15.
- Al-Nadaf, A H., Seder, N J., & Rayyan, W A. (2018).** Wound healing; antimicrobial and anti-oxidant activity for Jordanian *Juglans Regia* L. unripe fruits. *Journal of Innovations in Pharmaceutical and Biological Sciences*, 5, 26-34.
- Al-Said, M.S., Hifnawy, M.S., Mcphail, A.T. & Mcphail, D.R. (1988).** Ghalakinoside, a cytotoxic cardiac glycoside from *Pergularia tomentosa*. *Phytochemistry*, 27 (10), 3245-3250.
- Amani, A. & Barmo, S. (2010).** Contribution à l'état de connaissances des quelques plantes envahissantes au Niger. *republique du niger*. 34p.
- Anizon, J.Y., Lemaire, B. & Surbled, M. (2003).** Extraction assistée par micro-ondes, *Techniques de l'ingénieur* ; F3060, 1.
- Aoki, T., Donnel, K. (1999).** Morphological and molecular characterisation of *Fusarium pseudograminearum* sp. Nov. formerly recognized as the Group 1 population of *F. graminearum*. *Mycologia*, 91, 597-609.

Références bibliographiques

- Arbos, K.A., Claro, L.M., Borges, L., Santos, C.A. & Weffort-Santos, A.M. (2008).** Human erythrocytes as a system for evaluating the antioxidant capacity of vegetable extracts. *Nutrition Research*, 28, 457-463.
- Asres, K., Seyoum, A., Veereshan, C., Bucar, F. & Gibbons, S. (2005).** Naturally derived anti HIV agents. *Phytother. Res*, 19, 557-581.
- Atefeibu, E.S.I. (2002).** Contribution a l'étude des tanins et de l'activité antibacterienne d'Acacia Nilotica Var Andesonii. Thèse de Doctorat, université cheikh Anta Diop de Dakar.33p .
- Athamena. (2009).** Etude quantitative des flavonoides des graines de Cuminum cyminum et les feuilles de rosmarinus officinalis et l'évaluation de l'activité biologique. Thèse de Magister en Biologie. Université El-Hadj Lakhdar. Batna, Algérie. 88 p.
- Athamena., Chalghem1., Kassah-Laouar ., Laroui & Khebri., 2010.** activité anti-oxydante et antimicrobienne d'extraits de *cuminum cyminum* l. *Lebanese Science Journal*, 11(1), 69-81.
- Atmani, D., Chaher, N., Atmani, D., Berboucha, M., Debbache, N. & Boudaoud, H. (2009).** Flavonoids in human health: from structure to biological activity. *Current Nutrition & Food Science*, 5(4), 225-237.
- Augustin, J.C. (1999).** Modélisation de la dynamique de croissance des populations de *Listeria monocytogenes* dans les aliments. Thèse de Doctorat, Université Lyon 1.
- Baba Amer, Z. (2013).** chemical constituents of flora of algeria– chemical constituents of *Pergularia tomentosa*. l. Faculty of Sciences and Technology and Material's Sciences. Thèse de doctora, Université Kasdi Merbah, Ouargla. 131p.
- Baba-Aïssa, F. (2000).** Encyclopédie des Plantes Utiles, Flore d'Algérie et du Maghreb, Substances Végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. Librairie Moderne Rouiba, EDAS, Algérie. 368p.
- Balasundram, N., Sundram, K. & Samman, S. (2006).** Phenolic compounds in plants and agriindustrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99, 191–203.
- Balentine, C.W., Crandall, P.G., O'bryan, C.A., Duong, D.Q. & Pohlman, F.W. (2006).** The pre and post-grinding application of rosemary and its effects on lipid oxidation and color during storage of ground beef. *Meat Science*, 73, 413-421.
- Bandeira, M. F. C. L., Teixeira, M. F. S., Abinader, C. D., Parente, R. C. & Lima, P. S. L. (2006).** Avaliacao in vitro da sensibilidade da *Candida albicans* ao hidroxido de calico associado ao oleo de copaiba. *Review Dentística*, 6, 12-22.

Références bibliographiques

- Bello, A., Aliero, A.A., Saidu, Y. & Muhammad, S. (2011).** Phytochemical Screening, Polyphenolic Content and Alpha-Glucosidase Inhibitory Potential of *Leptadenia hastata* (Pers.) Decne, 19 (2), 181-186.
- Benavente-Garcia, O., Castillo, J., Marin, F.R., Ortuno, A. & Del Rio, J.A. (1997).** Uses and properties of *Citrus* flavonoids. *J. Agric. Food Chem*, 45, 4505-4515.
- Benbrinis, S., 2012-**Evaluation des activités antioxydante et antibactérienne des extraits de *Santolina chamaecyparissus*. Mémoire de magister en biochimie. Université Ferhat Abbas, Setif. 84p.
- Bengmark, S. (2004).** Acute and "chronic" phase reaction-a mother of disease. *Clinical Nutrition*, 23, 1256-1266.
- Benhouhou, S. (2005).** A Guide To Medicinal Plants In North Africa, Iucn, P 267.
- Boizot, N. & Charpentier, J.P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Méthodes et outils pour d'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques, *Le Cahier des Techniques de l'INRA*, 79-82.
- Bossokpi, I.P.L. (2002).** Etude des activités biologiques de *Fagara xanthoxyloides* LAM (Rutaceae). Thèse de pharmacie, Bamako, 133p.
- Bouakaz, I. (2006).** Etude phytochimique de la plante *Genista Microcephala*. Mémoire de magister. Batna.124 p.
- Bouchouka, E. (2016).** Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes Sahariennes. Thèse de doctorat en science. université badji mokhtar, annaba. 114p.
- Boudjouref, M. (2011).** Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Thèse de Magister en Biochimie. Université Ferhat Abbas, Sétif. Algérie. 99 p.
- Boukhatem, M.N., Ferhat, M.A., Kameli, A.K., Saidi, F., Taibi, H. & Teffahi, D. (2014).** Valorisation de l'essence aromatique du Thym (*Thymus vulgaris* L.) en aromathérapie anti-infectieuse. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 8(4), 1418-1431.
- Bouزيد, W., Yahia1, M., Abdeddaim, M., Aberkane, M.C. & Ayachi, A. (2011).** Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de l'aubépine monogyne. *Lebanese Science Journal*, 12: 1.
- Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 3ème Edition : Tec & Doc Lavoisier. Paris. 1120 p.

Références bibliographiques

- Bruneton, J. (2008).** Acides phénols. In: Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. *Ed: Tec & Doc. Lavoisier, Paris.* pp 198-260.
- Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4^{ème} Edition Lavoisier. Paris. 1234p.
- Bubonja-Sonje, M., Giacometti, J. & Abram M. (2011).** Antioxidant and antilisterial activity of olive oil, cocoa and rosemary extract polyphenols. *Food Chemistry*, 127, 1821-1827.
- Budic-Letoc, I., Lovric, T., Pezo, I. & Klujuzuric, J.G. (2005).** Study of dynamics of polyphenol extraction during traditional and advanced maceration processes of the babic grape variety. *Food Technology and Biotechnology*, 43(1), 47- 53.
- Cai, Y.Z., Sun, M., Xing, J., Luo, Q. & Corke, H. (2006).** Structure-radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants. *Life Sci*, 78, 2872-2888.
- Calliste, C.A., Trouillas, P., Allais, D.P., Simon, A. & Duroux, J.L. (2001).** Free radical scavenging activities measured by electron spin resonance spectroscopy and B16 cell antiproliferative behaviors of seven plants, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 (7), 3321–3327.
- Chang, C., Yang, M., Wen, H. & Chern, J. (2002).** Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *J. Food Drug Analysis*, 10, 178-182.
- Chehma, A. (2006).** Catalogue des plantes spontanées du Sahara septentrional algérien. Laboratoire de protection des écosystèmes en zone arides et semi arides, Université Kasdi Merbah, Ouargla, 140 p.
- Cherif¹, R., Kemassi¹, A., Boual, Z., Bouziane, N., Benbrahim, F., Hadjseyd, A., Gharib, T., Ould El Hadj-Khelil, A., Sakeur, M.L. & Ould El Hadj, M.D. (2016).** activités biologiques des extraits aqueux de *Pergularia tomentosa* L. (asclepiadaceae) . *Lebanese Science Journal*, 17 (1), 25-35.
- Choi, H., Song, J. & Park, K. (2009).** Inhibitory effects of quercetin 3-rhamnoside on influenza A virus replication. *Eur.J.Pharm.Sci*, 37 (3-4), 329-33.
- Clauzel, J. (2006).** Notes Sur La Faune Sauvage De L'adagh (Adrar Des Iforas): 1948-1958, Le Temps Des Tournées, P 150.
- Clifford, A.A. (2002).** Extraction of Natural Products with Superheated Water. In: Clark J., Macquarrie D. (Eds) Handbook of Green Chemistry and Technology. Blackwell Science Ltd. 524-531.

Références bibliographiques

- Cowan, M.M. (1999).** Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews.*, 12 (4), 564-570.
- Crestini, C. & Lange, H. (2015).** A novel and efficient immobilized tannase coated by the layer-by-layer technique in the hydrolysis of gallotannins and ellagitannins. *Microchemical Journal*, 123, 139–147.
- Cristani, M., D'arrigo, M. & Mandalari, G. (2007).** Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes: implications for their antibacterial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 6300-6308.
- Crozier, A., Jaganath, I.B. & Clifford, M.N. (2009).** Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. *Nat. Prod. Rep.*, 26(8), 1001-1043.
- Dacosta, Y. (2003).** Les phytonutriments bioactifs, Ed Yves Dacosta, Paris, 317 p.
- Daglia, M. (2011).** Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, 23, 1-8.
- D'archivio, M., Filesi, C., Di Benedetto, R., Gargiulo, R., Giovannini, C. & Masella, R. (2007).** Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Ann Ist Super Sanita*, 43(4), 348-361.
- David, B.C. & Sudarsanam, G. (2013).** Antimicrobial activity of *Gymnema sylvestre* (Asclepiadaceae). *Journal of Acute Disease*, 222-225.
- Djeridane, A., Yous, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P. & Vidal, N. (2006).** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem*, 97, 654-660.
- Do, Q. D., Angkawijaya, A.E., LanTran-Nguyen,P., Huynh, L.H., SuryadiIsmadji, F.E., Yi-HsuJu. (2014).** Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatic*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22, 296 - 302
- Druzyńska, B., Stepniowska, A. & Wolosiak, R. (2007).** The influence of time and type of solvent on efficiency of the extraction of polyphenols from green tea and antioxidant properties obtained extracts. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 6, 27-36.
- Dupont, F. & Guignard, J.X . (2007).** Abrégé de Botanique : Systématique moléculaire. 14^{ém} édition, Masson, Paris.
- Ebrahimzadeh, M.A., Pourmmorad, F. & Hafezi, S. (2008).** Antioxidant activities of Iranian Corn Silk. *Turkish journal of biology*, 32, 43-49.
- Escribano-Bailon. & Santos-Buelga. (2003).** Methods in polyphenol analysis. *Royal Society of Chemistry*. Cambridge, 383p.

Références bibliographiques

- Fahmi, F., Tahrouch, S. & Hatimi, A. (2013).** Geoclimatic influences on flavonoids contents of the leaves of the argan tree Influences géoclimatiques sur la composition en flavonoïdes des feuilles de l'arganier *Argania spinosa*. *J. Mater. Environ. Sci.* 4(6), 881-886.
- Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M. & Abdelly C. (2008).** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*, 331, 372-379.
- Faucher, J.L. & Avril, J.L. (2002).** Bactériologie générale et médicale. Tome 1, Ellipses (Ed.), Paris. 365p.
- Fiorucci, S. (2006).** Activités biologiques de composés de la famille de flavonoïdes: approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire. Thèse de doctorat. Nice. 211p.
- Fukushima, Y., Ohie, T., Yonekawa, Y., Yonemoto, K., Aizawa, H., Mori, Y., Watanabe, M., Takeuchi, M., Hasegawa, M., Taguchi, C. & Kondo, K. (2009).** Coffee and green tea as a large source of antioxidant polyphenols in the Japanese population. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(4), 1253-1259.
- Gagandeep, M. & Kalidhar, S.B. (2006).** Chemical constituents of *Crataeva nurvala* (Buchham) leaves. *In. J. Ph. Sc.*, 68, 804-806.
- Gangoue, P.J. (2007).** caractérisation des beta-lactamases et leur inhibition par les extraits de plantes médicinales. Thèse de doctorat. Université de Liège. 104p.
- Ghedadba, N., Hambaba, L., Ayachi, A., Aberkane, M.C., Bousselesla, H. & Oueld-Mokhtar, S.M. (2015).** Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de *Marrubium deserti* de Noé. *Phytothérapie*, 13(2), 118-129.
- Gohar, A.A., El-Olemy, M.M., Abdel-Sattar, E., El-Said, M. & Niwa, M. (2000).** Cardenolides and β -Sitosterol Glucoside From *Pergularia Tomentosa*. *L. Naturel product Science*, 6(3), 142-146.
- Gonzalez-Gallego, J., Garcia-Mediavilla, M.V., Sanchez-Campos, S. & Tunon, M.J., 2010-**Fruit polyphenols, immunity and inflammation. *British Journal of Nutrition*, 104, 15-27.
- Goyder, D. J. (2006).** A revision of the genus *Pergularia* L. (Apocynaceae: Asclepiadoideae), The board of the royal botanic gardens, *Kew Bulletin*, 61(22), 45–256.
- Guignard, J.L. (1996).** Biochimie végétale. Ed. Masson, Paris. France. 274 p.
- Guignard, J.L. (2000).** Les composés aromatiques In : Biochimie végétal. *Ed : Dunod*. 161-217.
- Guillard, C. (2011).** Photo- vieillissement: Photo protection par application des antioxydants, *Rapport de Master de l'université de Rennes 1, option Biologie Gestion*. 59 p.

Références bibliographiques

- Gulcin, I., Huyut, Z., Elmastas, M. & Aboul-Enein, H.Y. (2010).** Radical scavenging and antioxidant activity of tannic acid. *Arabian Journal of Chemistry*, 3, 43-53.
- Haddouchi, F., Chaouche, T.M. & Halla, N. (2016).** Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. *Phytothérapie*. 1-9.
- Hamed, A., Alberto, M., Balestrieri, A., Mahalel, I., Springuel, W., Oleszek, C., Pizza, C. & Piacente, S. (2006).** Cardenolide Glycosides from *Pergularia tomentosa* and Their Proapoptotic Activity in Kaposi's Sarcoma Cells. *Journal of Natural Product*, 69, 1319-1322.
- Hammiche, H. & Maiza, K. (2006).** Traditional Medicine In Central Sahara: Pharmacopoeia Of Tassili N'ajjer. *Journal Of Ethnopharmacology*, 105, 358-367.
- Hanes, D. (2003),** Nontyphoid *Salmonella*, Bier J. (Eds) International Handbook of Foodborne Pathogens Edition. Milotis N., New york, 137-149.
- Hapner, C. D., Deuster, P. & Chene, Y. (2010).** Inhibition of oxidative hemolysis by quercetin, but not other antioxidants. *Chemico-Biological Interactions*, 186(3), 275-279.
- Harrar, A.E.N. (2012).** Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. Thèse de Magister Biochimie et physiologie expérimentale, Université Ferhat Abbas, Sétif. Algérie. 73 p.
- Hartzfeld, P.W., Forkner, R., Hunter, M .D. & Hagerman, A .E. (2002).** Determination of Hydrolyzable Tannins (Gallotannins and Ellagitannins) after Reaction with Potassium Iodate. *J.Agric. Food Chem*, 50, 1785-1790.
- Hassan, S., Umar, R., Ladan, M.J., Myemike, P., Wasagu, R.S.U., Lawal, M., & Ebbo, A.A. (2007).** Nutritive Value, Phytochemical and Antifungal Properties of *Pergularia tomentosa* L. (Asclepiadaceae). *International Journal of Pharmacology*, 3, 334–340.
- Hatia, S., Septembre-Malaterre, A., Le Sage, F., Badiou-Bénéteau, A., Baret, P., Payet, B., Lefebvre d'hellencourt, C. & Gonthier M, P. (2014).** "Evaluation of antioxidant properties of major dietary polyphenols and their protective effect on 3T3-L1 preadipocytes and red blood cells exposed to oxidative stress." *Free radical research* 48(4): 387-401.
- Hatia, S., Septembre-Malaterre, A., Le Sage, F., Badiou-Bénéteau, A., Baret, P., Payet, B., Lefebvre d'hellencourt, C. & Gonthier M, P. (2014).** "Evaluation of antioxidant properties of major dietary polyphenols and their protective effect on 3T3-L1 preadipocytes and red blood cells exposed to oxidative stress." *Free radical research*, 48(4), 387-401.
- Heim, K., Tagliaferro, A. & Bobilya, D. (2002).** Flavonoids antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13, 572-584.

Références bibliographiques

- Heimler, M. D., Vignolini, P., Dini, M. G., Vincieri, F. F. & Romani, A. (2006).** Antiradical activity and polyphenol composition of local *Brassicaceae* edible varieties,” *Food Chemistry*, 99(3), 464–469.
- Heller, W. & Forkmann, G. (1993).** The flavonoids. Advances in research since 1986. In Harborne JB. Secondary Plant Products. Encyclopedia of plant physiology. Ed. Chapman & Hall, London, 399-425.
- Hodek, P., Trefil, P. & Stiborov, A. M. (2002).** Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. *Chem. Biol. Interact*, 139, 1–21.
- Hoekou, P.Y., Tchacondo, T, Gbogbo, K.A, Tchelougou, D, Pissang, P, Karou, S.D, Améyapoh, Y.A & Batawila, K. (2015).** Antibacterial activities of three latex plants of Asclepiadaceae family used in traditional medicine in South Togo. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*, 4(5), 882-891.
- Hoekou, Y.P., Batawila, K., Gbogbo, K.A., Karou, D.S., Ameyapoh, Y. & Souza, C. (2012)** . Evaluation des propriétés antimicrobiennes de quatre plantes de la flore togolaise utilisées en médecine traditionnelle dans le traitement des diarrhées infantiles. *Int. J. Biol. Chem. Sci*, 6(6), 3089-3097.
- Hosseini Kahnouj, Sh., Ayyari, M., Azarnivand, H., Piacente, S. & Zare Chahouki, Ma. (2017).** *Pergularia tomentosa*, from Traditional Uses to Ecology and Phytochemistry. *Journal of Medicinal Plants*, 16(63), 108-118.
- Hotamisligil, G.S. (2006).** Inflammation and metabolic disorders. *Nature*, 444, 860-867.
- Hugas, M., Pagés, F., Garriga, M., Monfort, J.M. (1998).** Application of the bacteriocinigenic *Lactobacillus sakei* CTC 494 to prevent growth of *L.monocytogenes* in fresh and coodek meat products packed with different atmospheres. *Food Microbiol.* 15,639-650.
- Irving, W., Ala’Aldeen, D. & Boswell, T. (2005).** Medical Microbiology. Collection Instant Notes. Taylor et Francis. 350p.
- Juan, M.Y. & Chou, C.C. (2010).** Enhancement of antioxidant activity, total phenolic and flavonoid content of black soybeans by solid state fermentation with *Bacillus subtilis* BCRC 14715,” *Food Microbiology*, 27(5), 586–591.
- Karthishwaran, K. & Mirunalinis. (2012).** Assessment of the antioxidant potential of *Pergularia daemia* (Forsk.) extract in vitro and in vivo experiments on hamster buccal pouch carcinogenesis . *Journal of Tropical Disease*, 509-516 .
- Kayser, M.D. F. H., Bienz, K. A., Eckert, Ph.D. J. & Zinkernagel, M.D. M. R. (2005).** Medical Microbiology. Edition Thieme. 698p.
- Khadri, A., Serralheiro, M.L.M., Nogueira, J.M.F., Neffati, M., Smiti, S. & Araujo,**

Références bibliographiques

- M.E.M. (2008).** Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of essential oils from *Cymbopogon schoenanthus* L. Spreng. Determination of chemical composition by GC– mass spectrometry and ¹³C NMR. *Food Chemistry*, 109, 630–637.
- Khasawneh, M. A., Elwy, H. M., Fawzi, N. M., Hamza, A. A., Chevidenkandy, A. R., & Hassan, A. H. (2011).** Antioxidant activity, lipoxygenase inhibitory effect and polyphenolic compounds from *Calotropis procera* (Ait.) R. Br.,” *Research Journal of Phytochemistry*, 5(2), 80–88.
- Kraft, K. & Hobbs, C. (2004).** Pocket Guide to Herbal Medicine. Thieme, Stuttgart, New York. 16 p.
- Kuster, R., Arnold, N. et Wessjohann, L. (2009).** Anti-fungal flavonoids from *Tibouchina grandifolia*. *Biochem. Syst. Ecol*, 37 (1), 63-5.
- Labiod R. (2016).** Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calamintha nepeta* : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide. Thèse Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat En BIOCHIMIE Option : Biochimie appliquée. universite badji mokhtar-Annaba. 115p.
- Lahmar, I., Belghith, H., Ben Abdallah, F. & Belghith, K. (2017).** Nutritional Composition and Phytochemical, Antioxidative, and Antifungal Activities of *Pergularia tomentosa*. *LBioMed Research International*, 9, 1-9.
- Lahmar, I., Manova, D., Yotova, L. (2015).** Enzymes screening from crude extract. of *pergularia tomentosa* l, 100, livre 4, 184-190.
- Lahoum, A., Aouiche, A A., Bouras, N., Verheecke, C., Klenk, H.-P., Sabaou, N. & Mathieu, F. (2016).** Antifungal activity of a Saharan strain of *Actinomyces* sp. ACD1 against toxigenic fungi and other pathogenic microorganisms, *Journal de Mycologie Médicale*, MYCMED-605, 1- 8.
- Laraba, M., Serrat, A. & Ouassaa G. (2016).** Etude in vitro de l'activité antioxydante des polyphénols isolés à partir d'une plante médicinale. Mémoire de Master en Sciences Biologiques. Université des Frères Mentouri ,Constantine. 67p.
- Lhuillier, A. (2007).** Contribution a l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *Agauria salicifolia* Hook.f ex Oliver, *Agauria polyphylla* Baker (*Ericaceae*), *Tambourissa Trichophylla* Baker (*Monimiaceae*) et *Embelia concinna* Baker (*Myrsinaceae*). Thèse de doctorat, Toulouse. 171 p.
- Li, H.B., Cheng, K.W., Wong, C.C., Fan, K.W., Chen, F. & Tian, Y. (2007).** Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fraction of selected microalgae. *Food Chimestry*, 102, 771-776.

Références bibliographiques

- Macheix, Jj., Christian, Ja. & Allemand, J. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux. Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Collection biologique, press polytechniques et universitaires, Romandes, 1-192.
- Mahmoudi, S., Khali, M. & Mahmoudi, N. (2013).** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Revue « Nature & Technologie ». B- Sciences Agronomiques et Biologiques*, 35-40.
- Maiza, K., Brac, De La Perriere, R.A. & Hammiche, V. (1993).** Pharmacopée traditionnelle saharienne : Sahara septentrional. *Médicaments et aliments : l'approche ethnopharmacologique*. Actes du 2e Colloque Européen d'Ethnopharmacologie et de la 11^e Conférence internationale d'Ethnomédecine, Heidelberg, 196-171.
- Malesev, D. & Kuntié, V. (2007).** Investigation of metal –flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal –flavonoid complexing reactions. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 72(10), 921-939.
- Manach, C., Mazur, A. & Scalbert, A. (2005).** Polyphenols and prevention of cardiovascular diseases. *Current Opinion in Lipidology*, 16, 1–8.
- Mandal, V., Mohan, Y. & Hemalatha S. (2007).** Microwave Assisted Extraction-An Innovative and Promising Extraction Tool for Medicinal Plant Research. *Pharmacognosy Rev*, 1, 7-17.
- Martin, S. & Andriantsitohaina, R. (2002).** Cellular mechanism of vasculo-protection induced by polyphenols on the endothelium. *Annales de Cardiologie et d'Angiologie*, 51, 304-315.
- Mateus, N., Carvalho, E., Carvalho, A. R .F., Melo, A., Gonzalez-Paramas, A. M., Santosbuelga, C., Silva, A.M. S., Freitas, V. (2003).** Isolation and structural characterization of new acylated anthocyanin– vinyl– flavanol pigments occurring in aging red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(1), 277-282.
- Merghem, R. (2009).** Eléments de biochimie végétale. *Bahaeddine Editions*, 95-121.
- Middleton, E., Kandaswami, C & Theoharides, T.C. (2000).** The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol Rev*, 52, 673-839.
- Milane, H. (2004).** La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère prooxydant ou capte urs de radicaux libres;études et applications thérapeutiques. Thèse de Doctorat. Strasbourg. 263 p.
- Mohammedi Z. (2013).** Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie. Thèse de Doctorat en Biologie. Université de Abou Bekr Belkaid.Tlemcen, Algérie. 169 p.

Références bibliographiques

- Molyneux, P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin. Journal of Science and Technology*, 26(2), 211-219.
- Murga, R., Ruiz, R., Beltrán, S. & Cabezas, J. L. (2000).** Extraction of natural complex phenols and tannins from grape seeds by using supercritical mixtures of carbon dioxide and alcohol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48 (8), 3408-3412.
- Narayana, K. R., Reddy, M. S., Chaluvadi, M. R. & Krishna, D. R. (2001).** Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian journal of pharmacology*, 33, 2-16.
- Nassiri-Asl, M. & Hosseinzadeh, H. (2009).** Review of the pharmacological effects of *Vitis vinifera* (grape) and its bioactive compounds. *Phytotherapy Research*, 23(9) , 1197-1204.
- Nauciel, C. & Vildé, J.L. (2005).** Bactériologie médicale, 2èmeEd. Masson . Paris. 5- 10.
- Neguia, F. (2014).** Contribution à l'étude de la biodiversité fongique des sols salins et hyper salins (chotts) de la région d'oued souf et leur activité protéolytique. Mémoire de master académique en sciences biologiques non publié du diplôme magister, Université Mohamed Khider Biskra, Biskra ,13 p.
- Newman, D.J. & Cragg, G.M. (2012).** Natural Products As Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010. *J. Nat. Prod*, 75, 311-335.
- Okoko, T & Ere, D. (2012).** "Reduction of hydrogen peroxide–induced erythrocyte damage by *Carica papaya* leaf extract." *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 2(6), 449-453.
- Organisation Mondiale de la Santé. (2002).** Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2002-2005, Genève, 65p.
- Ouédraogo, H., Ouattara, L., Ouoba, P., Bonzi, S. & Somda, I. (2018).** Évaluation de l'activité antifongique et de la phytotoxicité de *Isobberlinia doka craib* & staff. *European Scientific Journal*,14(30), 213-227.
- Ouis, N. (2015).** Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre de fenouil et de persil. Thèse de doctorat. Université d'Oran 1. 223p.
- Pansera, M. R., Iob, G. A., Atti-Santos, A. C., Rossato, M., Atti-Serafini, L. & Cassel, E. (2004).** Extraction of tannins by *Acacia mearnsii* with supercritical fluids. *Brazilian archives of biology and technology*, 47 (6), 995-998.
- Park, H. J. & Cha, H. C. (2003).** Flavonoids from leaves and exocarps of the grape Kyoho. *Korean journal of biological society*, 7, 327-330.

Références bibliographiques

- Peeking, A., Picand, B., Hacene, K., Lokiec, F. & Guerin, P. (1987).** Oligimères procyanidoliques (Endotélon) et système lymphatique. *Artères et Veines. Publications médicales AGCF*, 6, 512-513.
- Penchev, P.I. (2010).** Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions. Thèse de doctorat, université de toulouse. 229p.
- Peronny, S. (2005).** La perception gustative et la consommation des tannins chez le maki (*Lemur catta*). Thèse de doctorat. Muséum national d'histoire naturelle, France. 151p.
- Perraut, S. (2013).** Les ultrasons, une alternative verte pour l'extraction. *Article vue en ligne*, le 17 Septembre : <http://www.processalimentaire.com/Procedes/Les-ultrasons-une-alternative-verte-pour-l-extraction-23431>.
- Piacente, S., Masullo, M., De Nève, N., Dewelle, J., Hamed, A., Kiss, R. & Mijatovic, T. (2009).** Cardenolides from *Pergularia tomentosa* Display Cytotoxic Activity Resulting from Their Potent Inhibition of Na⁺/K⁺-ATPase. *J. Nat. Prod.* 72 : 1087–1091.
- Pinelo, M., Laurie, V.F. & Waterhouse, A.L. (2006).** A Simple method to separate red wine nonpolymeric and polymeric phénols by solid-phase extraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 2839-2844.
- Piquemal, G. (2008).** Les flavonoides (en ligne): <http://www.detoursante.com/index.php>.
- Popovici, C., Saykova, I. & Tylkowski, B. (2009).** Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel*, 4, 25-39.
- Quideau, S. (2009).** Chemistry and Biology of an underestimated class of bioactive plant polyphenols Ellagitannins. World Scientific Publishing, 1-367.
- Rached, W. (2009).** Évaluation du potentiel antioxydant de plantes médicinales et analyse phytochimique. Mémoire de Magister en Biologie. Université d'Oran Es-Sénia. 122 p.
- Rahman, I., Biswas, S.K. & Kirkham, P.A. (2006).** Regulation of inflammation and redox signaling by dietary polyphenols. *Biochem Pharmacol*, 72, 1439-1452.
- Ramakrishn, A.A. & Ravishankar, G.A. (2011).** Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling & Behavior*, 6(11), 1-12.
- Ranalli, A., Contento, S., Lucera, L., Febo, M., Marc, D., Marchegiani, D. & Fonzo, V. (2006).** Factors affecting the contents of iridoid oleuropein in olive leaves (*Olea europaea* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(2), 434-440.

Références bibliographiques

- Reghioua, S., Boughachiche, F., Zerizer, H., Oulmi, L., Kitouni, M., Boudemagh, A. & Boulahrouf, A. (2006).** Activité antibactérienne d'actinomycètes rares isolés d'échantillons de sol aride du Sud-est Algérien. *Pharmacologie*, 8, 147-152.
- Remini ,R.(2006).** la disparition des ghouts dans la région d'el oued (algerie), Chercheur au laboratoire LARHYSS, Biskra, Algérie, Laboratoire de Recherche en Hydraulique Souterraine et de Surface .P :55.
- Rezaire, A. (2012).** Activité anti-oxydante, et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien *Oenocarpus bataua* (patawa). Thèse de doctorat, Université des Antilles et de la Guyane. 208p.
- Rhayour, K. (2002).** Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *E.coli*, *Bacillus Subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*. Thèse de doctorat en vue de l'obtention du Doctorat Nationale. Faculté des sciences DharMehraz – Fés.170p.
- Rhazi, N. (2015).** Mise au point de mélanges collants écologiques d'*Acacia mollissima* du Maroc. Thèse de doctorat en cotutelle. L'Université Hassan II de Casablanca L'Université de Pau et des Pays d'Adour. 153p.
- Rios, J.L. & Recio, M C. (2005).** Medicinal plants and antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 100, 80-84.
- Rira, M. (2006).** Effet des polyphénols et des tanins sur l'activité métabolique du microbiote ruminal d'ovins. Mémoire de Magister en : biochimie et microbiologie appliquées. Université Mentouri, Constantine. 87p.
- Routary, W. & Orsat, V. (2012).** Microwave-assisted extraction of flavonoids: a review. *Food Bioprocess Technology*, 5 (2), 409-424.
- Roux, D. & Catier, O. (2007).** Botanique, pharmacognosie, phytothérapie. Collection du " cahier du préparateur en pharmacie ",141- 146.
- Santangelo, C., Vari, R., Scazzocchio, B. &. (2007).** Polyphenols, intracellular signaling and inflammation. *Annali dell'Istituto Superiore di Sanita*, 43(4), 394-405.
- Sarni-Manchado, P. & Cheynier, V. (2006).** Les polyphénols en agroalimentaire. *Ed Tec et Doc Lavoisier*, 02-11.
- Scalbert, A. (2004).** Fruits et légumes, polyphénols et santé, Laboratoire des maladies métaboliques et micronutriments, INRA, Centre de Recherche de Clermont-Ferrand/Theix, article publié dans le lien suivant : <http://culturesciences.chimie.ens.fr/content/fruits-et-legumes-polyphenols-et-sante-1026>.

Références bibliographiques

- Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Remesy, C. & Jimenez L. (2005). Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45, 287-306.
- Scaria, J., Palaniappan, R., Chiu, D., Ann Phan, J., Ponnala, L., McDonough, P., Grohon, Y., Porwollik, S., McClelland, M., Chiou, C., Chu, C., Chang, Y-F. (2008). Microarray for molecular typing of *Salmonella enteric* serovars, *Molecular and Cellular Probes*, 22, 238-243.
- Schmelzer, G.H. & Gurib-Fakim, A. (2013). Ressources végétales de l'Afrique tropicale 11(2) plantes médicinales 2. Fondation PROTA. Wageningen, Pays-Bas. 224-226.
- Schofield, P., Mbugua, D.M. & Pell, A.N. (2001). Analysis of condensed tannins: a review. *Anim. Feed Sci. Technol*, 91, 21-40.
- Seidel V. (2005). Initial and Bulk Extraction. In: Sarker S D, Latif Z and Gray A I. Natural products isolation. Humana Press (Totowa), 27-37.
- Sharififar, F., Moshafi, M.H., Mansouri, S.H., Khodashenas, M. & Khoshnoodi, M. (2007). In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora* Boiss. *Food Control*, 18, 800–805.
- Shobana, S., & Vidhya, R. (2016). Evaluation of *in vitro* hemolytic activity of different parts of abutilon indicum (Linn.). *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(5), 1182–1196.
- Singh, N. & P, Rajini. (2008). "Antioxidant-mediated protective effect of potato peel extract in erythrocytes against oxidative damage." *Chemico-Biological Interactions*, 173(2), 97-104.
- Smith, R.M. (2002). Extraction with Superheated Water, *Journal of Chromatography A*, 975, 31-46.
- Speroni, E. & Scartezzini, P. (2000). Review on some plants of indiane traditional medicine with atioxidant activity. *J. Ethnopharmacol*, 71, 23– 43.
- Spigno, G. & De Faveri, D.M. (2007). Antioxidants from grape stalks and marc: influence of extraction procedure on yield, purity and antioxidant power of the extracts. *Journal of Food Engineering*, 78, 793-801.
- Stevanovic, T. & Perrin, D. (2009). Chimie du bois. Lausanne: Presses polytechniques et universitaires romandes, 179-180.
- Swaminathan, B. & Gerner-Smidt, M.D. (2007). The epidemiology of human literiosis. *Microb. Infect*, 9, 1236-1243.

Références bibliographiques

- Tachakittirungrod, S., Ikegami, F. & Okonogi, S. (2007).** Antioxidant Active Principles Isolated from *Psidium guajava* Grown in Thailand. *Scientia Pharmaceutica (Sci. Pharm.)*, 75, 179-193.
- Tlili, M.L. (2015).** Contribution à la caractérisation physico-chimique et biologique des extraits de *Pergularia tomentosa* issue de quatre sites sahariens différents (Sahara septentrional). Mémoire de magister en biologie. universite kasdi merbah. ouargla. 98p.
- Touafek, O., 2010-** Etude phytochimique de plantes medicinales du Nord et du Sud Algérien. thèse de doctorat, université de Mentouri, Constantine. 259 p.
- Tsao, R. (2010).** Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*, 2(12), 1231-1246.
- Tsimogiannins, D.I. & Oreopoulou, V. (2006).** The contribution of flavonoid C-ring on DPPH free radical scavenging efficiency. A kinetic approach for the 3', 4'-hydroxy substituted members. *Innovat Food Sci Emerg Tech*, 7, 140-146.
- Udenigwe, C.C., Ramprasath, V.R., Aluko, R.E. & Jones, P.J.H. (2008).** Potential of resveratrol in anticancer and anti-inflammatory therapy. *Nutrition Reviews*, 66(8) , 445-454.
- Van Acker, S., Van Balen, G.P., Van Den, Berg D.J. & Van Der, Vijgh W.J.F. (1996).** Influence of iron chelation on the antioxidant activity of flavonoids. *Biochem. Pharmacol*, 56, 935– 943.
- Vermerris, W. & Nicholson, R. (2006).** Phenolic compound Biochemistry, *Springer* . Dordrecht. ISBN-10 1-4020-5163-8 (HB). 284 p.
- Villano, D., Fernandez-Pachon, Ms., Moya, Ml., Troncoso, Am. & Garcia-Parilla, Mc. (2007).** Radical scavenging ability of phenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta*, 71, 230–235.
- Vora, J., Srivastava, A. & Modi, H. (2017).** Antibacterial and antioxidant strategies for acne treatment through plant extracts. *Informatics in Medicine Unlocked*, 1-12.
- W –Erdman, J., Balentine, J. D., Arab, L., Beecher, G., Dwyer, J. T., Folts, J., Harnly., Hollman, J. P., L –Keen, C.,Mazza, G., Messina, M., Scalbert, A., Vita, J., Williamson, G. & Burrowes, J. (2007).** Flavonoids and heart health : Proceeding of the ILSI North America flavonoids workshop. *Journal of Nutrition.*,137 (3 supp1), 718 -737.
- Wang, L. & Weller, C. L. (2006).** Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science and Technology*, 17 (6), 300-312.
- Wigley, P. (2004).** Genetic resistance to *Salmonella* infection in domestic animals. *Research in Veterinary Science*, 76(3), 165-169.

Références bibliographiques

Wuyts, N. (2006). Interaction entre les nématodes parasites des plantes et les métabolites secondaires des plantes, avec une emphase sur les phénylpropanoïdes dans les racines. *Info Musa*, 15, 1-2.

Yin, N.S., Abdullah, S. & Phin, C.K. (2013). Phytochemical constituents from leaves of *elaeis guineensis* and their antioxidant and antimicrobial activities. *Int J Pharm Pharm Sci*,5(4), 137-140.

Zaika, L.L. & Faneli, J.S. (2003). Growth kinetics and cell morphology of *Listeria* Scott A as affected by temperature, NaCl, and EDTA.J. *Food.Port*, 66, 1208-1215.

Zhang, Y., Moqtaderi, Z., Rattner, Bp., Euskirchen, G., Snyder, M., Kadonaga, Jt., Liu, Xs. & Struhl, K. (2009). Intrinsic histone-DNA interactions are not the major determinant of nucleosome positions in vivo. *Nat Struct Mol Biol*, 16(8), 847-52.

Les sites électroniques

<https://www.jircas.affrc.go.jp>

<https://www.projectnoah.org>

<https://www.techniclub-dz.com>

Résumé

L'objectif de ce travail est l'étude d'une des plantes médicinales de la pharmacopée traditionnelle de l'Algérie, en l'occurrence *Pergularia tomentosa* provenant de la région de Méguibra (El-oued), et déterminer les contenants en composés phénoliques de leur feuilles extraire par macération éthanolique par dosage colorimétrique, suivi d'une évaluation des activités antioxydante, et antimicrobienne de ces composés.

Le dosage quantitatif a montré la richesse en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tannins avec des valeurs de $7,47 \pm 0,26$ mg EAG/g E, $42,93 \pm 0,48$ mg EQ/g E et de $40,22 \pm 1,87$ mg ECT/g E respectivement.

L'évaluation du potentiel antioxydant de l'extrait par deux méthodes différentes : le test de DPPH et le test hémolyse, le test de DPPH a révélé une réponse antioxydante considérable avec IC_{50} de $8,921 \pm 0,4$ mg/ml, le test hémolytique indique que l'extrait de notre plante exerce un effet protecteur sur la membrane érythrocytaire contre le stress oxydant induit par H_2O_2 .

L'activité antimicrobienne a été déterminée sur six souches: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria innocua* et *Fusarium culmorum*, les résultats obtenus montrent que toutes les souches ciblées possèdent une sensibilité différente au l'extrait éthanolique de *Pergularia tomentosa*.

Mots clés: *Pergularia tomentosa*, polyphénols, flavonoïdes, activité antioxydante, activité antimicrobienne, hémolyse.

Abstract

The objective of this work is the study one of the medicinal plants of the traditional pharmacopoeia of Algeria, in this case *Pergularia tomentosa* pick from the Meguibra region (El-oued), and to determine the containers in phenolic compounds of their leaves extract by ethanol maceration by colorimetric assay, followed by an evaluation of the antioxidant and antimicrobial activities of these compounds .

The quantitative assay showed a richness in total polyphenols, flavonoïds and tannins with values of 7.47 ± 0.26 mg EAG / g E, 42.93 ± 0.48 mg EQ / g E and 40.22 ± 1.87 mg ECT / g E respectively.

The evaluation of the antioxidant potential of the extract by two different methods: the DPPH test and the hemolysis test , the DPPH test revealed a considerable antioxidant response with IC50 of 8.921 ± 0.4 mg / ml, the hemolytic test indicates that the extract of our plant exerts a protective effect on the erythrocyte membrane against oxidative stress induced by H₂O₂.

The antimicrobial activity was determined on six strains: *Escherichia coli* , *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria innocua* and *Fusarium culmorum* , the results that we have reached show that all the strains targeted have different susceptibility to the ethanol extract of *Pergularia tomentosa*.

Keywords: *Pergularia tomentosa*, polyphenols , flavonoïds , antioxidant activity, antimicrobial activity, hemolysis test.

الملخص

يهدف هذا العمل إلى دراسة إحدى النباتات الطبية في الصحراء الشمالية الجزائرية و هي نبتة العلقة *Pergularia tomentosa* المقطوفة من منطقة Megibra ، وتحديد محتوى المركبات الفينولية المتواجدة بأوراقها المستخلصة عن طريق النقع في محلول الايثانول بواسطة فحص اللونية، و تقييم نشاطها المضاد للأكسدة، و المضادة للميكروبات. أظهر التحليل الكمي ثراء في مجموع البوليفينول، الفلافونويد والعفص بقيمة $7,47 \pm 0,26$ ملغ /EAG/ غرام من المستخلص، $42,93 \pm 0,48$ ملغ /EQ/ غرام من المستخلص و $40,22 \pm 1,87$ ملغ /ECT/ غرام من المستخلص على التوالي. تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة بطريقتين : الأولى احتباس الجذر الحر DPPH ، والثانية اختبار انحلال كريات الدم الحمراء *hémolyse* ، حيث كشفت نتائج اختبار DPPH عن استجابة معتبرة ضد الأكسدة بقدرة تثبيطية مقدرة بـ $8,921 \pm$ ، أما اختبار *hémolyse* يشير إلى أن مستخلص النبتة له تأثير وقائي على غشاء الكريات الحمراء ضد الإجهاد التأكسدي الناجم عن H_2O_2 . تم تحديد النشاط المضاد للميكروبات على ست سلالات: *Staphylococcus aureus* ، *Escherichia coli* ، *Salmonella typhi* ، *Pseudomona aeruginosa* ، *Listeria innocua* و *Fusarium culmorum* ، أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن جميع السلالات التي تم اختبارها لها نشاط مختلف تجاه المستخلص الايثانولي لنبتة *Pergularia tomentosa* .

الكلمات المفتاحية: *Pergularia tomentosa* ، المركبات الفينولية ، الفلافونويدات ، النشاط المضاد للأكسدة ، النشاط المضاد للميكروبات ، اختبار انحلال الدم.