

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

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Toxicologie

THEME

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

Présenté par :

M^{elle} BELLOUM Nawal.

M^{elle} NANI Nedjwa.

Devant le jury composé de :

Président: Mr. KHELEF Yahia M.A.A, Université Echahid Hamma Lakhdar D'El-Oued.

Examinatrice: M^{lle}. RAMDANE Farah M.C.A, Université Echahid Hamma Lakhdar D'El-Oued.

Promoteur: Mr. TLILI Mohammed Laid M.A.A, Université Echahid Hamma Lakhdar D'El-Oued.

Année universitaire 2019/2020



Remerciements

Alhamdo li allah, qui nous a éclairé les voies de la science et de la Connaissance et qui nous a aidé à compléter cette recherche Modest

Ce mémoire a été réalisé sous l'encadrement du M. TLILI Mohammed Laid, Je tiens à lui exprimer toute ma gratitude pour m'avoir encadré et veillé au bon déroulement de ce travail. Merci d'avoir toujours été disponible et pour m'avoir guidé par vos conseils et orientations. Merci infiniment pour les nombreuses heures investies dans la correction du présent manuscrit.

Que Mesdames et Messieurs les membres de jury trouvent ici l'expression de mon profond respect et de mes remerciements les plus sincères pour l'intérêt qu'ils portent pour juger ce modeste travail, en l'occurrence : Nous tenons également à remercier tous les enseignants de la faculté des sciences de la nature et de la vie de Université Echahid Hamma Lakhdar -EL OUED, spécialement les enseignants qui ont contribué à notre formation en TOXICOLOGIE. Nos remerciements vont également à tous les membres des Laboratoires du Notre faculté.

Très grande merci à tous les étudiants de notre promotion TOXICOLOGIE.



A decorative border of red roses with green leaves frames the text on the page. The roses are arranged in a circular pattern around the central text.

Dédicace

*C'est avec un très grand honneur que je dédie ce modeste travail
aux personnes les plus chères au monde qui m'ont permis de continuer
mes études dans les meilleures conditions et qui m'ont appris à ne
jamais baisser les bras.*

Mes chers parents ;

A ma très chère mère Salima ;

*Tu es l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de
prier pour moi. Et Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver t'accorder santé,
longue vie et bonheur.*

A mon père Mohammed ;

*Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et
mon bien être. Ce travail est fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour
mon éducation et ma formation*

A ma sœur : Narimene bien-aimée est le sel de ma vie

A mes frères: Youcef , Alla Eddine , Adel , Oussama , Abed-El-Mounhim

À tout le membre de ma famille grande et petite.

À Mon chère amie, mon compagnon Nedjwa

À tous mes proches, mes camarades de promotion, Toxicologie (2020).

Nawal

A decorative border of red roses with green leaves frames the central text. The roses are arranged in a heart-like shape, with some at the top, some on the left, and some at the bottom right.

Dédicace

Je dédie ce mémoire

*A ceux qui m'ont tout donné sans rien attendre en retour
A ceux qui m'ont encouragée et soutenue durant toutes mes années
d'études : mes parents tous les mots sont insuffisants
pour exprimer ma gratitude, ma reconnaissance et mon
amour. Que le tout puissant les garde et les protégé
A mes parents Zakaria et Souad*

A mes chères sœurs Soudjoud, Atra, Aida et Imane.

*A mon très cher frère Ahmad présent dans tous mes moments d'examens par
son soutien moral et ces encouragements.*

*A tous les membres de ma famille et mes ami(e)s qui m'ont beaucoup
aidé et qui ont toujours cru en moi.*

A mon binôme Nawal.

*Merci pour vos encouragements, votre soutien moral, dont je suis
reconnaissante. Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de
bonheur.*

Nedjwa

LISTE DES ABREVIATIONS

- ✓ **Abs** : absorbance
- ✓ **ADN** : Acide désoxyribonucléique.
- ✓ **AlCl₃** : Trichlorure d'aluminium.
- ✓ **ARN** : Acide ribonucléique
- ✓ **ATCC**: American type culture collection.
- ✓ **C°** : Degré Celsius.
- ✓ **CPG-SM** : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
- ✓ **DMSO**: Diméthyle sulfoxyde..
- ✓ **DPPH**: 2,2-diphényl-1-picryl hydrazyl.
- ✓ **EC₅₀ (IC₅₀)** : concentration inhibitrice à 50 %.
- ✓ **FeCl₃** :Trichlorure de fer.
- ✓ **FVT** : Flavonoïdes totaux.
- ✓ **HCL** : Hydrogen chloride
- ✓ **HPLC** : Chromatographie liquide haute performance
- ✓ **LPS** : lipopolysaccharides
- ✓ **M/v**: masse/volume.
- ✓ **ml** : microlitre.
- ✓ **Mg EAG/ g E** : Milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait.
- ✓ **Mg EQ/ g E** : Milligramme d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait.
- ✓ **Mg/ml** : milligramme/ millilitre.
- ✓ **mm** : millimètre.
- ✓ **Na₂CO₃** : Carbonate de Sodium
- ✓ **P/V** : Pois /Volume.
- ✓ **PPT** : Polyphénols totaux.
- ✓ **RMN** : Résonance magnétique nucléaire
- ✓ **UV** : Ultraviolet.
- ✓ **V/V** : Volume/Volume.

Liste des figures

N°	Titre des figures	Page
01	Structure d'unité de base des polyphénols	03
02	Structure de base d'un flavonoïde	06
03	Structure de lignane	08
04	Structures chimiques (a) d'un tanin condensé et (b) d'un tanin hydrolysables.	9
05	Structure des stilbènes	10
06	structure de base des coumarines	11
07	Structure de la molécule d'isoprène	13
08	Structures chimiques de quelques alcaloïdes	14
09	Fleurs, feuilles et fruits de <i>Pergularia tomentosa L</i>	17
10	<i>Pergularia tomentosa.L</i>	18
11	Poudre des racines de <i>Pergularia tomentosa L.</i>	23
12	Schéma général des différentes étapes du travail.	27
13	Protocole d'extraction des composés phénolique.	28
14	Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH	31
15	Protocole d'évaluation de l'activité antimicrobienne.	35
16	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux	38
17	Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux.	40
18	Résultats d'inhibition de DPPH par l'acide gallique.	41
19	Résultats d'inhibition de DPPH par l'acide ascorbique.	42
20	Résultats d'inhibition de DPPH par l'extrait éthanolique de <i>Pergularia tomentosa</i>	42
21	Résultats de concentrations inhibitrices 50 % de DPPH	43
22	L'effet d'extrait de <i>P. tomentosa</i> sur la souche <i>Aspergillus carbonarius</i> .	49
23	Effet de l'extrait de <i>P.tomentosa</i> sur la <i>Aspergillus carbonarius</i>	49

Liste des tableaux

N°	Titre des tableaux	Page
01	Classification des polyphénols	05
02	Présente quelques classes distinctes des flavonoïdes.	07
03	Composition en métabolites primaires des différentes parties de <i>Pergularia tomentosa</i>	19
04	Composition en métabolites secondaires des différents organes de <i>P. tomentosa</i> .	20
05	Composition minérale de <i>Pergularia tomentosa</i> .	20
06	Les souches microbiennes testées	24
07	Liste des matériels non biologiques utilisés pendant le travail.	26
08	Résultats des tests phytochimiques d'extraits éthanolique	37
09	Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne (mm) obtenus par différentes concentrations dans l'extrait.	46
10	Diamètres des zones d'inhibition de la croissance fongique (mm) obtenus par différentes concentrations d'extrait.	48

SOMMAIRE

Remerciements
Dédicaces
Liste des Abréviations
Liste des Figures
Liste des tableaux
Introduction
Première Partie : Synthèse Bibliographique

Chapitre I: Métabolites secondaires

I.1. Classification des métabolites secondaires	3
I.1.1. Composés phénoliques.....	3
I.1.1.1. Classification des composés phénoliques	6
A. Flavonoïde	6
• Propriétés physico-chimiques des flavonoïdes.....	6
• Activités biologiques des flavonoïdes.....	7
B. Lignanes.....	8
C. Saponines.....	8
D. Tannins.....	9
E. Stilbène.....	10
F. Coumarines.....	10
I.1.1.2. Rôles des composés phénoliques	11
a) Rôle physiologique.....	11
b) Rôle technologique.....	11
c) Rôle biologique.....	12
I.1.1.3. Biosynthèse des composés phénoliques	12
a) Voie de l'acide shikimique.....	12
b) Voie de l'acétate.....	13
I.1.2. Terpenoides	13
I.1.3. Alcaloïdes	13

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

II.1. Présentation de famille des Asclépiadacées	15
II.2. Généralité sur <i>Pergularia tomentosa</i> L.....	15
II.2.1. Position systématique de <i>Pergularia tomentosa</i>	15
II.2.2. Description botanique de <i>Pergularia tomentosa</i>	16
II.2.3. Appellation.....	17
II.2.4. Distribution géographique.....	18
II.2.5. Utilisation populaire	18
II.2.6. Usage Médicinal.....	19
II.2.7. Les travaux antérieurs	19
II.2.7.1. Composition biochimique du <i>Pergularia tomentosa</i>	19
a) Métabolites primaires.....	19
b) Métabolites secondaires.....	20
c) Composition minérale de <i>Pergularia tomentosa</i>	20
II.2.7.2. Activités pharmacologiques de <i>Pergularia tomentosa</i>	21
a. Activité anti oxydante.....	21
b. Anti tumorale.....	21
c. Antidermatophytique.....	21
d. Activité antimicrobienne.....	21
e. Molluscicide.....	21
f. Larvicide.....	22
g. Toxicité.....	22

Deuxieme Partie : Etude expérimentale

Chapitre I. Matériel et méthodes

I.1. Matériel.....	23
I.1.1. Matériel biologique.....	23
I.1.1.1. Matériel végétal.....	23
I.1.1.2. Microorganismes testées.....	24
I.1.2. Matériels non biologiques	26
I.1.3. Milieux de culture.....	26
I.2. Méthodes.....	26

I.2.1. Extraction des composés phénoliques	28
I.2.2. Analyse qualitative	29
I.2.2.1. Polyphénols	29
I.2.2.2. Tanins	29
I.2.2.3. Alcaloïdes	29
I.2.2.4. Flavonoïdes	29
I.2.2.5. Saponosides.....	29
I.2.2.6. Sucres réducteurs.....	30
I.2.3. Analyse quantitative.....	30
I.2.3.1. Dosage de polyphénols totaux	30
I.2.3.2. Dosage de flavonoïdes.....	30
I.2.4. Activités biologiques	31
I.2.4.1. Activité antioxydante (test DPPH)	31
I.2.4.2. Activité antimicrobienne	32

Chapitre II. Résultats et discussions

II.1. Rendement d'extraction des composés phénoliques	36
II.2. Tests phytochimique.....	36
II.3. Dosage des composées phénoliques	38
II.3.1. La teneur en polyphénols totaux.....	38
II.3.2. La teneur des Flavonoïdes.....	40
II.4. Evaluation l'activité antioxydante	41
II.5. Evaluation Activité antimicrobienne	45
II.5.1. Pouvoir antibactérienne	45
II.5.2. Pouvoir antifongique	48
Conclusion.....	51
Références bibliographiques	52
Résumé	



Les plantes ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'homme, au travers des âges, l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base : nourriture, abris, vêtements (**Gurib-Fakim, 2006**). Le monde des végétaux est plein de ressources et de vertus d'où l'homme puise non seulement sa nourriture mais aussi des substances actives qui procurent souvent un bienfait à son organisme parfois affecté de troubles insidieux (**Baba-Aissa, 2000**). 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 (**Gurib-Fakim, 2006**).

Les plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments, elles sont considérées comme source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments (**Maurice, 1997**).

Cette matière végétale contient un grand nombre de molécules qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie alimentaire, en cosmétologie et en pharmacie; Parmi ces composés on retrouve, les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tannins, les terpènes et les flavonoïdes (**Bahorun et al., 1996**).

L'Algérie possède une flore végétale riche et diversifiée. Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal, on trouve assez des espèces de la famille des Asclepiadeaceae qui sont également largement distribuées dans les régions méditerranéennes, parmi les espèces de cette famille, *Pergularia tomentosa* est une plante utilisée en médecine traditionnelle contre les dermatoses et les angines (**Ould El Hadj et al., 2003**), les spasmes et les diarrhées (**Al-Qura'n, 2005**) ainsi que le diabète (**Kemassi et al., 2014**).

Le stress oxydant est impliqué dans de très nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications, la plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes augmente la multiplication mitochondriale de radicaux (**Girodon et al., 2010**). Parmi les activités biologiques des plantes médicinales, ces dernières années l'attention s'est portée sur l'activité antioxydante en raison du rôle qu'elle joue dans la prévention des maladies chroniques telles que les pathologies du cœur, le cancer, le diabète, l'hypertension, et la maladie d'alzheimer en combattant le stress oxydant (**Meddour et al., 2013**).

Les plantes produisent également des composés organiques ayant une activité antimicrobienne. Ces composés présentent un intérêt parce que la résistance aux antibiotiques est devenue un problème de santé publique dans le monde entier notamment en termes de maladies d'origine alimentaire et les infections nosocomiales (**Anderson et al., 2001**).

L'objectif de notre travail a été entrepris afin de réaliser d'une étude phytochimique, ainsi que d'évaluer les activités antioxydante et antibactérienne des extraits éthanoliques de la partie sous terrain de *Pergularia tomentosa* L.

Cette étude comporte deux parties:

La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique, qui constituée de deux chapitres l'un sur les métabolites secondaires et l'autre sur la plante étudiée (*Pergularia tomentosa*).

La seconde partie concerne la partie expérimentale, qui comporte :

- Les tests phytochimiques de racine de la plante.
- L'extraction des polyphénols par macération.
- Dosage des phénols totaux, des flavonoïdes.
- Évaluation de l'activité antioxydante, par le piégeage du radical libre DPPH.
- Évaluation de l'activité antimicrobienne.

Enfin, nous présenterons les résultats obtenus et leur discussion. Une conclusion résumera l'ensemble du travail réalisé.

Partie 01 :
Etude
bibliographique

Chapitre I.
Les métabolites
secondaires

Tous les êtres vivants ont un métabolisme primaire qui fournit les molécules de base (acides nucléiques, lipides, protéines, acides aminés et glucides). Les plantes produisent, en plus, un grand nombre de composés qui ne sont pas issus directement lors de la photosynthèse, mais résultent des réactions chimiques ultérieures. Ces composés sont appelés métabolites secondaires (**Mohammedi, 2013**). Ils sont d'une variété structurale extraordinaire mais elles sont produites en faible quantité. Ces molécules marquent de manière originale, une espèce, une famille ou un genre de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique (**Hadjer, 2017**).

I. Classification des métabolites secondaires

On les classe en trois catégories principales selon leur structure :

- ✓ Les polyphénols, ou composé phénoliques
- ✓ Les terpénoides
- ✓ Les alcaloïdes (**Bellaw, 2012**).

I.1. Composés phénoliques

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) (**Figure 1**) (**Bouchouka, 2016**).

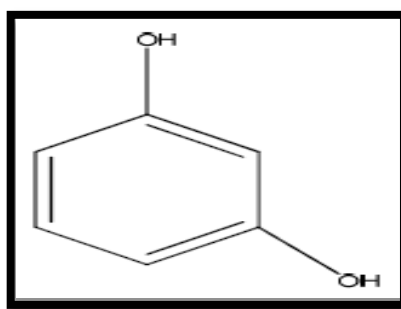


Figure 1: Structure d'unité de base des polyphénols (**Ghnimi, 2015**).

Ces molécules jouent un rôle majeur au niveau de la croissance des végétaux et dans la lutte contre des agents pathogènes et des infections. La couleur des fruits, des fleurs et

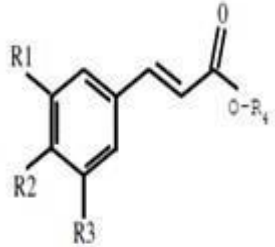
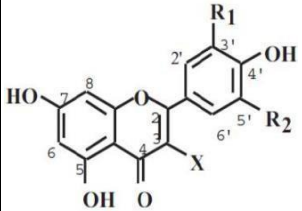
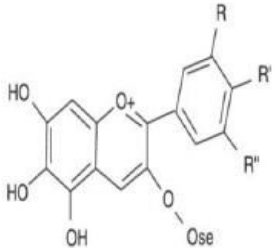
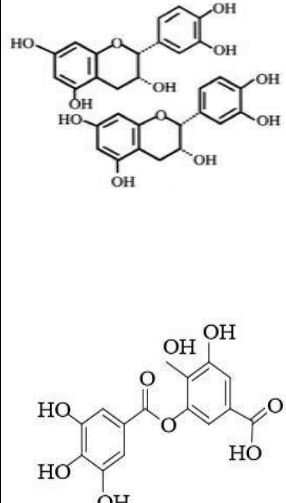
des feuilles est une des caractéristiques d'une sous-classe des flavonoïdes (**El-gharras, 2009**).

Les polyphénols, qui 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**).

De nombreuses études sont en faveur d'un impact positif de leur consommation sur la santé. En effet, les polyphénols pourraient permettre de prévenir de nombreuses pathologies comme le cancer (**Brown et al., 1998**), les maladies dégénératives et cardio-vasculaires (**Paganga et al., 1999**). Un encouragement à la consommation d'aliments d'origine végétale riches en composés phénoliques constitue désormais une des principales recommandations en santé publique. Parmi les antioxydants végétaux, les composés phénoliques apparaissent parmi les plus efficaces quant à leurs effets protecteurs dans l'organisme (**Gee et Johnson, 2001**).

L'élément structural fondamental qui caractérise les composés phénoliques est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle ainsi que des groupes fonctionnels (ester, méthyle ester, glycoside...) (**Bruneton, 1999**). Les composés phénoliques sont commodément classés selon le nombre d'atomes de carbone dans le squelette de base (**Tableau 1**) (**Dacosta, 2003**).

Tableau 1: Classification des polyphénols (Pincemail et al., 2002).

Classe	Sous classe	Caractéristiques	Fonctions	Structure de bases
Les acides phénoliques	Les dérivés de l'acide hydroxy benzoïque	Composés organiques naturelle	-Une fonction acide -Plusieurs fonctions phénols	
Les flavonoïdes	-Anthocyanidines -Flavanols -Flavones -Isoflavones -Flavanols -Flavanones	Pigment universels des végétaux	-Forme libre(aglycone) -Forme hétéroside	
Les anthocyanes	Anthocyane	Répondu dans les fleurs, fruits Chargé positivement	Groupelement hydroxyle	
Les tannins	-Tannins condensés -Tannins hydrolysables	-Macromolécule avec une activité antioxydant très puissante -Se combine avec les protéines pour donner des composés insolubles et stables	-Esters de glucoses -Composé phénolique hétérogène	

I.1.1. Classification des composés phénoliques

A. Flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent le groupe le plus large des phénols végétaux, représentant plus de la moitié des huit milles composés phénoliques naturels. Les flavonoïdes sont des composés de faible poids moléculaire qui consistent en 15 atomes carboniques, disposés sous la configuration : C6-C3- C6 (**Figure 2**) (**Balasundram et al., 2006**). Les flavonoïdes sont composés généralement de deux cycles benzéniques (cycles A et B) liés par un hétéro-cycle contenant un oxygène (cycle C) (**Tsao et Deng, 2004**).

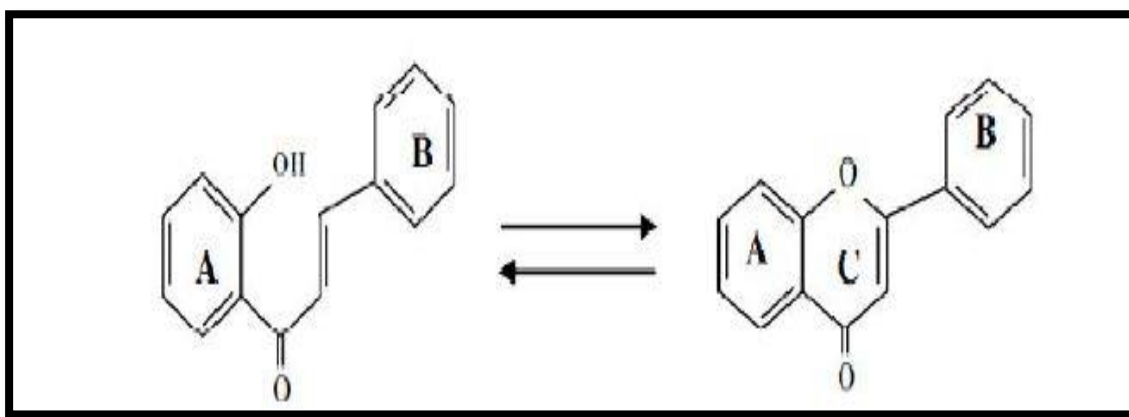


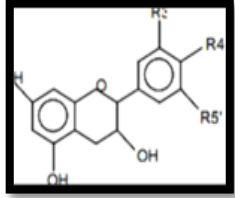
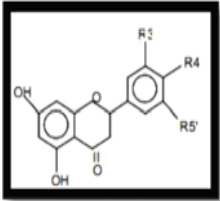
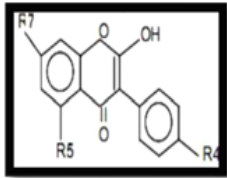
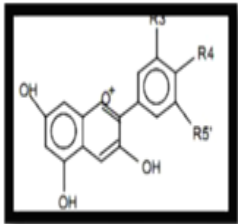
Figure 2: Structure de base d'un flavonoïde (**Missaoui, 2018**).

Des variations dans des modèles de substitution dans le cycle C a pour résultat les principales classes de flavonoides, c.à.d. les flavones, les flavonols, les flavanes, les flavanones, et les anthocyanidines, dans lesquelles : les flavones et les flavonols sont les plus répandues et structuralement diverses (**Tableau 2**). Des substituants des cycles A et B donnent naissance à des composés différents à l'intérieur de chaque classe de flavonoides. Ces substitutions peuvent impliquer l'oxygénation, l'alkylation, la glycosylation, l'acylation et la sulfatation (**Balasundram et al., 2006**).

- **Propriétés physico-chimiques des flavonoïdes**

Les hétérosides de flavonoïdes sont en général solubles dans l'eau et les alcools. Les génines sont pour la plupart, solubles dans les solvants organiques apolaires. L'extraction par macération est réalisée habituellement à l'aide du méthanol ou éthanol ou de mélanges méthanol-eau ou d'éthanol-eau parfois d'acétonitrile-eau. (**Sarni-Manchado et al., 2006**).

Tableau 2: présente quelques classes distinctes des flavonoïdes (**Bougandoura, 2011**).

Sous-Classe	Formule	Source	Propriétés
Flavanols		- Raisins - Thé - Cacao	-Antioxydants naturels - Anticancéreuses.
Flavanones		- Orange - Citron	- Neutralisation des radicaux libres - Le prévention des cancers de la peau.
Isoflavones		- Soja	-Phytoestragéniques -Source de phytoestragène
Anthocyane		- Myrtille - Aubergine - Prume.	-Antiseptiques urinaires -Présente comme des couleurs brillant dans les fruits et légumes.

- **Activités biologiques des flavonoïdes**

Comme cela a été démontré par de nombreux travaux, les flavonoïdes sont des molécules de défense contre les organismes pathogènes, leurs propriétés ont été exploitées pour leur un potentiel en thérapeutique contre les microorganismes. On leur reconnaît des activités antivirales, anti-tumorales, anti-inflammatoires, antiallergiques et anticancéreuses. Ils ont également des actions positives sur le diabète, les maladies d'Alzheimer et de Parkinson (**Saffidine, 2015**).

B. Lignanes

Sont un groupe de phytonutriments largement distribués dans le règne végétal (Imran *et al.*, 2015). Ce sont des composés dimères formés par le couplage de deux fragments (C6-C3) monomères dérivées de la voie des phénylpropanoïdes (Figure 3) (Gilani et Anderson, 2002).

Les lignanes phénoliques se trouvent dans la plupart des plantes riches en fibres, y compris les graines de citrouille, graines de sésame, les céréales, les fruits et les légumes (Imran *et al.*, 2015). En fonction de la structure, les lignanes peuvent être classés en cinq familles de composés : lignanes, néolignanes, sesquilignanes, dineolignanes, norlignans et des lignanes hybrides (Calvo-Flores *et al.*, 2015).

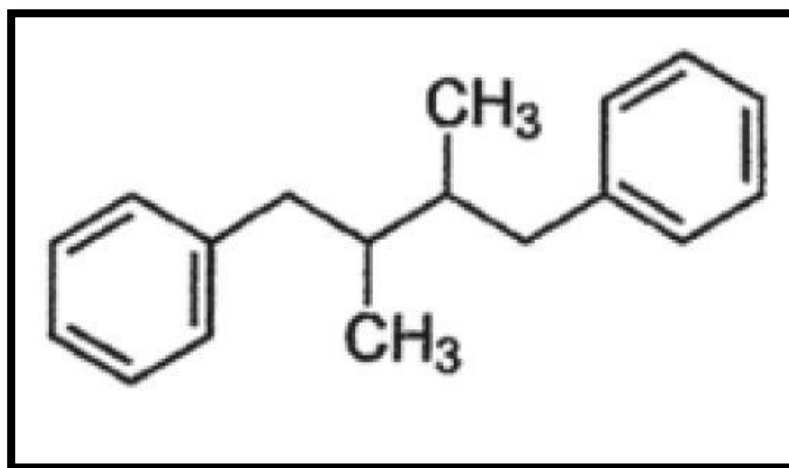


Figure 3: Structure de lignane (Jost et Jost-Tse, 2016).

C. Saponines

Les saponosides ou saponines sont un groupe de métabolites secondaires, abondamment trouvés dans certaines familles du règne végétal. Ils sont principalement produits par les plantes supérieures, mais aussi par des animaux marins inférieurs et quelques bactéries. Leur nom provient du latin *sapo* signifiant "savon" en raison de leurs propriétés à former des solutions moussantes en présence d'eau. Ce sont des hétérosides de poids moléculaire élevé qui se composent d'une partie lipophile, l'aglycone (ou génine) et d'une partie hydrophile osidique. Cette combinaison d'éléments structuraux polaires et non polaires en leurs molécules explique leur comportement moussant en solution aqueuse (Amira et Hiba, 2019).

Les saponines irritent les muqueuses, produisent un relâchement intestinal, accroissent les sécrétions muqueuses bronchiques (elles sont expectorantes) : fleur de molène, racine de réglisse et de saponaire. Elles sont employées comme diurétiques et désinfectantes des voies urinaires (pédoncule foliaire de l'herniaire, feuille du boulot, racine de la bugrane). La célèbre racine de ginseng (*Panax ginseng*), originaire de Chine, de Corée et des régions les plus orientales de l'ancienne Union soviétique, est également riche en saponines (**Blot et Bernard, 2012**).

D. Tannins

Cette classe désigne le nom général descriptif du groupe des substances phénoliques polymériques, ayant une masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 qui présente, à côté des réactions classiques des phénols, la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines (**Bouchouka, 2016**).

Les tanins sont présents dans une variété de plantes utilisées dans l'alimentation notamment les céréales et les légumineuses (haricot secs, petit pois) et les fruits comme orange, pêche, poire, kaki, fraise et les raisins (**Peronny, 2005**).

Sur le plan structural, les tanins sont divisés en deux groupes : les tanins hydrolysables et tanins condensés (**Figure 4**) (**Haslam, 1989 ; Clifford et Scalbert, 2000 ; Santos-buelga et Scalbert, 2000**).

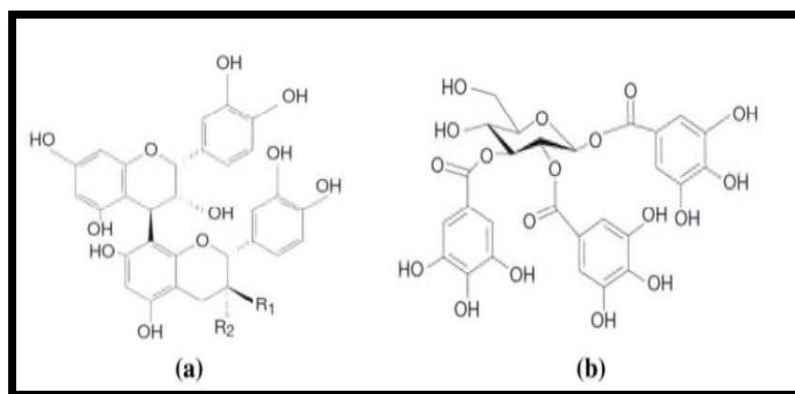


Figure 4 : Structures chimiques (a) d'un tanin condensé et (b) d'un tanin hydrolysables (**Favier, 2003**).

E. Stilbène

Les membres de cette famille possèdent la structure C6-C2-C6 comme les flavonoïdes, ce sont des phytoalexines, composés produits par les plantes en réponse à l'attaque par les microbes pathogènes fongiques, bactériens et viraux. Les sources principales des stilbènes sont les raisins, les vins, le soja et les arachides (**Figure 5**) (**Crozier et al., 2006**).

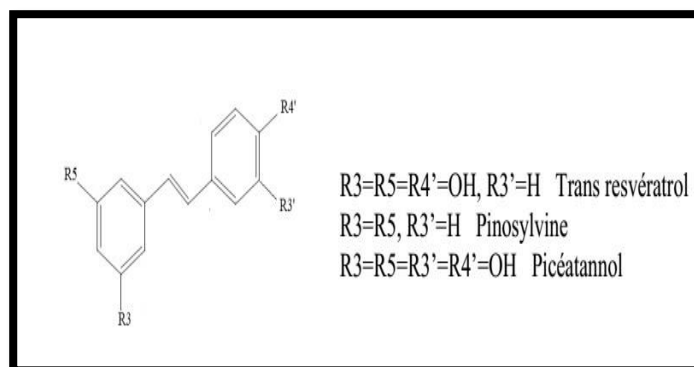


Figure 5: Structure des stilbènes (**Saffidine, 2015**).

F. Coumarines

Les coumarines constituent une classe importante de produits naturels, elles donnent une odeur caractéristique semblable à celle du foin fraîchement fauché (**Figure 6**). A l'exception des algues, ces composés sont les constituants caractéristiques du règne végétal chlorophyllien. Les familles les plus riches en coumarines sont : Légumineuse, Rutacées, Apiécées et Thymeleacées. Elles se trouvent dans toutes les parties de la plante et notamment dans les fruits et les huiles essentielles des graines (**Deina et al., 2003 ; Booth et al., 2004**).

Les coumarines ont des effets différents sur le développement des plantes suivant leur concentration et aussi selon l'espèce. Dans la cellule végétale elles sont principalement présentes sous forme glycosylée, Cette glycosylation est une forme de stockage permettant d'éviter les effets toxiques de ces molécules. Elles sont considérées comme des phytoalexines, c'est-à-dire de métabolites que la plante synthétise en grande quantité pour lutter contre une infection causée par des champignons ou par des bactéries. Les coumarines peuvent également se trouver dans le règne animal (les glandes à sécrétion odoriférante du castor) et chez certains microorganismes (**Hofmann, 2003**).

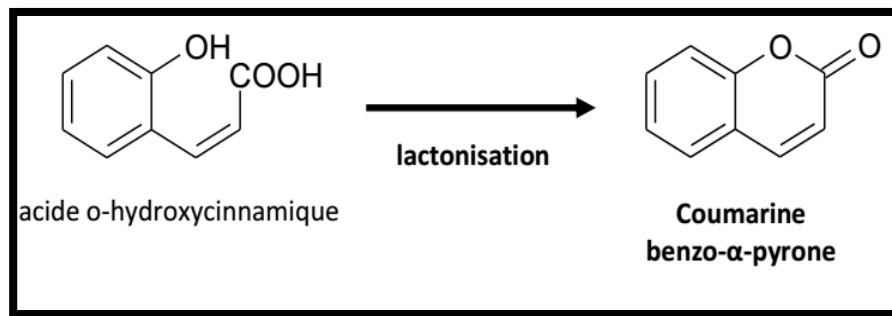


Figure 6: structure de base des coumarines (Macheix *et al*, 2005).

Les coumarines sont sous forme de cristaux orthorhombiques de couleur blanche ou jaunâtre. Elles sont assez solubles dans les alcools et les solvants organiques (dioxyde d'éthyle ou les solvants chlorés). Les coumarines hydroxylées (umbelliférones) possèdent une intense fluorescence bleue en lumière UV. Leur spectre UV est également caractéristique et sert à leur identification (Feryel, 2015).

I.1.2. Rôles des composés phénoliques

a. Rôle physiologique

Des travaux plus anciens ont montré que les phénols seraient associés à de nombreux processus physiologiques : croissance cellulaires, différenciation, organogenèse, dormance des bourgeons, floraison et tubérisation (Albert, 1998).

Les flavonoïdes sont des pigments responsables de la coloration des fleurs, des fruits et des feuilles. Ils sont universellement présents dans la cuticule foliaire et dans les cellules épidermiques de feuilles, ils sont susceptibles d'assurer la protection des tissus contre les effets nocifs des rayonnements UV. Ils sont impliqués dans la réaction de défense du palmier dattier contre le bayoud, maladie infectieuse due à un champignon telle que *Fusarium oxysporum* (Hadi, 2004)

b. Rôle technologique

Les polyphénols interviennent dans la qualité alimentaire des fruits. Les anthocyanes et certains flavonoïdes participent à la coloration des fruits murs, ils confèrent aux fruits et légumes leurs teinte rouge ou bleuté, ils sont aussi responsables des qualités sensorielles et alimentaires des aliments végétaux. L'astringence et l'amertume des nourritures et des boissons dépendent de leurs teneurs (Lugasi *et al*, 2003).

c. Rôle biologique**• Activité antioxydante**

Les polyphénols et, en particulier, les flavonoïdes sont de puissants inhibiteurs de l'oxydation. Le rôle protecteur de divers composés phénoliques vis-à-vis de la peroxydation lipidique a fait l'objet de nombreuses études (**Chan et al., 2014 ; Tátraaljai et al., 2014 ; Wu et al., 2015**). Les antioxydants naturels comme les composés phénoliques, et particulièrement les acides phénoliques et les flavonoïdes peuvent empêcher l'oxydation d'un autre substrat en s'oxydant plus rapidement que ce dernier. (**Guinebert et al., 2005**).

• Activité antimicrobienne

Les polyphénols sont doués d'activités antimicrobiennes importantes et diverses, probablement due à leurs diversités structurales. Les sites et le nombre des groupes hydroxyles sur les groupes phénoliques sont supposés être reliés à leur relative toxicité envers les microorganismes, avec l'évidence que le taux d'hydroxylation est directement proportionnel à la toxicité (**Cowan, 1999**). Il a été aussi rapporté que plus les composés phénoliques sont oxydés et plus ils sont inhibiteurs des microorganismes (**Scalbert, 1991**).

Les flavane-3-ols, les flavonols et les tannins ont reçu plus d'attention dû à leur large spectre et forte activité antimicrobienne par rapport aux autres polyphénols, à leur capacité de supprimer un nombre de facteurs de virulence microbienne telle que l'inhibition de la formation de biofilms, la réduction de l'adhésion aux ligands de l'hôte et la neutralisation des toxines bactériennes ainsi qu'à leur capacité d'établir une synergie avec certains antibiotiques (**Daglia, 2011**).

I.1.3. Biosynthèse des composés phénoliques**a. Voie de l'acide shikimique**

Les deux acides aminés aromatiques (phénylalanine et tyrosine) sont à l'origine de la formation de la plupart des molécules phénoliques chez les végétaux. Ils sont formés, à partir de sucres simples issus du métabolisme primaire, par la voie bien connue de l'acide

shikimique, conduisant à la formation de phénylalanine qui, par désamination, donne le pré-curseur immédiat des phénols, l'acide cinnamique. L'acide cinnamique est rapidement transformé en acide p-coumarique par l'addition d'un radical hydroxyle. La tyrosine est également désaminée en acide p-coumarique (**Chalal et al., 2012**).

b. Voie de l'acétate

C'est une voie à part de l'acétate qui conduit à des poly-cétoesters de longueur variable. Les polyacétates qui engendrent, par cyclisation, des composés souvent polycycliques : isocoumarines, xanthones, quinones etc. La pluralité structurale des composés phénolique est due à cette double origine biosynthétique est encore accrue par la possibilité très fréquente, d'une participation simultanée du shikimate et de l'acétate à l'élaboration de composés d'origine mixte (exemple : flavonoïdes) (**Boubekri, 2014**).

I.2. Terpenoides

Les terpènes sont des substances généralement lipophiles qui dérivent d'une entité simple à cinq atomes de carbone (**Figure 7**). Leur grande diversité trouve son origine dans le nombre d'unités de base qui composent la chaîne ainsi que dans les divers modes d'assemblage. La formation de structures cyclique, l'addition de fonctions comprenant de l'oxygène et la conjugaison avec des sucres ou d'autres molécules peuvent rendre leurs structures complexes (**Hopkins, 2003**).

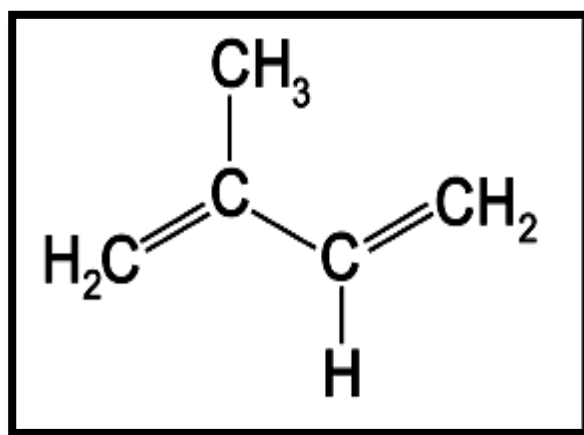


Figure 7: Structure de la molécule d'isoprène (**Calsamiglla et al., 2007**).

I.3. Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances naturelles et organiques provenant essentiellement des plantes et qui contiennent au moins un atome d'azote dans leur structure chimique, avec un degré variable de caractère basique. Depuis l'identification du premier alcaloïde en 1806, plus de dix mille alcaloïdes ont isolés des plantes (**Boutaghane, 2013**). Les alcaloïdes ayant des masses moléculaires très variables de 100 à 900 g/mol. La plupart des bases non oxygénées sont liquides à température ordinaire celles qui comportent dans leur formule de l'oxygène sont des solides cristallisables, rarement colorés (**Rakotonanahary, 2012**).

Les alcaloïdes peuvent se trouver dans toutes les parties de la plante, mais selon l'espèce de la plante, ils s'accumulent uniquement dans les écorces, dans les racines, dans les feuilles (**Mauro, 2006**).

La plupart des alcaloïdes sont dérivés d'acides aminés tels que le tryptophane, la lysine, la phénylalanine et la tyrosine. Ces acides aminés sont décarboxylés en amines et couplés à d'autres squelettes carbonés (**Figure 8**) (**Cyril, 2001**).

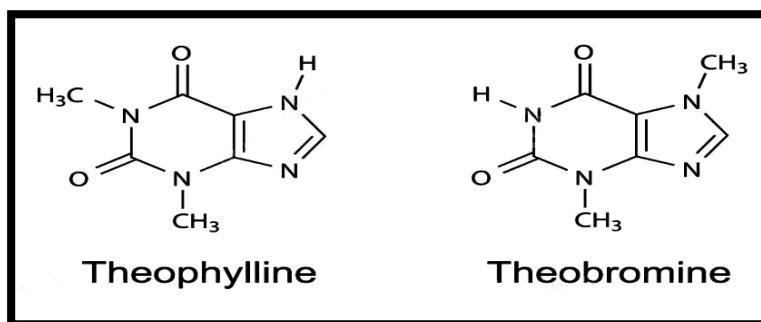
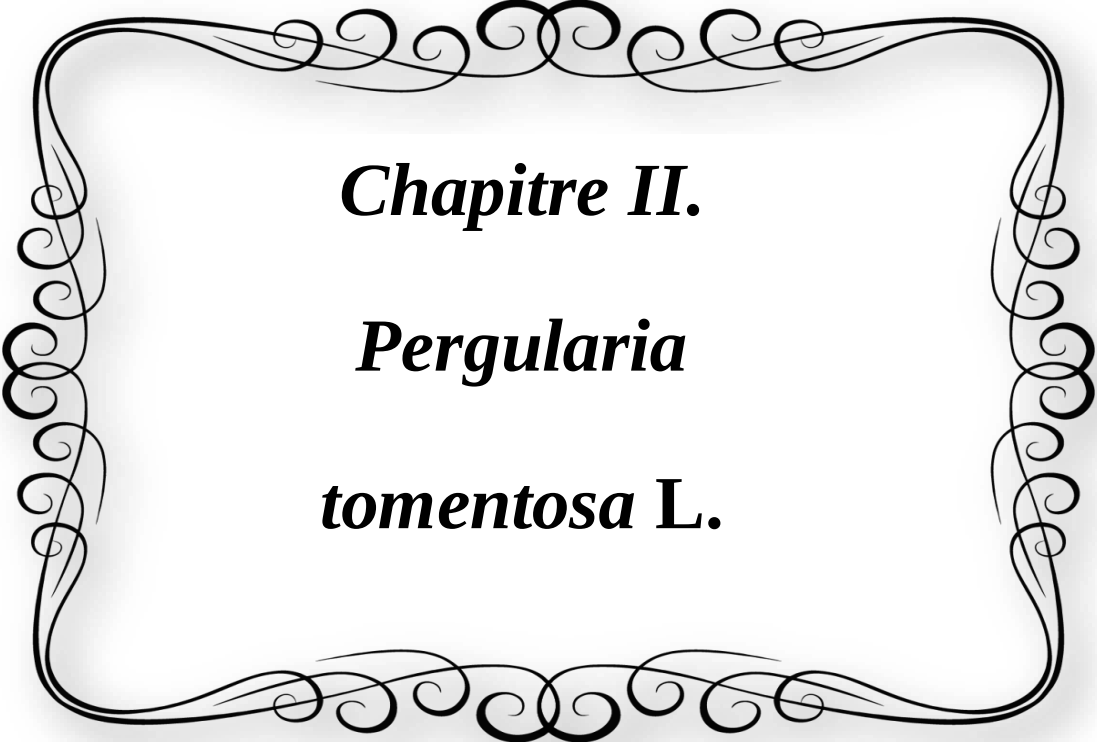


Figure 8: Structures chimiques de quelques alcaloïdes (**Bruneton, 2009**).

A decorative rectangular border with rounded corners, featuring intricate black scrollwork and floral patterns. The border is composed of repeating swirls and leaf-like motifs that frame the central text.

Chapitre II.

Pergularia

tomentosa L.

II.1. Présentation de famille des Asclépiadacées

Importante famille tropicale, qui est peu représentée au Sahara septentrional mais compte déjà une dizaine d'espèces dans le Sahara central. Ce sont des plantes vivaces, de port très variable, à feuilles simples généralement opposées, parfois par trois, à tissu sécrétant un latex ; les fleurs sont régulières de type 5 mais présentent des particularités de structure curieuses. Les filets des étamines portent du côté externe des appendices de forme variée, le plus souvent en languette, dont l'ensemble est appelée *couronne*, les étamines elles-mêmes sont soudées en partie à la région stigmatique de l'ovaire et l'ensemble forme un organe spécial appelé *gynostège*. Le pollen n'est pas pulvérulent mais aggloméré sous forme de masses correspondant chacune au contenu d'une loge d'anthère et que l'on appelle *pollinies* ; il est transporté par les insectes grâce à des dispositifs spéciaux. L'ensemble de ces caractères rappelle beaucoup ce que l'on observe chez les Orchidées. Le pistil comprend deux carpelles qui sont libres ou presque libres dans leur partie ovarienne et soudés entre eux au niveau du style et du *gynostège*; ce dernier se termine par un plateau pentagonal situé au centre même de la fleur. Au cours de la maturation, les carpelles se séparent complètement et le fruit comprend un ou deux follicules, suivant que les deux carpelles se développent ou que l'un des deux avorte ; les graines sont nombreuses et généralement pourvues d'une aigrette de poils (Bouhamdi, 2012).

La famille des asclépiades, Asclepiadeceae, comprend 200 genres et 2500 espèces d'arbustes et d'herbes vivaces répartis dans les régions tropicales et les régions tempérées du monde, principalement dans la région du Sahara. *P. tomentosa* fait partie de la famille des Asclepiadeceae. Il est couramment utilisé dans la médecine traditionnelle à de nombreuses fins (Al-mekhlafi et Masoud, 2017).

II.2. Généralité sur *Pergularia tomentosa* L.

II.2.1. Position systématique de *Pergularia tomentosa*

Règne	:	Plante
Embranchement	:	Spermaphytes
Classe	:	Dicotylédones
Sous Classe	:	Rosidae
Ordre	:	Gentianales

Famille	:	Asclepiadeceae
Genre	:	<i>Pergularia</i>
Espèce	:	<i>Pergularia tomentosa</i> L. (Dahane et Rouissat, 2017)

II.2.2. Description botanique de *Pergularia tomentosa*

C'est une plante herbacée ou semi-ligneuse, arbrisseau vivace pouvant dépasser 1m de hauteur. Les jeunes rameaux volubiles s'enroulent fréquemment autour des plus anciens lui donnant un aspect touffu, contenant :

- **Un latex** : blanc, corrosif qui peut endommager la peau.
- **La tige** : couverte de courts poils verdâtres, grimpante ou volubile, tomenteuse à l'état jeune ;
- **Les feuilles** : Opposées, vert amande, ovales ou arrondies, en cœur à la base, caractérisée par l'absence des stipules et pétiole de 0,5 à 1,5cm de long ;
- **L'inflorescence** : En grappes abondantes au bout de longs pédoncules ;
- **Les fruits** : Composés de deux follicules, portent de petites pointes ;
- **Les fleurs** : bisexuées, régulières, parfumées ; 5-mères. Sépales et pétales plus ou moins soudés à la base. Corolle rotacée ou campanulacée, doublée d'une paracorolle à 5 pièces, en général d'origine staminale. Etamines 5 à anthères sessiles, en général adhérentes au stigmate, souvent déhiscentes en pollinies.
- **Les graines** : ovoïdes, aplaties, de 7-9 mm environ 6 mm, bords pales, à poils courts denses, munies d'une touffe de poils à une extrémité, d'environ 3 cm de long
- **Période de végétation** : Floraison en printemps (**Figure 9**) (Almi, 2016).



Figure 9: Fleurs, feuilles et fruits de *Pergularia tomentosa* L. (Al-mekhlafi et Masoud, 2017).

II.2.3. Appellation

Pergularia vient du latin "Pergula" qui signifie « vigne » en raison de la capacité de la plante à s'accrocher. *Tomentosa* signifie poilu : la plante est couverte de petits poils qui lui donnent sa couleur verdâtre. *Pergularia tomentosa* L. (**Figure 10**). Cette espèce est également connue sous une dénomination synonyme : *Daemia cordata*.

Tomentosa signifie poilu : la plante est couverte de petits poils qui lui donnent sa couleur verdâtre, et possède de nombreux noms folkloriques :

Arabe : ghoulga, demya, leben el hamir et tellakh

Targui : tashkat, dellakal, tellakh, sellaha

Français : Pergulaire

Anglais : *Pergularia* (Rebouh et Belkirat, 2016 ; Lahmar et al., 2017).

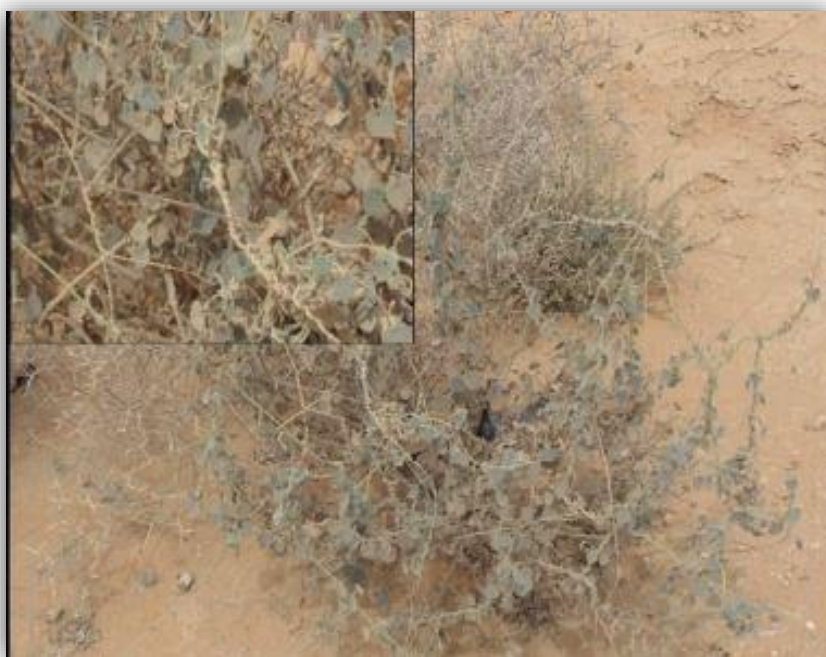


Figure 10: *Pergularia tomentosa* L. (Alghanem et El-Amier, 2017).

II.2.4. Distribution géographique

Pergularia tomentosa est une plante vivace des pays secs. Elle pousse sur les sols généralement sableux et couvre de vastes régions allant du sud Algérien jusqu'en Afrique du nord. Sa présence est relevée dans quatre compartiments phytogéographiques qui vont du climat sud-sahélien au climat nord-sahélien. Elle fleurit en saison sèche, sa souche vivace pousse en saison des pluies et donne une plante feuillue. (Bouhamdi, 2012).

II.2.5. Utilisation populaire

Cette plante est employée dans les remèdes traditionnels en tant qu'un antirhumatismal, laxatif, abortif et traitement des certaines maladies de peau, asthme et bronchite. Cette plante également utilisée pour le traitement des frissons, des helminthiases, des allergies et de la constipation. Dans certains cas, on a signalé que le *Pergularia tomentosa* a été employé pour l'enlèvement de laine de la peau de certains animaux en particulier mouton (Hosseini et al., 2017).

En Algérie les feuilles et les fleurs sont utilisées comme traitement des angines, teigne, dermatose et hypoglycémiant (Ould El Hadj et al., 2003).

II.2.6. Usage Médicinal

Les parties les plus utilisables sont : Le latex, les feuilles et les racines qui sont généralement recueillies dans le printemps, sont préparés comme une infusion, décoction, poudre et mélangé avec d'autres plantes, et pris par voie orale ou utilisé à l'extérieur (Almekhlafi et Masoud, 2017).

- Cette plante est utilisée pour le tannage, écrasée et étalée sur la peau. Elle fait tomber les poils rapidement. A cet effet on pile la plante et on étend la pâte ainsi obtenue sur la peau : après quelques heures de contact un simple grattage fait tomber très facilement les poils.
- En application, le lait contenu dans la plante fait sortir les épines de la peau.
- Cette plante est peu consommée à l'état vert parce qu'elle entraîne des intoxications.
- L'augmentation de potassium alimentaire diminue la pression artérielle chez l'homme et réduit le risque d'accident vasculaire cérébral. Ainsi, le maintien d'un apport élevé en potassium peut être atteint en consommant les tiges et les racines de *P. tomentosa* (Hassan *et al.*, 2007).

II.2.7. Les travaux antérieurs

II.2.7.1. Composition biochimique du *Pergularia tomentosa*

Les études phytochimiques menées sur le *Pergularia tomentosa* montrent la présence de métabolites primaires et secondaires.

a. Métabolites primaires

Sont directement impliqués dans les processus indispensables au développement normal et à la reproduction de la cellule de l'organisme : les glucides, les lipides, les protéines (Tableau 3) (Rebouh et Belkirat, 2016).

Tableau 3: Composition en métabolites primaires des différentes parties de *Pergularia tomentosa* (Hassan *et al.*, 2007)

Organe végétal	Lipides (%)	Protéines (%)	Glucides (%)
Feuilles	6,83 ± 0,76	6,39 ± 0,17	53,27 ± 1,75
Tiges	2,17 ± 0,76	4,74 ± 0,14	56,92 ± 1,27
Racines	2,67 ± 0,29	3,35 ± 0,48	61,31 ± 2,84

b. Métabolites secondaires

Pergularia tomentosa est connu par son contenu en molécules biologiquement actives tels que les polyphénols : flavonoïdes, tanins, glycosides cardiaques, les glycosides cyanogènes, des saponines (Tableau 4) (Hassan *et al.*, 2007).

Tableau 4: composition en métabolites secondaires des différents organes de *P. tomentosa*. (Rebouh et Belkirat, 2016).

Organe végétale	Métabolites secondaires
Feuilles	Alcaloïdes, glycosides cardiaques et glycosides cyanogènes.
Tiges	Saponines, flavonoïdes, tanins et glycosides cyanogènes.
Racines	Glycosides cardiaques, saponines et tanins.

c. Composition minérale de *Pergularia tomentosa*

La composition minérale de la plante montre une grande quantité de phosphore et de potassium dans les racines et les tiges. Des teneurs importantes de sodium, de magnésium et de calcium sont relevées dans les extraits des feuilles. Le magnésium est un micronutriment antioxydant et sa présence peut stimuler le système immunitaire et aider à éliminer les carences en Mg qui pourraient entraîner de graves troubles métaboliques.

Cependant, il convient de noter que calcium en conjonction avec magnésium, chlore et les protéines sont impliqués dans la formation de l'os (Tableau 5) (Hassan *et al.*, 2007).

Tableau 5 : Composition minérale de *Pergularia tomentosa* (Hassan *et al.*, 2007).

Organe Végétal	Phosphore	Potassium	Sodium	Magnésium	Calcium
Feuilles	1,85 ± 0,05	2,97 ± 0,210	4,13 ± 0,31	0,32 ± 0,06	0,25 ± 0,010
Racines	7,07 ± 0,06	215,0 ± 10,00	2,03 ± 0,15	0,15 ± 0,030	0,16 ± 0,01
Tiges	8,13 ± 0,06	167,30 ± 5,03	2,33 ± 0,15	0,25 ± 0,008	0,08 ± 0,003
Fruits	/	384,8	56,2	77,29 ppm	477,6 ppm

II.2.7.2. Activités pharmacologiques de *Pergularia tomentosa*

a. Activité anti oxydante

Les magnésiums sont des micronutriments antioxydants et leur présence pourrait donc stimuler le système immunitaire, et aider à éliminer les carences en magnésium qui pourraient conduire à de graves troubles métaboliques et de compromettre la santé de l'organisme (**Bouhamdi, 2012**).

b. Anti tumorale

Les effets inhibiteurs de ghalakinoside sur les taux d'acide urique, Ca^{2+} , GGT, ALP et la LDH sont en faveur de son potentiel anti-tumoral (**Al-Said et al., 1989**). Des glycosides cardénolides isolée des racines de *P. tomentosa* ont été testés dans un essai *in vitro* d'inhibition de la croissance de souches cancéreuses. Cela comprenait six différentes lignées cellulaires humaines de cancer, et pour leur capacité à inhiber la Na^+ / K^+ activité ATPase, en plus des modifications morphologiques induites dans des lignées cellulaires de cancer humain (**Piacente et al., 2009**).

c. Antidermatophytique

La présence des tanins, flavonoïdes, alcaloïdes, saponines, glycosides, saponinglycosides, cardiacglycosides, anthraquinones et stéroïdes dans composition de *P. tomentosa* peut être responsable de l'activité antidermatophytique présentées par les plantes contre la plupart des dermatophytes testés (**Shinkafi, 2013**).

d. Activité antimicrobienne

Les extraits aqueux et à plusieurs solvants organiques des feuilles, des tiges et des racines ont montré une activité antifongique contre une série de champignons pathogènes, tout comme une activité protectrice des organes chez le crapaud *Bufo regularis* infecté par *Aspergillus niger*. Des effets bactéricides et moluscicides ont également été répertoriés. Les extraits méthanoliques des parties aériennes, de même que les isolats de coroglaucigénine, de 16 α - acétoxycalotropine et de calactine, ont eu une activité de dissuasif alimentaire sur lalégionnaire *Spodopteralitoralis* (**Bekheet et al., 2011**).

e. Molluscicide

L'activité molluscicide de deux cardénolides extraite à partir de *Pergularia tomentosa*, a été évaluée par rapport à l'escargot terrestre *Monacha obstructa* (Férussac), ces résultats expliquent l'utilisations possibles de cette plante contenant des cardénolides, comme molluscicide (**Hussein et al., 1999**).

f. Larvicide

Les alcaloïdes (extraits de la partie aérienne) ont un effet larvicide considérable avec un taux de mortalité dépendant de la dose. D'autre part, ils sont également décrits comme antifeeding, causant la perte de poids des larves avec une réduction de la teneur en protéines et en glucides. Ces résultats indiquent que *P. tomentosa* peut être un agent prometteur naturel pour le contrôle des larves de criquets (**Rebouh et Belkirat, 2016**).

g. Toxicité

L'extrait de cette plante a révélé des propriétés pharmacologiques et activités biologiques. Lorsque l'extrait testé pour toxicité, le composé ghalakinoside a montré la toxicité la plus élevée suivie de la calactine, la médiane de les doses létales étaient respectivement de 4,6 mg / kg et 5 mg / kg .(**Hifnawy MS et al ,2014**)

Un hétéroside du type pergularine a eu un effet similaire sur le tissu musculaire, mais a augmenté la contraction cardiaque (**Neuzinger, 1996**).

Pergularia tomentosa est considérée comme une plante toxique réputée nocive pour la grossesse (**Hammiche et al., 2013**).

Partie 02 :
expérimentales

Chapitre I.
Matériel et
méthodes

Notre travail a porté sur l'étude phytochimique de partie sous terrainne de *Pergularia tomentosa* L., et l'évaluation de leurs activités antioxydante et antibactériennes. Cette étude a été réalisée au niveau du laboratoire de toxicologie, Département de biologie cellulaire et moléculaire, Faculté des sciences de la nature et de la vie, université El-Oued.

I.1. Matériel

I.1.1. Matériel biologique

I.1.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal, exploité dans cette étude, est constitué de racines de *Pergularia tomentosa* L. (**Figure 11**), qui ont été récoltées au mois d'Avril 2017 dans la région de Méguibra à El-oued (sud-est d'Algérie). La reconnaissance botanique de la plante a été faite par Monsieur Eddoud Amar du département des sciences biologiques de l'université Kasdi Merbah de Ouargla.

Les racines sont nettoyées, séchées à l'air libre, à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 20 jours, puis broyées à l'aide d'un broyeur électrique et conservées à sec dans des boîtes en verre, à température ambiante et à l'abri de la lumière.



Figure 11 : Poudre des racines de *Pergularia tomentosa* L.

I.1.1.2. Microorganismes testées

Les souches microbiennes utilisées dans cette recherche pour l'activité antimicrobienne sont des souches référencées, Ces souches obtenues de l'Institut de Pasteur en Algérie pour les bactéries, et les souches fongiques provenant du laboratoire des Produits Bioactifs et la Valorisation de la Biomasse de l'ENS Alger. Sont conservées dans le réfrigérateur dans des tubes à visser contenant milieu nutritive jusqu'à l'utilisation (**Tableau 6**).

Tableau 6 : Les souches microbiennes testées

<i>Souches</i>			<i>Caractéristiques</i>
Bactéries	Gram Négatif	<i>Escherichia coli</i> ATCC 8737	Une bactérie caractérisée par une sporulation non facultative anaérobie, elle est pathogène pour l'homme car responsables d'affections variées allant d'une simple diarrhée à des infections systémiques parfois mortelles (Dunière et al., 2012).
		<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	Bacille à Gram négatif, anaérobie facultatif, habituellement mobiles grâce à une ciliature péritriche, mais des mutants immobiles peuvent exister (Bourgeois et Mescle, 1996). Les Salmonelles sont en général considérées comme pathogènes bien que leur virulence et leur pouvoir pathogène varient énormément (Rodier, 2009).
	Gram positif	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	Cocci à Gram positif, immobiles et disposées en amas, responsables d'infections graves communautaires et nosocomiales, d'infections des plaies et infection pulmonaires (Berregioua, 2016).

		<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	Largement présente dans la nature, elle fait également partie de la flore intestinale microbienne, et peut être utilisé sans aucun problème dans les laboratoires d'analyse (Danja, 2016).
Champignon	/	<i>Aspergillus carbonarius</i> M 333	Il possède un thalle à mycélium cloisonné portant de nombreux conidiphores dressés, non ramifiés, terminés en vésicule. Les conidies sont de couleur noire et présentent une forme verruqueuse de diamètre 7-9 µm. <i>A. carbonarius</i> présente de sclérotas de couleur jaune grisâtre. (Atoui, 2006)
		<i>Aspergillus parasiticus</i> CBS 100926	L'espèce est en commun une croissance rapide aux deux températures 25 et 37°C, et la couleur de leurs conidies est vert-jaune clair (Nguyen, 2007). <i>Aspergillus parasiticus</i> se caractérise par un thalle vert jaune sombre, colonies au revers incolore à beige clair. Le conidiophore de taille de 250-500 µm de couleur marron pâle à paroi échinulée. (Pitt et Hocking, 1997).

I.1.2. Matériels non biologiques

L'ensemble de matériel non biologique utilisé pour réaliser cette étude est résumé dans le tableau (7) suivant :

Tableau 7 : Liste des matériels non biologiques utilisé pendant le travail.

Appareils	Réactifs et produits chimiques
Bain Marie,	Ethanol absolu,
Agitateur magnétique,	Méthanol,
Rota-vapeur,	Acide gallique,
Hotte chimique,	Quercétine,
Etuve,	Réactif de Folin-Ciocalteu,
Autoclave,	Réactifs de Dragendorff et de Mayer,
Spectrophotomètre.	Milieu Muller-Hinton,
	Acide chlorhydrique concentré,
	Milieu Gélose sabouroud,
	Solution aqueuse de (FeCl ₃),
	Liqueur Fehling,
	Tournures de magnésium,
	Trichlorure d'aluminium (AlCl ₃) 2%,
	L'eau physiologique,
	Diméthyle sulfoxyde (DMSO),
	2,2-diphényle-1-picryl hydrazyl (DPPH),
	Acide ascorbique (Vitamine C).

I.1.3. Milieux de culture

On utilise gélose Mueller Hinton (milieux de culture pour les bactéries), Sabouraud (milieux de culture pour la levure) pour l'étude de la sensibilité des souches bactériennes à différentes concentrations d'extrait éthanolique.

I.2. Méthodes

Les différentes étapes réalisées pendant notre travail sont résumées dans le diagramme suivant (Figure 12).

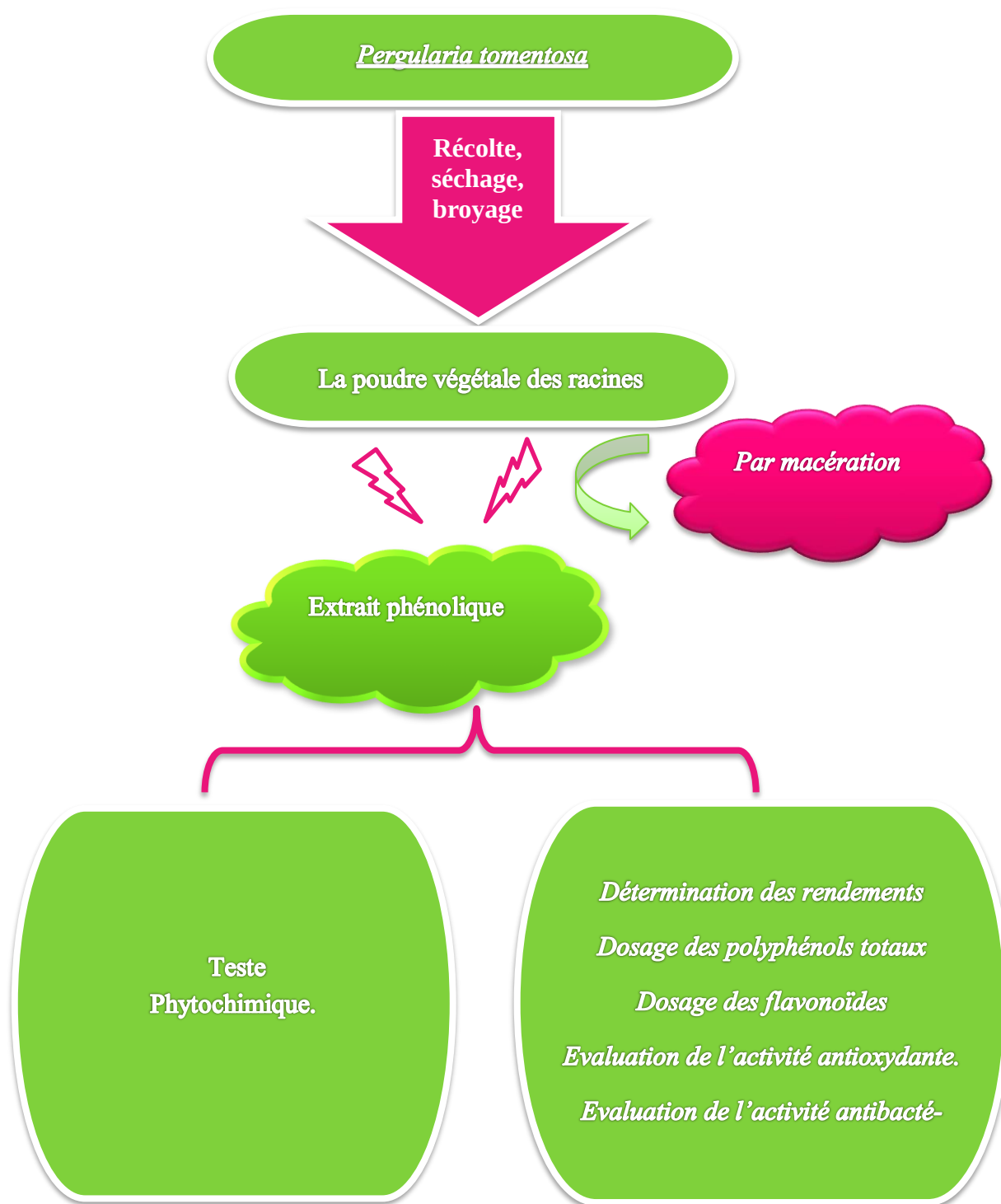


Figure 12 : Schéma général des différentes étapes du travail.

I.2.1. Extraction des composés phénoliques

La macération (extraction solide-liquide) est une opération qui consiste à laisser séjourner la matière végétale (broyat) dans le méthanol aqueux pour extraire les principes actifs (composés phénoliques et flavonoïdes). Cette méthode d'extraction a été effectuée selon le protocole décrit par **Vuorela, (2005)** avec quelques modifications au niveau de l'étape dilapidation.

Les racines séchées et broyées (30 g) sont soumises à une extraction par macérations successives utilisant (300 ml) de solution hydro-alcoolique (éthanol-eau : 80/20). Les racines sont macérées pendant 24 heures sous agitation magnétique, à la température ambiante du laboratoire (environ 20 °C) et à l'abri de la lumière. L'extraction est répétée trois fois pour chaque plante. Après chaque macération, l'ensemble est filtré sur du papier filtre afin de séparer le marc du filtrat.

Les filtrats sont évaporés grâce à un évaporateur rotatif pour obtenir des extraits secs (Figure 13).

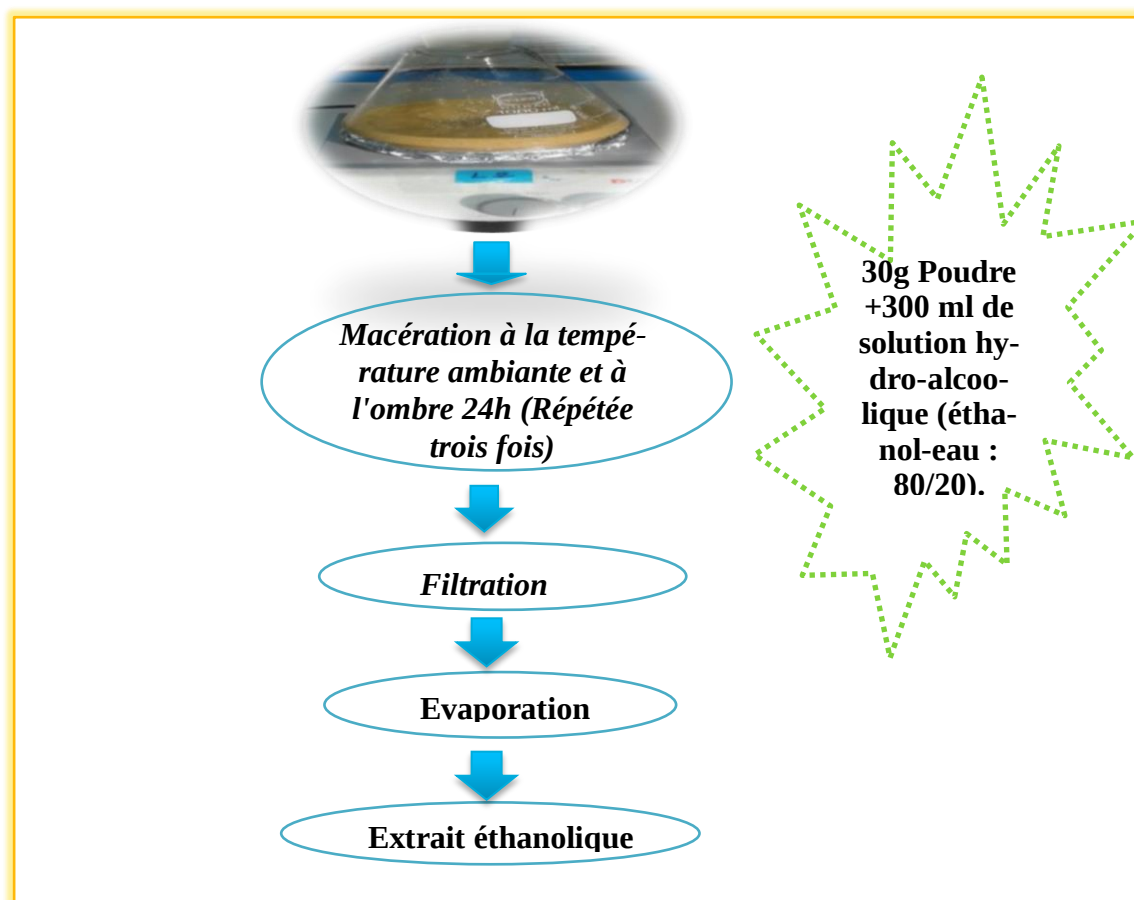


Figure 13 : Protocole d'extraction des composés phénolique

Nous pouvons déterminer le rendement des extraits secs des racines de *Pergularia tomentosa* en calculant le rapport suivant :

$$\text{Rendement (\%)} = ((P1-P2) / P3) 100$$

- ❖ P1 : poids du ballon après évaporation ;
- ❖ P2 : poids du ballon (vide) avant évaporation ;
- ❖ P3 : poids de la matière végétale.

I.2.2. Analyse qualitative

Cette étude permet de mettre en évidence la présence de quelques groupes chimiques (les alcaloïdes, flavonoïdes...etc.) dans notre plante. Le matériel végétal pulvérisé est épuisé successivement par macération. Les tests phytochimiques pour polyphénols les tanins, les alcaloïdes, les flavonoïdes, les saponosides, et sucres réducteurs.

I.2.2.1. Polyphénols

Dans un tube à essai, on ajoute l'extrait avec et 2 ml d'une solution aqueuse de (FeCl₃) à 2% La présence des phénols indiqué par une coloration noire (**Zerargui, 2015**).

I.2.2.2. Tanins

Dans un tube à essai, introduire 5ml d'extrait à analyser et ajouter 1ml d'une solution aqueuse de FeCl₃ à 2%, la présence des tanins est indiquée par une coloration verdâtre ou bleu (**Deramchi, 2015**).

I.2.2.3. Alcaloïdes

Dans deux tubes à essai, introduire 1ml de l'extrait à analyser. Acidifier le milieu par quelques gouttes de HCl et ajouter quelques gouttes de réactif de Mayer dans le premier tube et quelques gouttes de réactif de Wagner dans le second tube. L'apparition d'un précipité blanc ou brun, respectivement révèle la présence d'alcaloïdes (**Paris et Moyse., 1969**).

I.2.2.4. Flavonoïdes

1ml de l'extrait a été traité par quelques gouttes d'acide chlorhydrique concentré HCl et quelques tournures de magnésium, l'apparition d'une coloration rouge, orange ou jaune indique la présence des flavonoïdes (**Zerriouh, 2015**).

I.2.2.5. Saponosides

Dans un tube à essai, introduire 2ml de l'extrait à analyser, ajouter 2ml d'eau distillée

chaude, agiter pendant 15 secondes et laisser le mélange au repos pendant 15min. Une hauteur supérieure à 1 cm d'une mousse indique la présence de saponines (**Yadav et Agarwala, 2011**).

I.2.2.6. Sucres réducteurs

On ajoute 1 ml de liqueur Fehling à 5 ml d'extrait, puis on chauffe les tubes contenant les mélanges au bain marie à 40°C. Un test positif est indiqué par l'apparition d'une couleur rouge brique (**Mechernene, 2014**).

I.2.3. Analyse quantitative

I.2.3.1. Dosage de polyphénols totaux

La concentration en polyphénols a été déterminée par spectrophotométrie selon la méthode de Folin-Ciocalteu (**Singleton et al., 1974**). Ce réactif de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phospho-tungstique et d'acide phosphomolybdique. Lorsque les poly-phénols sont oxydés, ils réduisent le réactif de Folin-Ciocalteu en un complexe ayant une couleur bleue constitué d'oxyde de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés (**Boizot et Charpentier, 2006**).

On met 100 µl d'extrait ou de l'acide gallique sont mélangés avec 500 µl du réactif Folin-Ciocalteu et 400 µl de Na₂CO₃ à 7,5 % (m/v). Le mélange est agité et incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant dix minutes et l'absorbance est mesurée à 760 nm par un spectrophotomètre UV (Perkin Elmer). Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g E). En utilisant la courbe d'étalonnage de l'acide gallique comme référence.

I.2.3.2. Dosage de flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes contenus dans les extraits de *Pergularia tomentosa* a été effectué par une méthode basée sur la formation de complexe entre les composés phénoliques et le trichlorure d'aluminium AlCl₃ (méthode colorimétrique) (**Bahorun et al., 1996**). Les complexes produits sont de couleur jaune absorbent dans le visible à 430 nm. Le flavonoïde utilisé comme référence dans cette méthode est la quercétine.

On met 1 ml d'extrait ou de quercétine, avec 1 ml d'AlCl₃ à 2%, puis le mélange est vigoureusement agité, l'ensemble est incubé à l'ombre à la température ambiante pendant 10 minutes, l'absorbance est lue à 430 nm. La quantification des flavonoïdes se fait en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisée par un flavonoïde standard quercétine (0- 0,05

mg/ml), et sont exprimées en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g E).

I.2.4. Activités biologiques

La présente étude, s'intéresse particulièrement à l'activité antioxydante et antibactérienne d'extrait de racines de *Pergularia tomentosa*.

I.2.4.1. Activité antioxydante (test DPPH)

Afin d'étudier l'activité anti radicalaire de notre extrait, nous avons utilisé la méthode basée sur le DPPH (diphénylpicrylhydrazyl) comme un radical relativement stable, selon le protocole décrit par **Bouhamdi, (2012)**. Le DPPH est caractérisé par une couleur violette dont l'intensité est mesurée à 517 nm. En présence d'un donneur d'hydrogène. Le DPPH est réduit à la forme non radicalaire de couleur jaune pâle (forme d'hydrazine) (**Figure 14**).

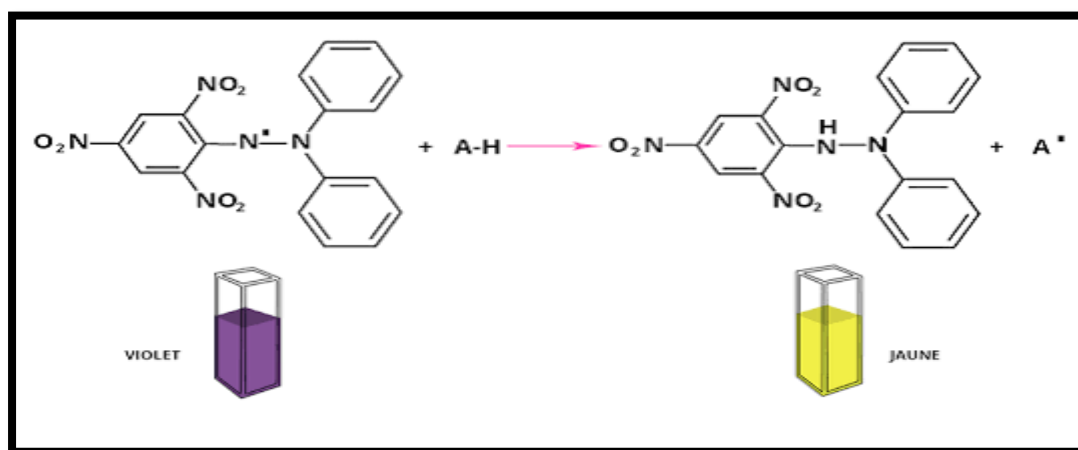


Figure 14 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH• (**Fettah, 2019**)

a. Préparation de dilutions d'extrait

Des dilutions dans méthanol va préparer à partir de l'extrait brute (solution mère 10 mg/ml) pour différentes concentrations de 8mg/ml, 6 mg/ml, 4 mg/ml, 2 mg/ml, 1mg/ml.

b. Mode opératoire

- Nous avons préparé une solution de DPPH (0,024 mg/ml) par solubilisation de 2.4 mg de DPPH dans 100ml de méthanol.
- Les tubes de dosages contiennent 50µl de différentes concentrations de l'extrait ou de l'acide ascorbique et 1,950 ml de solution de DPPH.
- Les tubes control contiennent à la place de l'extrait 50µl de méthanol et 1,950

ml de la solution éthanolique du DPPH fraîchement préparée.

- Le mélange est laissé à l'obscurité à la température ambiante pendant 30 minutes et mesurée à 517 nm.

c. Expression des résultats

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

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

L'étude de la variation de l'activité antiradicalaire en fonction de la concentration des extraits, permet de déterminer la concentration qui correspond à 50% d'inhibition (IC50), une faible valeur de la IC50 correspondant à une grande efficacité de l'extrait.

Le calcul des IC50 a été réalisé graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés ; pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées. La valeur de la IC50 est exprimée en mg/ml (3 répétitions pour chaque concentration).

I.2.4.2. Activité antimicrobienne

Evaluation l'activité antimicrobienne de différents concentration (20 mg/ml ; 10 mg/ml ; 5 mg/ml et 1 mg/ml) d'extrait éthanolique selon la méthode de diffusion en milieu gélosé (antibiogramme) (Treki *et al.*, 2009 ; Bssaibis *et al.*, 2009). Cette technique repose sur l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque contenant l'extrait de la plante dans le milieu de culture de 4 souches bactérienne et deux souches fongiques : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus subtilis*, *Aspergillus carbonarius* et *Aspergillus parasiticus*.

a. Préparation des dilutions des extraits (concentration)

Différentes concentrations (20mg/ml ; 10mg/ml ; 5mg/ml et 1 mg/ml) d'extrait éthanolique de *Pergularia tomentosa* ont été préparé par DMSO (Meddour *et al.*, 2013).

b. Préparation des disques

Les disques sont préparés à partir de papier d'wattman N°3, avec un diamètre de 6 mm. Ensuite ils sont mis dans un tube à essai, et stérilisés à l'autoclave et conservés jusqu'à l'utilisation. (Hadji *et Tarfaya*, 2019)

c. Préparation le milieu de la culture

On met la stérilisation et la surfusion de milieu de culture (Muller Hinton pour les bactéries et Sabouraud pour les champignons) à l'aide d'autoclave pendant 15 min à 121°C, puis on le verser dans les boites de Pétri à 4 mm de hauteur et on laisse quelques minutes jusqu'à la solidification (**Harrar, 2012**).

d. Inoculum

- ✓ A partir d'une culture pure des bactéries ou des champignons à tester sur milieu d'isolement, racler par une anse de platine, quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- ✓ Décharger l'anse dans 5 ml d'eau physiologique stérile à 0.9 %, bien homogénéiser la suspension bactérienne.
- ✓ L'ensemencement doit se faire en moins en quelques min après la préparation de l'inoculum (**Amatiste et al., 2014**).

e. Ensemencement

- ✓ La culture se fait dans un milieu stérile en présence de bec benzène ;
- ✓ Tremper un écouvillon stérile dans la suspension microbienne (il évite la contamination du manipulateur et de la paillasse) ;
- ✓ L'essorer en le pressant fermement, en tournant sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum ;
- ✓ Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas ;
- ✓ Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de Pétri de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose ;
- ✓ Les disques sont disposés sur la surface de la gélose à l'aide d'une pince stérilisée au bec benzène
- ✓ Pour contrôle négatif on met une boîte de pétri 6 disques (3 disques de DMSO) (**Meddour et al., 2013**).

f. Incubation et lecture

Après incubation 18-24 heures à 37°C pour les bactéries et 72 h à 37°C pour les souches fongiques, dans l'étuve, Les résultats sont observés, en mesurant les diamètres d'inhibition en mm (**Figure 15**) (**Boudjouref, 2011**).

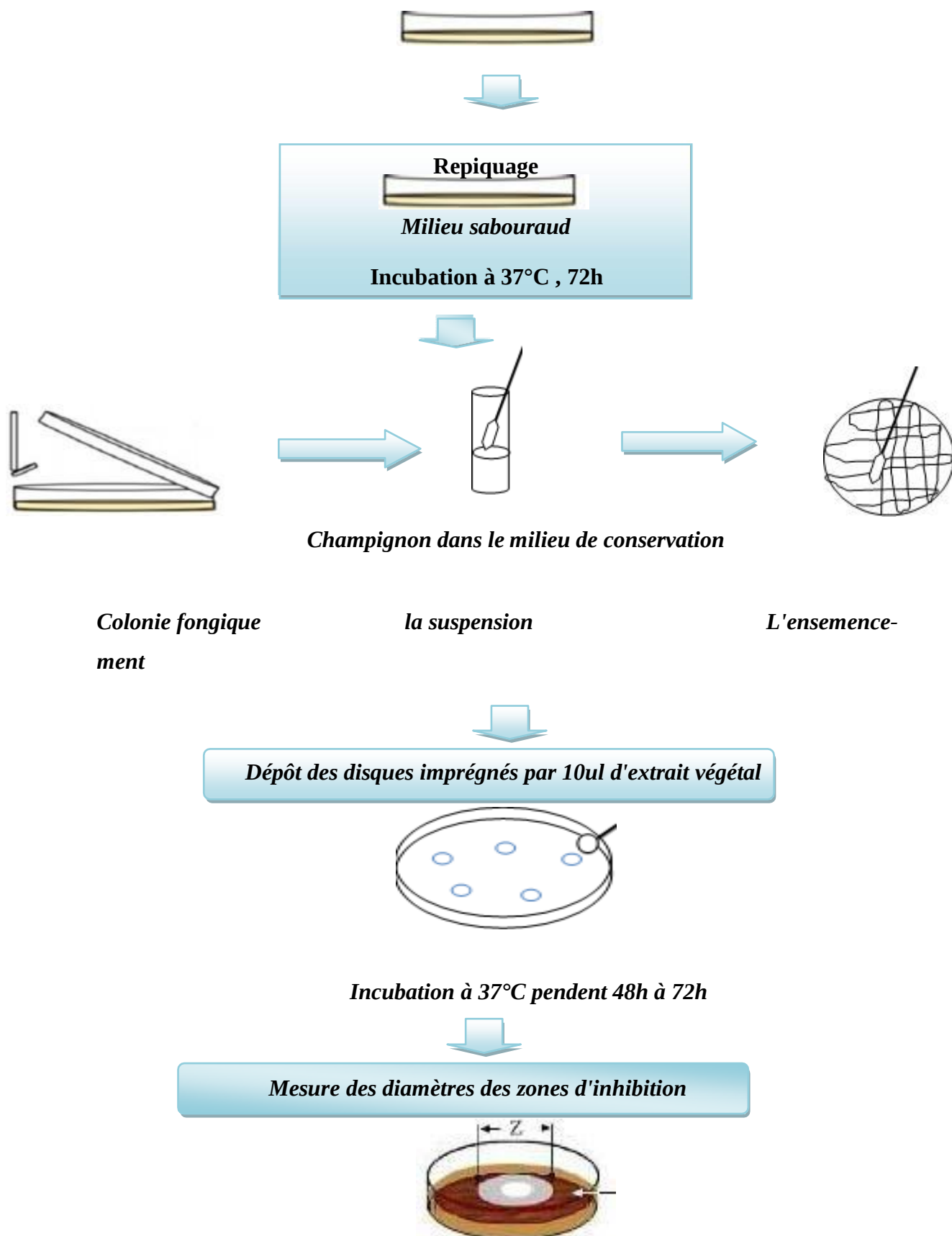


Figure 15 : Protocole d'évaluation de l'activité antimicrobienne.

***Chapitre II:
Résultats et
Discussion***

Dans notre étude, nous avons déterminés le rendement d'extraction des composés phénoliques à partir de partie sous terrain de la plante *Pergularia tomentosa* L.(Asclepiadaceae) par macération, le dosage des composés phénoliques totaux (PPT), flavonoïdes totaux (FVT) ont également été mesurés. Pour compléter l'analyse phytochimique d'extrait éthanolique nous avons évalué la capacité antioxydante *in vitro* par test DPPH et l'activité antimicrobienne sur cis souches.

II.1. Rendement d'extraction des composés phénoliques

L'extrait phénolique de la partie sous terrain par macération présentent un aspect pate jaune marron, le rendement est calculé par rapport au poids de la matière sèche du *Pergularia tomentosa* est d'ordre de 9,78 %.

Selon **Abid et Touahria, (2018)** le rendement de l'extrait éthanolique de feuille et de tige de *Pergularia tomentosa* a concentration donne un résultat 8,64 % et 1,70% respectivement. Ces résultats sont faibles par rapport notre rendement.

Dans une étude concernant d'autres espèces (*Bryoniadiaoica*) de la famille *cucurbitaceae* menée par **Mechernene, (2014)** le rendement d'extrait méthanolique de partie sous terrain est 9,59%, cette valeur est relativement similaire à notre résultat.

Les rendements varient d'une méthode d'extraction à une autre et d'une partie de la plante à une autre. Cette différence est expliquée par la diffusion du solvant dans la poudre des plantes dans l'étape de macération et probablement à la nature et la polarité des solvants utilisés pour l'extraction (**Naczki et Shahidi, 2004 ; Barroso et al., 2014**). En général, les rendements les plus élevés sont obtenus avec les solvants polaires tels que l'eau, le méthanol et l'éthanol (**Markom et al., 2007; Iloki-Assanga et al., 2015**).

II.2. Tests phytochimique

Les résultats de la mise en évidence de quelques métabolites secondaires dans l'extrait éthanolique telle que polyphénols, flavonoïdes, alcaloïdes, sucres réducteurs tanins et saponines se traduisent dans le **Tableau (08)** ci-dessous :

Tableau 8: Résultats des tests phytochimiques d'extraits éthanolique

Métabolites testés	Résultats
polyphénols	+
Alcaloïdes	+
Flavonoïdes	+
Tanins	-
Saponosides	-
Sucres réducteurs	-

(+) : présence (-) : absence

L'examen phytochimique réalisé sur la partie sous terrain de *Pergularia tomentosa*, a révélé la présence des polyphénols, les alcaloïdes, et des flavonoïdes. Cependant, nous observons l'absence des tanins, les saponosides et les sucre réducteurs. L'ensemble des groupes chimiques ainsi identifiés, ayant des propriétés pharmacologiques diverses (**Ouedraogo, 2001**). Ce qui justifier l'utilisation multiple de *Pergularia tomentosa* en-tradi-thérapeutique.

Une analyse phytochimique qui permet de déterminer qualitativement les composés non nutritifs mais biologiquement actifs qui confèrent la saveur, la couleur et d'autres caractéristiques à la plante. C'est pour cela les plantes des zones arides produisent plusieurs types de métabolites secondaires afin de se défendre et pouvoir subsister aux contraintes imposées par le climat et le milieu (**Rira, 2006**).

Le potentiel d'une plante médicinale est attribué à l'action de ses constituants phytochimiques. Ils sont produits comme métabolites secondaires, en réponse au stress environnemental ou pour assurer un mécanisme de défense aux agressions provoquant des maladies chez les végétaux (**Mohammedi, 2013**).

En effet, les flavonoïdes possèdent des rôles très importants dans les plantes, dont elles protègent les plantes contre le stress hydrique et génère une tolérance des plantes

aux métaux lourds présente dans les sols. Hors la plante, les flavonoïdes possèdent plusieurs effets pharmacologiques. Les flavonoïdes protègent les aliments d'origine végétale de l'oxydation, ce sont des antioxydants réputés pour leur action anti radriculaire (Makhloufi, 2010).

En parallèle, La présence des alcaloïdes peut expliquer des activités biologiques diverses (Milcent et chau, 2003). Ils jouent à faibles doses, le rôle d'anesthésique locaux, d'analgésique, d'antibiotiques, d'antiparasitaires, d'antipaludique, d'anti-tumoraux (Chenni, 2010).

II.3. Dosage des composées phénoliques

II.3.1. La teneur en polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux a été effectué par la méthode spectrophotométrique adaptée de Wong *et al.*, (2006) avec le réactif de Folin-Ciocalteu. Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g E). Cette teneur est calculée en utilisant l'équation de la régression linéaire d'acide gallique est le standard le plus souvent employé dans cette méthode (Figure16).

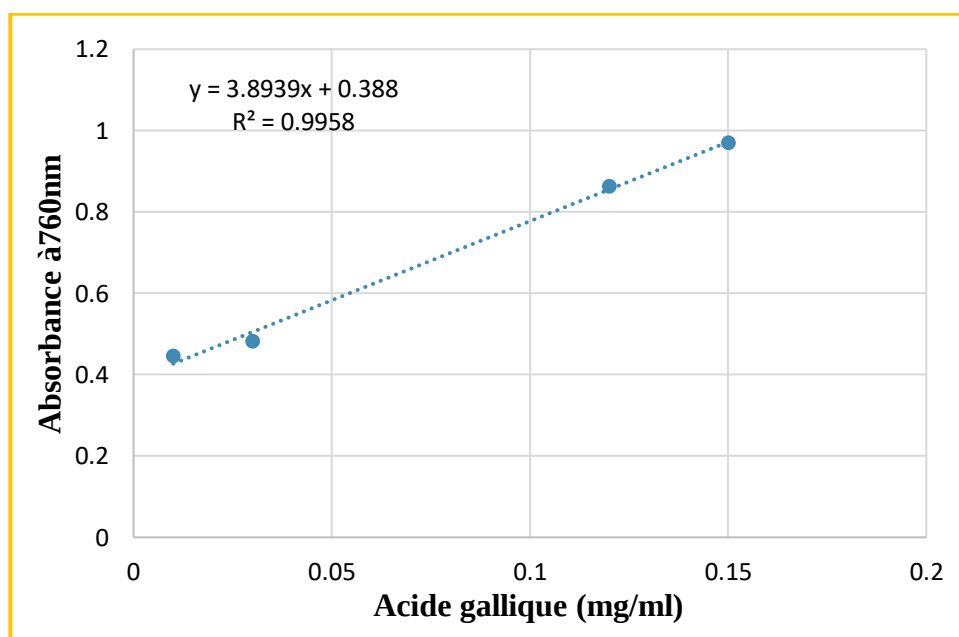


Figure 16: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux

À partir de la courbe d'étalonnage (Figure 16), la concentration des polyphénols totaux de l'extrait éthanolique de *Pergularia tomentosa* par macération est égale 4.208 ± 0.210 mg EAG/g E.

Les résultats de dosage de polyphénols montrent que l'extrait éthanolique est peu riche en polyphénols ($4,208 \pm 0,210$ mg EAG/g E). Cette résultat est inférieur de celle publié par **Lahmer et Messai (2017)** sur l'extrait méthanolique de racines de *Zizyphus lotu* (famille de *Rhamnacees*) ($26,989 \pm 2,0168$ ug EAG/mg E)

Par contre la teneur en polyphénols des travaux de **Abidet Touahria, (2018)** sur des extraits butanol tiges et extrait aqueuse de feuille de *Pergularia tomentosa* sont de l'ordre de $0,124 \pm 0,001$ mg EAG/g et $2,599 \pm 0,491$ mg EAG/g respectivement, et selon **Allal, (2016)** *Periploca Angustifolia* (Asclepiadeceae) récoltée en Tunisie a une valeur de l'ordre de $2,64 \pm 0.74$ mg EAG/g, ces valeurs sont inférieures à ceux trouvé dans notre échantillon.

Le choix du système de solvant d'extraction est très important dans la détermination des teneurs en polyphénols totaux(**Tirichine, 2010**).

La distribution des métabolites secondaires peut changer pendant le développement de la plante. Ceci peut être lié aux conditions climatiques hostiles (la température élevée, exposition solaire, sécheresse, salinité) qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires tels que les polyphénols. En effet, la teneur phénolique d'une plante dépend d'un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétiques) et extrinsèques (conditions climatiques, les pratiques culturelles, la maturité à la récolte et les conditions de stockage) (**Falleh et al., 2008**), aussi dépendent à l'organe analysé, et les conditions d'échantillonnage (**Schlesier et al., 2002**), les différentes maladies qui peuvent affecter la plante (**Park et Cha, 2003**).

L'augmentation de la température favorise l'extraction en améliorant à la fois la solubilité du corps dissous et le coefficient de diffusion. Cependant, une température trop élevée, peut également induire la dégradation de quelques composés phénoliques (**Yaqin et al., 2008**).

Néanmoins, plusieurs chercheurs ont attiré l'attention à la possibilité de l'oxydation des composés phénoliques si le temps d'extraction est long, ce qui peut mener à l'inverse des résultats escomptés (teneurs très basses) (**Nazck et Shahidi, 2004 ; Nazck et Shahidi, 2006 ; Chirinos et al., 2007 ; Drużyńska et al., 2007; Yap et al., 2009**).

II.3.2. La teneur des Flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) (Bahorun *et al.*, 1996). L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 430 nm. La courbe d'étalonnage de quercétine représentés dans **figure 17**, ayant l'équation :

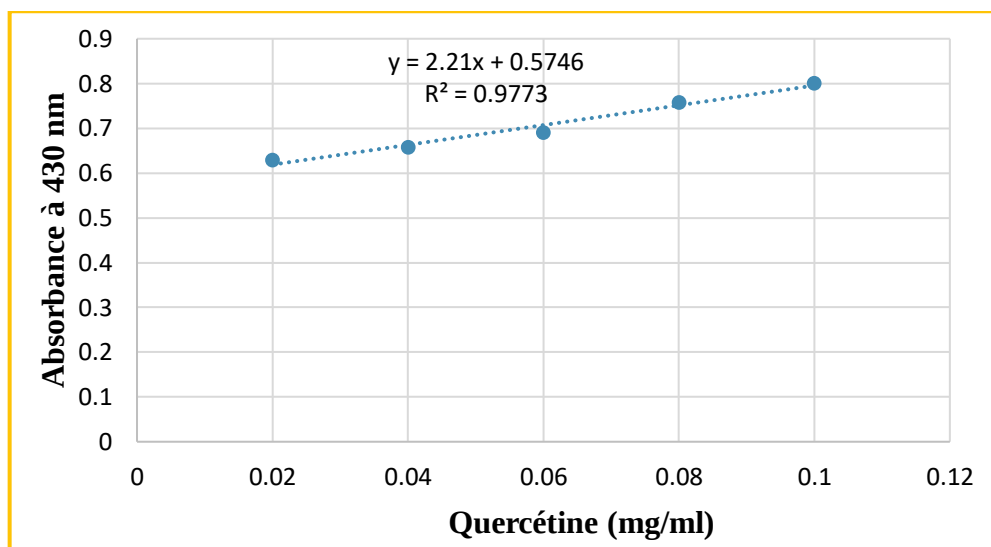


Figure 17: Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux.

À partir de la courbe d'étalonnage de quercétine, les résultats de la teneur en flavonoïde de la partie sous terrainne du *Pergularia tomentosa* montrent quelles flavonoïdes à savoir une moyenne de 0.411 ± 0.110 mg EQ /g E.

Les résultats de dosage de flavonoïdes montrent que l'extrait éthanolique est possède une quantité important en flavonoïdes ($0,411 \pm 0,110$ mg EQ /g E). Cette quantité est inférieure à celle de racine de la plante *Pituranthos Scopatius* de famille *Apiacées* ($0,84 \pm 0,01$ mg EQ/g E) (Adida *et al.*, 2015).

En parallèle, notre résultat est en accord avec les résultats publiés par Bouhamdi, (2012) et Rebouh et Belkhirat, (2016), des extraits de partie arienne et souterraine de *Pergularia tomentosa* (91,74 mg /100mg MS, 0,01 mg /g MS respectivement).

D'après Lu *et al.* (2006) et Vanamala *et al.* (2006), et Klimczak *et al.* (2007), la variabilité des teneurs en flavonoïdes dans l'orange de la plante est influencée par plusieurs facteurs dont l'origine génétique, le degré de maturation, le mode de conservation.

La concentration des flavonoïdes dans les extraits de la plante est liée à la solubilité qui dépend non seulement de la polarité du solvant d'extraction mais aussi du nombre et de la position des groupements hydroxyles libres, au poids moléculaire et de la glycosylation (Mohammedi et Atik, 2011 ; Iloki-Assanga *et al.* 2015).

II.4. Evaluation l'activité antioxydante

Afin d'étudier l'activité antiradicalaire de notre extrait, nous avons utilisé la méthode basée sur le DPPH• (2,2-diphényle-1-picryl hydrazyl) comme un radical relativement stable, qui possède une bande d'absorbance à 517 nm. La capacité antioxydante de l'extrait de la plante étudiée a été déterminée et comparées aux activités des composés des étalons, les pourcentages d'inhibitions de l'acide gallique, l'acide ascorbique et l'extrait sont présentés dans les figures 18,19et 20 respectivement.

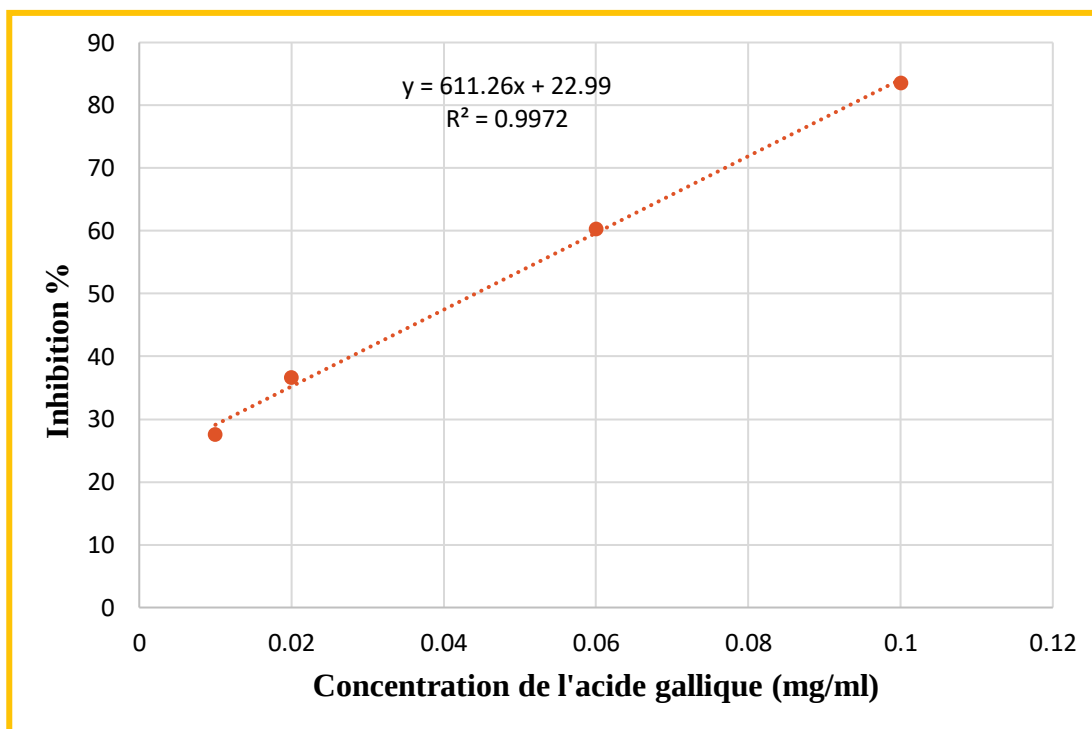


Figure 18: Résultats d'inhibition de DPPH par l'acide gallique.

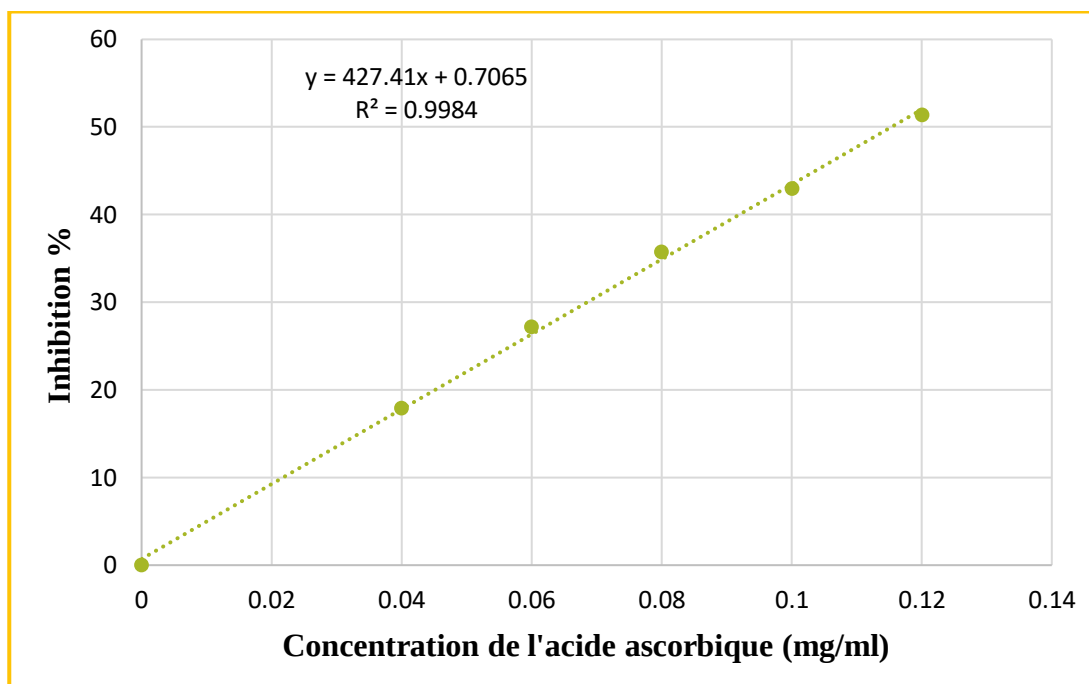


Figure 19 : Résultats d'inhibition de DPPH par l'acide ascorbique.

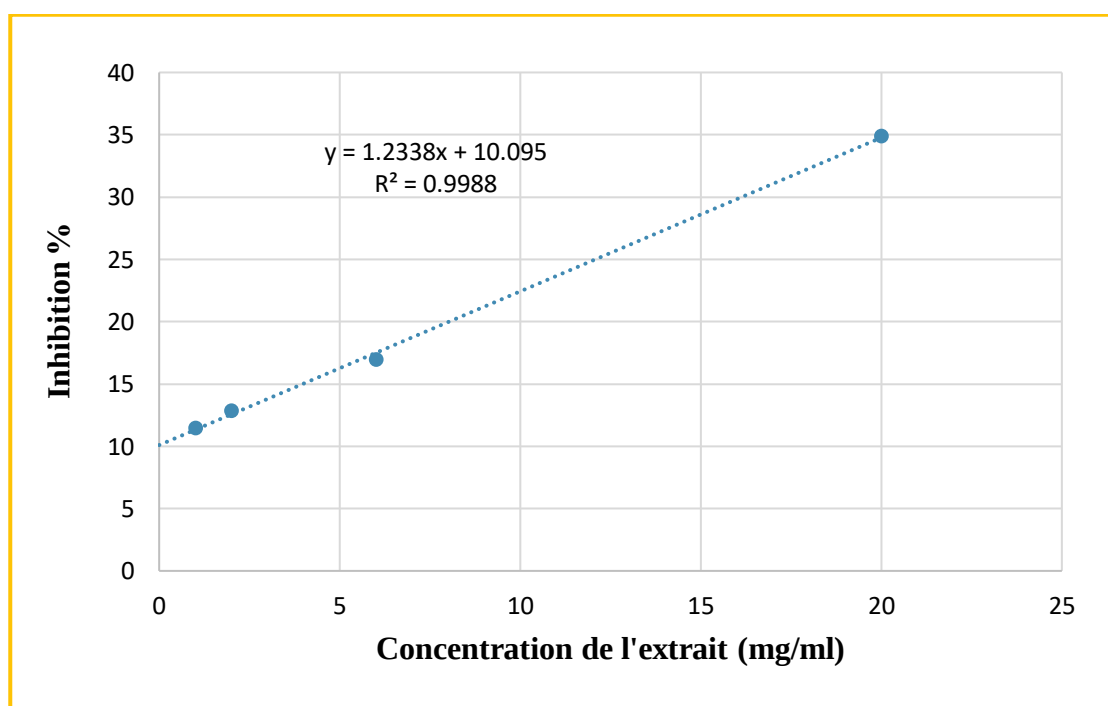


Figure 20: Résultats d'inhibition de DPPH par l'extrait éthanolique de *Pergularia tomentosa*

Les résultats obtenus pour le test de DPPH, exprimés en termes de concentration inhibitrice de 50 % des radicaux (IC50), sont présentés dans la figure (21).

A des fins comparatives, deux antioxydants standards sont utilisés, l'acide gallique et l'acide ascorbique, ils ont montré une activité antiradicalaire très puissante avec des IC50 de l'ordre de $0,054 \pm 0,010$ mg/ml et $0,11 \pm 0,001$ mg/ml respectivement, et l'activité antioxydant de notre extrait est faible avec IC50 de l'ordre de $31,545 \pm 2,742$ mg/ml.

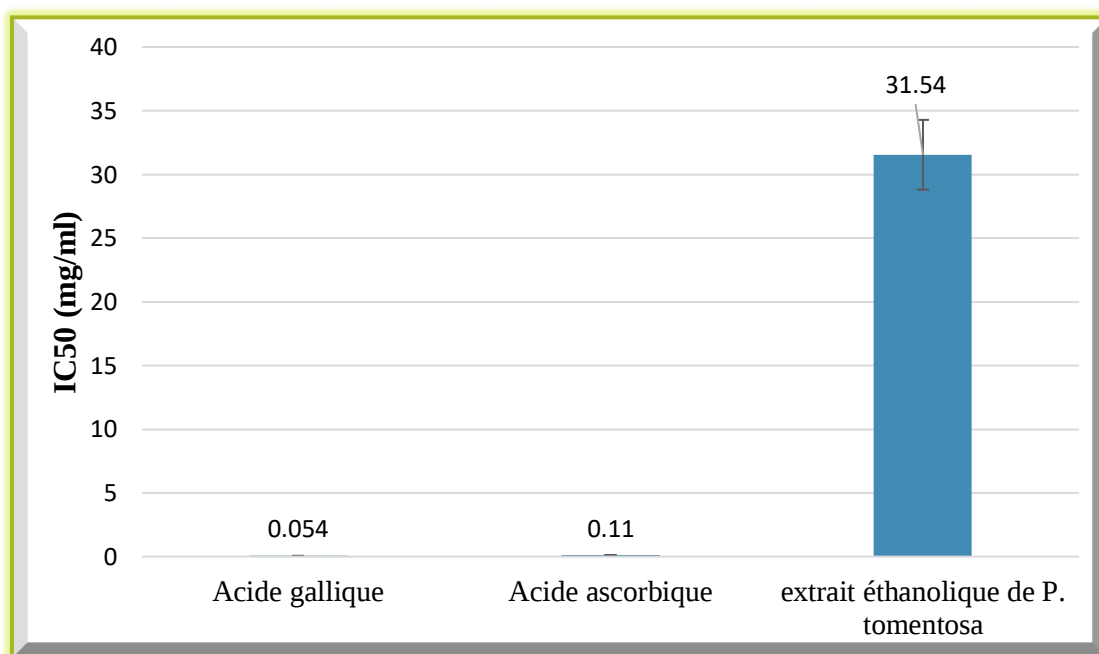


Figure 21: Résultats de concentrations inhibitrices 50 % de DPPH

Ces résultats sont en accord avec celui trouvés par **Rufai et al.(2015)** sur la même plante et de même partie étudier de l'ordre 39.06 mg/ml.

D'après **Tlili, (2015)** l'extrait éthanolique de feuille de *P.tomentosa* possède un IC50 de l'ordre de $9,81 \pm 0,06$ mg/ml., cette valeur est relativement inférieure par rapport à notre résultat.

Notre extrait montré une activité antioxydante plus faible que l'extrait méthanolique de *Periploca Angustifolia* (Apocynacées) et *Psoralea Bituminosa* L (Fabaceae). avec une valeur d'IC50 est de 11,4 mg/ml et 3,23 mg/ml respectivement (**Allal, 2016 ; Dghim,2013**).

On peut suggérer que le pouvoir antioxydant observé est dû 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**) .

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**).

Le potentiel antioxydant des polyphénols est désormais munis d'un grand intérêt dû 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 (DPPH) est largement utilisé pour le dosage de l'activité d'élimination des radicaux des extraits de plantes (**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**).

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**).

A partir de ces comparaisons, nous avons conclu que l'activité antioxydante de l'extrait de racine 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

hénolique 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 antioxydants 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).

II.5. Evaluation Activité antimicrobienne

Nous avons étudié *in vitro* le pouvoir antimicrobien d'extrait isolé de *Pergularia tomentosa* par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé solide, Mueller-Hinton pour les bactéries et Sabouraud pour le champignon.

L'activité antimicrobienne d'extrait a été estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition (mm) autour des disques contenant les extraits à tester vis-à-vis de cis germes pathogènes qui sont : *E. coli*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus carbonarius* et *Aspergillus parasiticus*.

Le DMSO a été testé comme solvant (contrôle négative), les résultats montrent que le solvant est approprié et ne présente aucun effet sur la croissance normale des toutes souches microbiennes.

Les souches testées ont montré des sensibilités différentes aux antibiotiques standards Utilisés : Gen120 et Pen 10.

II.5.1. Pouvoir antibactérienne

Le choix des souches bactériennes testées dans la présente étude était basé sur le caractère de multi résistance envers les antibiotiques classiques et l'agent pathogène le plus fréquemment impliqué dans les infections humaines, d'origines bactériennes (Kaiser *et al.*, 2005). Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau(09).

D'après ces résultats, on observe aucun effet de notre extrait de *Pergularia tomentosa* contre les souches bactérienne *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* et *Bacillus subtilis*. Tandis que les antibiotiques Gen120 et Pen 10 qui présentent des effets antibactériens puissants avec des zones d'inhibitions de 32,66 et 6 respectivement.

Tableau 09 : Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne (mm) obtenus par différentes concentrations dans l'extrait.

Concentration (mg/ml)	<i>Escherichia coli</i>(mm)	<i>Staphylococcus aureus</i>(mm)	<i>Salmonella typhi</i>(mm)	<i>Bacillus subtilis</i>(mm)
1	6	6	6	6
5	6	6	6	6
10	6	6	6	6
20	6	6	6	6
Gen (120)	32,66± 2	28,66± 1,33	26± 1,66	27,33± 1
Pen (10)	6	10,33± 1,66	8± 1,33	6
DMSO	6	6	6	6

Les résultats obtenus dans ce travail montrent que aucun effet inhibiteur de l'extrait éthanolique de racine du *P.tomentosa* sur la croissance bactérienne, et révèlent quels antibiotiques de références (Gen120 et Pen 10) ayant un pouvoir antibactérienne remarquable.

Ces résultats sont en accord avec les résultats de **Dangoggo et al., (2002)** sur la racine de même plante.

Il a été rapporté par **Rebouh et Belkhirat (2016)** que l'extrait de partie aérienne et souterraine de *P.tomentosa* présent un effet remarquable par rapport l'effet de notre extrait sur *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*.

La différence dans la structure de la paroi bactérienne joue un rôle important dans la susceptibilité des bactéries (**Shan et al., 2007 ; Tian et al., 2009**). Plusieurs travaux ont mis en évidence la grande sensibilité des bactéries Gram positives aux extraits de plantes par rapport aux bactéries Gram négatives (**Turkmen et al., 2006 ; Hayouni et al., 2007 ; Falleh et al., 2008**). Les bactéries Gram négatives possèdent une membrane externe constituée principalement de lipopolysaccharides (LPS) et des protéines majoritaires appelées porines. Cette membrane est imperméable à la plupart des molécules. Ce-

pendant, l'inhibition de la croissance des bactéries Gram négatives a été rapportée, particulièrement en combinaison avec les facteurs qui peuvent influencer l'intégrité de la cellule et/ou la perméabilité de la membrane, telle que les basses valeurs du pH et les concentrations accrues en NaCl (**Georgantelis et al., 2007**).

De plus, selon **Shan et al. (2007)**, la membrane des bactéries Gram négatives est associée à des enzymes dans l'espace péri plasmique qui sont capable de détruire les molécules intruses. En effet les extrémités lipophiles des acides lipoteichoïques de la paroi des bactéries Gram positives facilitent la pénétration des composés hydrophobes (**Boussaada et al., 2008**), tels que les tannins qui peuvent atteindre la membrane cytoplasmique, et perturbent la force motrice de protons, le transport actif et la coagulation du contenu cellulaire (**Tian et al., 2009**).

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**).

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).

II.5.2. Pouvoir antifongique

Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau(10)

Tableau 10 : Diamètres des zones d'inhibition de la croissance fongique (mm) obtenus par différentes concentrations d'extrait.

Concentration (mg/ml)	<i>Aspergillus carbonarius</i> (mm)	<i>Aspergillus parasiticus</i> (mm)
1	7,16 ± 0,55	6
5	7,33 ± 0,44	6
10	8,66 ± 0,44	6
20	10 ± 0,66	6
Gen (120)	29,66 ± 1,33	6
Pen (10)	6	6
DMSO	6	6

D'après ces résultats, on observe aucun effet de notre extrait de *P. tomentosa* sur *Aspergillus parasiticus* et un effet moyen contre *Aspergillus carbonarius* avec une maximale zone d'inhibition égale 10 ± 0,66 mm à concentration 20 mg/ml, et que le concentration 1 mg/ml présent une minimale zone d'inhibition de l'ordre de 7,16 ± 0,55 mm (Figure 22et 23).

Si lon compare nos résultat avec d'autre plante étudiés par John *et al.* (2018),sur le racine de *Heliopsis Longipes* (Asteraceae) à une activité antifongique remarquable par nos résultat avec une zone d'inhibition (7.24 ± 0.13) sur le *Aspergillus parasiticus* mais d'autre souche aucun des études précédentes .



Figure 22 : L'effet d'extrait de *P. tomentosa* sur la souche *Aspergillus carbonarius*.

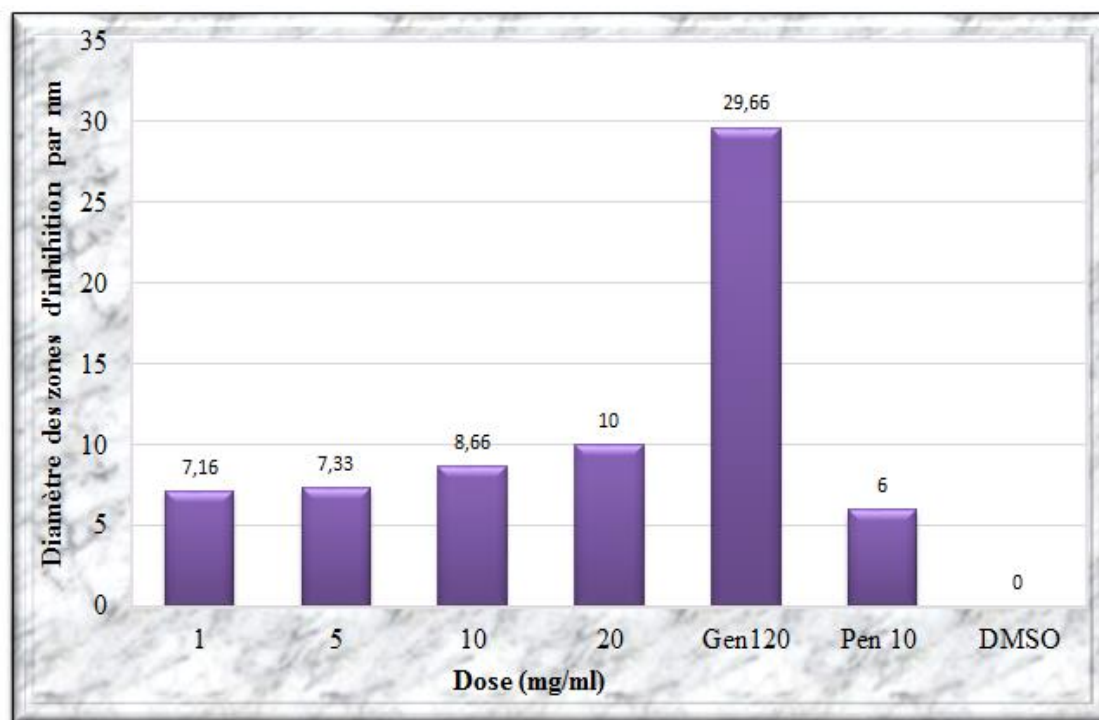


Figure 23 : Effet de l'extrait de *P. tomentosa* sur la *Aspergillus carbonarius*

Pour **Hadji et al. (2016)** cette activité des extraits des plantes peut être expliquée par l'effet des métabolites secondaires que contiennent ces plantes testées. Par conséquent, l'activité biologique d'une plante naturelle est en relation directe et en corrélation avec sa composition chimique.

Le pouvoir antifongique mis en évidence pourrait être expliqué par les composés naturels appelés métabolites secondaires que contiennent ces plantes. Il est assez difficile d'attribuer l'effet antifongique à un seul métabolite que contient un extrait. Cet effet inhibiteur dépend de la substance ou des substances à caractère antifongique présentes dans chaque extrait. Les extraits contiennent toujours un mélange de plusieurs composés chimiques. En plus des composés phytochimiques majoritaires d'une plante, des éléments mineurs peuvent apporter une contribution significative à l'activité antifongique. Ces substances agissent simultanément ou différemment, empruntent des voies semblables ou différentes, agissent ensemble ou indépendamment sur une ou plusieurs cibles, conduisant ainsi à une activité antifongique efficace (**Mohammedi, 2013**).



Le présent travail a pour l'objectif d'effectuer une étude phytochimique et d'évaluer l'activité antioxydante et antimicrobienne de l'espèce *Pergularia tomentosa* L., plante Algérienne utilisée en médecine traditionnelle, appartenant à la famille *Asclepiadeceae*.

Les tests phytochimiques réalisés sur l'extrait éthanolique des racines de la plante *Pergularia tomentosa*, a permis d'identifier plusieurs métabolites secondaires (polyphénols, flavonoïdes, alcaloïdes).

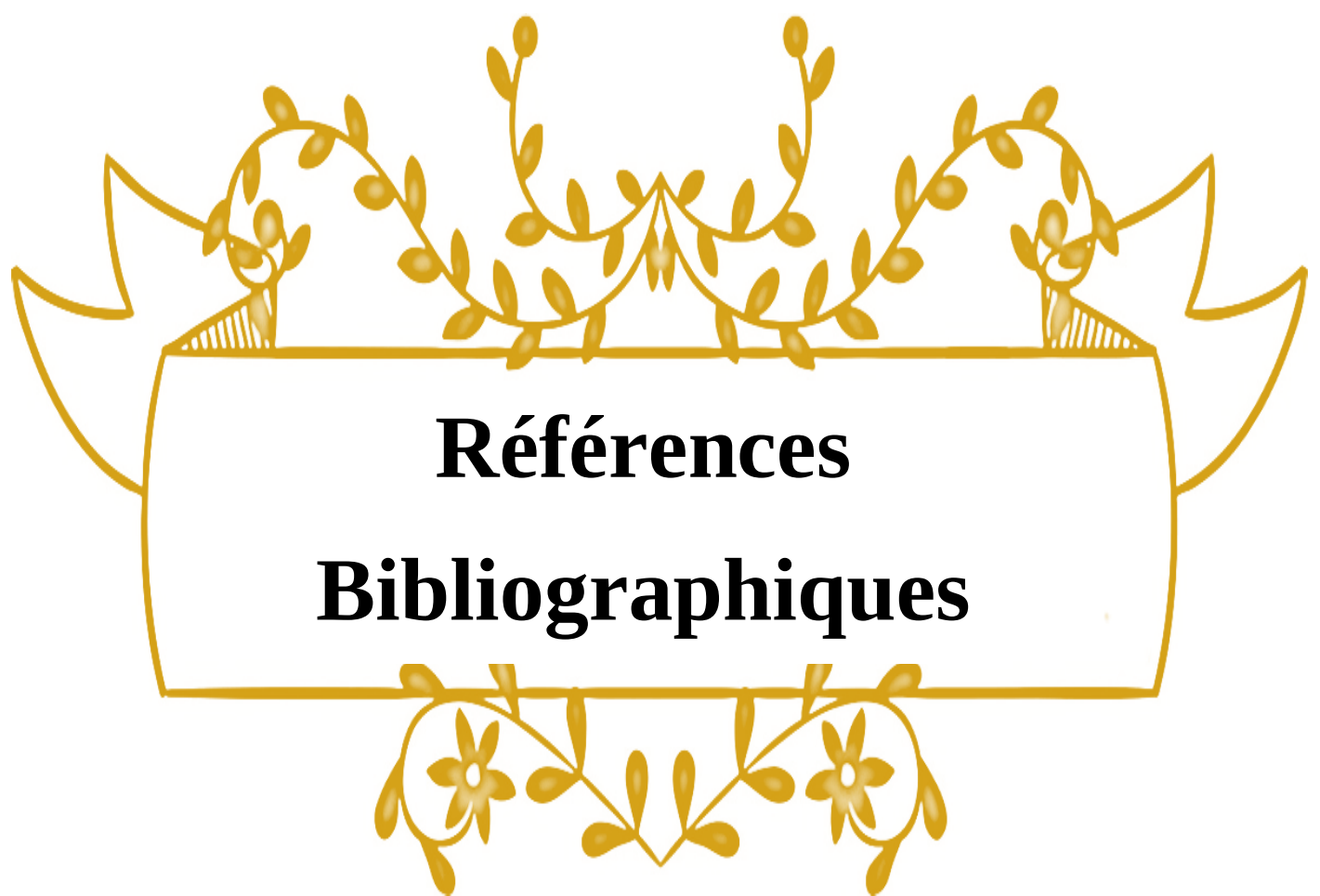
Le dosage des polyphénols totaux à l'aide de la méthode du Folin Ciocalteu a révélé une teneur de $4,208 \pm 0,210$ mg EAG/mg d'extrait, et la teneur en flavonoïdes par la méthode d' AlCl_3 nous mène à conclure que l'extrait éthanolique de cette plante contient $0,411 \pm 0,110$ mg EQ/g d'extrait.

Dans la partie biologique de notre travail, nous avons évalué l'activité antioxydante de l'extrait éthanolique par la méthode du DPPH, à l'issue de cette étude, il en ressort que cette extrait possède un pouvoir antioxydant faible. Cette activité est liée en grande partie à la composition de l'extrait et sa richesse en composés phénoliques en particulier les flavonoïdes.

L'activité antimicrobienne de l'extrait éthanolique des racines de la plante *Pergularia tomentosa* a été évaluée sur quarts souches bactériennes (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilus*, *Salmonella typhimurium*), selon la méthode de diffusion sur disque. Les résultats ont montré que l'extrait n'a pas d'activité contre toutes les souches.

Pour le test antifongique *in vitro*, les résultats obtenus ont montré que l'extrait éthanolique du *Pergularia tomentosa* a exercé un effet antifongique sur le *Aspergillus carbonarius* à des concentrations différentes.

En fin, l'ensemble de ces résultats obtenus *in-vitro* ne constitue qu'une petite partie de la recherche des substances et sources naturelles biologiquement actives, nous envisageons comme perspective d'utiliser des méthodes modernes pour l'extraction des principes actifs, et de valoriser leur présence par des techniques précises comme la CPG-SM, la RMN et l'HPLC.



Références

Bibliographiques

1. **Abid, A. et Touahria, T. (2018).** Etude phytochimique et activité biologique d'une plante médicinale appartenant à la famille des Asclepiadeceae dans la région du sud d'Algérie. Mémoire de Master chimie. Université Kasdi Merbah-Ouargla, pp : 32-34.
2. **Adida, H., Benariba, N., Bechiri, A., Chekroun, E. et Djaziri, R. (2015).** Étude phytochimique et évaluation du pouvoir antiradicalaire des extraits de *Pituranthos Scoparius*. Phytothérapie, 5p. Doi 10.1007.
3. **Adouane, S. (2016).** Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région méridionale des Aurès. Mémoire de magistère en sciences agronomiques. Université Mohamed Khider - Biskra, 94p
4. **Albano, S.M. et Miguel, M.G. (2010).** Biological activities of extracts of plants grown in Portugal. *Industrial Crops and Products*, 33(2), 338–343. Doi: 10.1016. 1-6.
5. **Albert, L. (1998).** La santé par les fruits. *Ed. Veechi*, Paris, pp : 44-74.
6. **Alghanem, S. et El-Amier, Y. (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.
7. **Allal, A. (2016).** Etude phytochimique et activités antioxydante de quelques extraits d'une plante de la région de Tlemcen : *Psoralea bituminosa* L. Mémoire de master en chimie. Université Abou Bekr Belkaïdde Tlemcen, 39p.
8. **Al-Mekhlafi, N. et Masoud, A. (2017).** Phytochemical and pharmacological activities of *Pergularia tomentosa* L. à review. *Indo American Journal Of Pharmaceutical Sciences*, 4(11); 4558-4565.
9. **Al-Qura'n, S. (2005).** Ethnobotanical survey of folk toxic plants in southern part of Jordan. *Toxicon*. 46(2); 119-129.
10. **Al-Said, M.S., Ahu-Jayyab, A. et Hifnawy, M.S. (1989).** Biochemical studies on ghalakinoside. a possible antitumor agent from *Pergularia tomentosa*. *Journal of Ethnopharmacology*, 27; 235-240.
11. **Amatiste, S., Sagrati, D., Giacinti, G., Rosa, G., Carfora, V., Marri N. et Rosati R. (2014).** Antimicrobial activity of essential oils against *Staphylococcus aureus* in fresh sheep cheese. *Italian Journal of Food Safety*, 3(3);148-150
12. **Anderson, ER., Koplan, J., Henney, JE. et Billy, TJ. (2001).** Diagnosis and Management of Foodborne Illness : A Primer for Physicians. Centers for Disease Control, *Morbidity and Mortality Weekly Report* 50 (2); 1-69.

13. **Athamena, S. (2009).** Etude quantitative des flavonoides des graines de *Cuminumcyminum* et les feuilles de *rosmarinus officinalis* et l'évaluation de l'activité biologique. Thèse de Magister en Biologie. Université El-Hadj Lakhdar. Batna, Algérie, 88p.
14. **Atoui, A.K. (2006).** Approche de la myco-toxinogenese chez *Aspergillus ochraceus* et *Aspergillus carbonarius* : études moléculaire et physiologique. Thèse de Doctorat, université de Toulouse, 11 p.
15. **Baba-Aissa, F., (2000).** Encyclopédie des plantes utiles, flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. Ed. EDAS, Alger. Algérie, 368p.
16. **Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Iyckx, M., Vasseur, J., Cazin, M., Cazin, J. C. et Pinkas, M. (1996).** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arznei. Forschung*, Vol. (46); 1086-1089.
17. **Balasundram, N., Sundram, K. et Samman, S. (2006).** Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99; 191-203
18. **Balentine, C.W., Crandall, P.G., O'bryan, C.A., Duong, D.Q. et Pohlman, F.W. (2006).** The preand post-grinding application of rosemary and its effects on lipid oxidation and color during storage of ground beef. *Meat Science*, 73; 413-421.
19. **Bandeira, M.F.C.L., Teixeira, M.F.S., Abinader, C.D., Parente, R.C. et Lima, P.S.L. (2006).** Avaliação in vitro da sensibilidade da *Candida albicans* ao hidróxido de cálcio associado ao óleo de copaíba. *Review Dentística*, 6; 12-22.
20. **Barrosoa, M.R., Barros, L., Dueñas, M., Carvalho, A.M., Santos-Buelga, C., Fernandes, I.P., Barreiro, M.F. et Ferreira, I.C.F.R. (2014).** Exploring the antioxidant potential of *Helichrysum Stoechas* (L.) Moench phenolic compounds for cosmetic applications : Chemical characterization, microencapsulation and incorporation into a moisturizer. *Ind. Crops Prod.* 53 ; 330–336.
21. **Bekheet, S.H.M., Abdel-Motaal, F.F. et Mahalel, U.A. (2011).** Antifungal effects of *Ficus sycomorus* and *Pergularia tomentosa* aqueous extracts on some organs in *Bufo regularis* treated with *Aspergillus niger*. *Tissue and Cell.* 43 ; 398- 404.

22. **Bellaw, S. (2012).** Etude des composés phénoliques impliqués dans la repense des feuilles de vigneau mildiou. Thèse de doctorat, Université paris-sud. UFR des sciences, 136p.
23. **Berreguioua, A. (2016).** Investigation phytochimique sur des extraits bioactifs de deux Brassicaceae médicinales du sud Algérien : *Moricandia arvensis* et *Zillam acroptera*. Thèse de doctorat en Chimie Organique, Université de Tlemcen, pp : 38-208.
24. **Blot, N. et Bernard, G.J. (2012).** Atlas illustré des Plantes médicinales et curatives. De Borée, Asie, 19p.
25. **Boizot, N. et Charpentier, P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. *Le cahier des techniques de l'Inra*, pp : 79-82.
26. **Booth, N.L., Dejan, N., Richard, B. et Stoci, E. (2004).** New lanthanide complexes of 4 methyl 7 hydroxycoumarin and their pharmacological activity. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 50; 120-123.
27. **Boubekri, C. (2014).** Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum Melongena* par des techniques électrochimiques. Thèse de doctorat en chimie. Université Mohamed Khider – Biskra, 27p.
28. **Bouchouka, E. (2016).** Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes Sahariennes. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar. Annaba, 24p.
29. **Boudjouref, M. (2011).** Etude de l'activité antioxydant et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Thèse de Magister en Biochimie. Université Ferhat Abbes, Sétif. Algérie, 99p.
30. **Bouhamdi, A. (2012).** Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des feuilles de *Pergularia tomentosa* L. de la région d'Adrar. Mémoire de Master en Biochimie appliqué. Université Abou-Bekr Belkaid. Tlemcen, pp : 57- 42.
31. **Bourgeois, C.M. et Mescle, J.F. (1996).** Microbiologie alimentaire : aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. *Edition Lavoisier*, pp : 5- 6.
32. **Boussaada, O., Chriaa, J., Nabli, R., Ammar, S., Saidana, D., Mahjoub, A.M., Chraeif, I., Helal, A.N. et Mighri, Z. (2008).** Antimicrobial and antioxidant activities of methanol extracts of *Evaxpygmaea* (Asteraceae) growing wild in Tunisia. *World J Microbiol. Biotechnol.*, 24 ; 1289-1296.

33. **Boutaghane, N. (2013).** Etude phytochimique et pharmacologique de plantes médicinales Algériennes *Genista ulicina* Spach (Fabaceae) et *Chrysanthemum Macrocarpum* (Asteraceae). Thèse Présentée pour obtenir le diplôme de Doctorat en sciences. Université de Constantine 1, pp : 11-58.
34. **Brown, J.E., Khodr, H., Hider, R.C. et Rice-Evans, C. (1998).** Structural dependence of flavonoid interactions with Cu^{2+} ions. *Biochem. J.* 330 ; 1173-1178.
35. **Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3^{ème} Edition Technique et documentation Lavoisier : 784-873.
36. **Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4^{ème} Edition Lavoisier Tec et Doc. Médicales Internationales, Paris, p261, 308, 571. 1234.
37. **Bssaibis, F., Gmira, N., Meziane, M. (2009).** Activité antibactérienne de *Dittrichia viscosa* (L.) W. Greuter. *Rev. Microbiol. Ind. San et Environn*, 3(1) ; 44-55.
38. **Bubonja-Sonje, M., Giacometti, J. et Abram, M. (2011).** Antioxidant and antimicrobial activity of olive oil, cocoa and rosemary extract polyphenols. *Food Chemistry*, 127; 1821- 1827.
39. **Cai, Y.Z., Sun, M., Xing, J., Luo, Q. et Corke, H. (2006).** Structure-radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants. *Life Sci*, 78; 2872-2888.
40. **Calliste, C.A., Trouillas, P., Allais, D.P., Simon, A. et 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.
41. **Calsmiglia, S., Busquet, M., Cardozop, W., Castillejos, L. et Ferret, A. (2007).** Invited Review : Essential Oils as Modifiers of Rumen Microbial Fermentation. *Journal Of Dairy Science*, (90) ; 2580–2595.
42. **Calvo-Flores, F.G., Dobado, J.A., Isac-Garcia, J. et Martin-Martinez, F.J. (2015).** Lignin and Lignans as Renewable Raw Materials. Edition Wiley, Chemistry, Technology and Application. Edition John Wiley & Sons, Ltd, 315p.
43. **Chalal, A., Tighermine, L. (2012).** Activités anti-oxydantes et anti-enzymatiques de l'extrait éthanolique de *Rhamnus alaternus* . Thèse d'étude supérieure en Biologie Moléculaire et Cellulaire Université Abderrahmane Mira de Bejaia, 7p

44. **Chan, K.W., Iqbal, S., Khong, N.M.H., Ooi, D.J. et Ismail, M. (2014).** Antioxi-dant activity of phenolicssaponins rich fraction prepared from defatted kenaf seed meal. *LWT – Food Sci Technol*; 56 (1);181-186. Doi:10.1016.
45. **Chenni, M. (2010).** Contribution à l'étude chimique et biologique de la racine d'une plante médicinale : *Bryoniadioica* Jacq. Thèse de Magister. Université d'Oranes-Senia, Oran. Algérie, 138p.
46. **Chirinos, R., Rogez, H., Campos, D., Pedreschi, R. et Larondelle, Y. (2007).** Op-timization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tro-paeolum Tuberosum* Ruíz & Pavón) tubers. *Journal of Separation and Purification Tech-nology*, 55; 217-225.
47. **Clifford, M. et Scalbert, A. (2000).** Ellagitannins-nature, occurrence and dietary burden. *Sei. Food Agric.*, 80 ; 1118-1125.
48. **Cowan, M.M. (1999).** Plant Products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiol-ogy Reviews*, 12 (4); 564-582.
49. **Crozier, A., Clifford M.N. et Ashihara H. (2006).** Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet. *Blackwell Publishing Ltd*, 371p
50. **Cyril, T. (2001).** Étude des métabolismes primaires et secondaires de racines trans-formées de *Catharanthus Roseusen*, vue du développement d'un modèle cinétique. Univer-sité de Montréal, 28p.
51. **Dacosta, Y. (2003).** Les phytonutriments bioactifs. Ed Yves Dacosta. Paris, 317 p
52. **Daglia, M. (2011).** Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Bio-technology*, 23;1-8
53. **Dahane, N.R.L. (2017).** Etude des effets nématocides et molluscicides des extraits de quelques plantes sahariennes. Thèse de doctorat en sciences biologiques. Université Oran1 ABB, 41p.
54. **Dangoggo, S.M., Faruq, U.Z. et Hassan, L.G. (2002).** Preliminary phytochemical analysis and antibacterial activity of *Pergularia tomentosa*. *Sokoto Journal of Veterinary Sciences*, 4(2) ; 8-11.
55. **Danja, S., Jonas, G., Nathalie, W. et Katharina, O. (2016).** *Bacillus subtilis*. iGEM team: Bonn – Freiburg, 2p

56. Deina, M., Rosa, A., Casu, V., Cottiglia F. et Bonsignore L. (2003). Natural product: their chemistry and biological significance. *Journal of the American Oil Chemistry Society*. 80; 65-70.
57. Deramchi, S. (2015). Etude phytochimique de deux plantes steppiques : *Punica Granatum* L et *Ampélodesmos mauritanicus*. Mémoire de Master en Chimie. Université Ziane Achour de Djelfa, 20p.
58. Dghim, F., Zouari, S., Boukhris M. et Neffati M. (2013). composition chimique et activité antioxydante d'un arbuste des zones arides : *periploca angustifolia* Labill (apocynacees) . *Journal de la Société Chimique de Tunisie*. 15; 163-173
59. Drużyńska, B., Stepniewska A. et 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 Sci. Pol., Technol. Aliment.*, 6; 27-36.
60. Dunière, L., Thevenot-Sergent D. et Loukiadis E. (2012). Les *Escherichia coli* zoonotiques pathogènes. *Bulletin des GTV*. France, 117p.
61. El Gharas, H. (2009). Polyphenols: Food sources, properties and applications - A review. *International Journal of Food Science and Technology* 44(12); 2512-2518.
62. Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M et Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of *Cynara Cardunculus* L. organs, and their biological activities. *C. R. Biologies*, 331; 372-379.
63. Favier, A. (2003). Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, 108-115.
64. Feryel, D. (2015). Synthèse et caractérisation des dérivés quinoniques. Application du tannage et test biologiques. Thèse de Doctorat. Université M'hamed Bougara, Boudjéda, 8p.
65. Fettah, A. (2019). Étude phytochimique et évaluation de l'activité biologique (antioxydante - antibactérienne) des extraits de la plante *Teucrium Polium* L. sous espèce *Thymoides* de la région Beni Souik, Biskra. Thèse de Doctorat en Chimie. Université Mohamed Khider Biskra, 87p
66. Fettah, A. et Laouz, H. (2019). Etude phytochimique comparative des différents extraits de *Zygophyllum album* L., de la région d'Ouargla et la région El-Oued. Mémoire De Master. Université Mohamed Khider de Biskra, 11p.

67. **Gagandeep, M. et Kalidhar, S.B. (2006).** Chemical constituents of *Crataeva* leaves (Buchham) leaves. *In. J. Ph. Sc*, 68; 804-806.
68. **Gangoue, P.J. (2007).** Caractérisation des beta-lactamases et leur inhibition par les extraits de plantes médicinales. Thèse de doctorat. Université de Liège, 104p.
69. **Gee, J.M. et Johnson, I.T. (2001).** Polyphenolic compounds: interactions with the gut and implications for human health. *Current Medicinal Chemistry*. 8; 1-182.
70. **Georgantelis, D., Ambrosiadis, I., Katikou, P., Blekas G. et Georgakis, S.A. (2007).** Effect of rosemary extract, chitosan and α -tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4 °C. *Meat Science*, 76; 172-181.
71. **Ghnimi, W. (2015).** Etude phytochimique des extraits de deux Euphorbiacées: *Ricinus communis* et *Jatropha curcas*. Evaluation de leur propriété anti-oxydante et de leur action inhibitrice sur l'activité cetylcholinestérase. Thèse de doctorat. Université de Lorraine (France) et Université de Carthage (Tunisie), 26p
72. **Gilani, G.S. et Anderson, J. J. B. (2002).** Phytoestrogens and health. Edition Aocs Press, 405 p.
73. **Guinebert, E., Durand, P., Prost M., Grinand, R., Bernigault, R. (2005).** Mesure de la résistance aux radicaux libres. Sixièmes *Journées de la Recherche Avicole*; 554-558
74. **Gurib-Fakim, A. (2006).** Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine*. Vol. (27); 1-93.
75. **Hadi, M. (2004).** La quercétine et ses dérivés: molécules à caractères pro-oxydants ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat. Université Louis Pasteur Strasbourg, 155p.
76. **Hadji, O. et Tarfaya, F. (2019).** Evaluation du pouvoir antioxydant, antilithéasique et antimicrobien de *Brassica* spp. Mémoire de Master. Université Mohamed Bou Diaf-M'Sila, 24p.
77. **Hadji, P., Coleman, RE., Wilson, C et al. (2016).** Adjuvant bisphosphonates in early breast cancer: consensus guidance for clinical practice from a European Panel. *Annals of Oncology* 27(3): 379–90
78. **Hammiche, V., Merad, R. et Azzouz, M. (2013).** Plantes toxiques à usage médicinal du pourtour méditerranéen. Springer-Verlag France. Paris, 300p.

79. **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, 73p.
80. **Haslam, E. (1989).** Plant polyphenols, Vegetable tannis revisited. University Press, Cambridge, 230p.
81. **Hassan, S.W., Umar, R.A., Ladan, M.J., Nyemike, P., Wasagu, R.S.U., Lawal, M., Ebbo, A.A. (2007).** International Journal of Pharmacology, 3(4); pp : 334-340.
82. **Hayouni, E., Abedrabba, M., Bouix, M. et Hamdi, H. (2007).** The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. Food Chemistry, 105 (3); 1126-1134.
83. **Hifnawy, M.S., El-Shanawany, M.A. Khalifa, M.M., Youssef, A.K. et Desoukey, S.Y. (2014).** Cardi tonic activity of pergularia tomentosa different extracts, fractions & isolated compounds. J Pharm Biol Sci, 9 ;54-60.
84. **Hoffman, L. (2003).** Etude du métabolisme des phénylpropanoïdes ; analyse de l'interaction de la caféol-coenzyme A-3-O-méthyltransférase (CCoAOMT) avec son substrat et caractérisation fonctionnelle d'une nouvelle acyltransférase, l'Hydroxycinnamoyl-CoA : shikimate/quinate hydroxycinnamoyl Trnsférase (HCT). Thèse de doctorat en Biologie moléculaire et cellulaire. Université Louis Pasteur Strasbourg I, 245p.
85. **Hopkins, P. N. (2003).** Familial hypercholesterolemia—improving treatment and meeting guidelines." International journal of cardiology 89(1); 13-23
86. **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.
87. **Hussein, H.I., Al-Rajhi, D.H., El-Shahawi, F.I. et Hashed, S.M. (1999).** Molluscicidal Activity of *Pergularia tomentosa* (L.). Methomyl and Methiocarb. Against Land Snails. *International Journal of Pest Management*. 45; 211–213.
88. **Ilihoun, R et Boukalmouna, I. (2018).** Comparaison des activités biologiques des feuilles et racines de *Thymelaea hirsuta*. Mémoire de master en Biologie. Université L'Arbi Ben Mhidi-Oum EL Bouaghi, 13p

89. Iloki-Assanga, S.B., Lewis-luján, L.M., Lara-Espinoza, C.L., Gil-Salido, A.A., Fernandez-Angulo, D., Rubio-Pino, J.L. et Haines, D.D. (2015). Solvent effects on phytochemical constituent profiles and antioxidant activities, using four different extraction formulations for analysis of *Bucidabuceros L.* and *Phoradendron californicum*. BMC Res. Notes, 8; 396.pp.1-14.
90. Imran, M., Ahmad, N., Anjum, F. M., Kamran-Khan, M., Mushtaq, Z., Nadeem, M. et Hussain, S. (2015). Potentiel protective properties of flax lignin secoisolariciresinol diglucoside. Nutrition journal, 14, 1 – 7.
91. John M., Velez-Haro 1. Nydia E., Buitimea-Cantúa Ema. C., Rosas-Burgos., Jorge M.T., Génesis V. et Buitimea-Cantúa. (2018). Effect of the roots extract from *heliopsislongipes* on *aspergillus parasiticus* growth .biotecnia / xx (3); 127-134
92. Jost, J. P. et Jost-Tse, Y. C. (2016). L'automédication chez les animaux dans la nature. Editions connaissances et savoirs, 23p.
93. Juan, M.Y. et 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.
94. Kadri, H. (2017). Etude phytochimique de quelques plantes de la Numidie Algérienne. Thèse de Doctorat en Chimie, University Badji-Mokhtar d'Annaba, 21p
95. Kayser, M.D. F. H., Bienz, K. A., Eckert, Ph .D. J. et Zinkernagel, M.D. M. R. (2005). Medical Microbiology. Edition Thieme. 698p.
96. Kemassi, A., Darem, S., Cherif, R., Boual, Z., Sadine, S. E., Aggoune, M. S., Ould el Hadj-Khelil, A. et Ould El hadj, M. D. (2014). Recherche et identification de quelques plantes médicinales à caractère hypoglycémiant de la pharmacopée traditionnelle des communautés de la vallée du M'Zab (Sahara septentrional Est Algérien). *Journal of Advanced Research in Science and Technology*, 1(1); 1-5.
97. Khadri, A., Serralheiro, M.L.M., Nogueira, J.M.F., Neffati, M., Smiti, S. et Araujo, M.E.M. (2008). Antioxidant and antiacetyl cholinesterase activities of essential oils from *Cymbopogon Schoenanthus L.* Spreng. Determination of chemical composition by GC– massspectrometry and ¹³C NMR. *Food Chemistry*, 109; 630–637.

98. Khasawneh, M. A., Elwy, H. M., Fawzi, N. M., Hamza, A. A., Chevidenkandy, A. R. et Hassan, A. H. (2011). Antioxidant activity lipxygenase inhibitory effect and polyphenolic compounds from *Calotropis procera* (Ait.) R. Br. *Research Journal of Phytochemistry*, 5(2); 80–88.
99. Kholkhal, F. (2014). Etude Phytochimique et Activité Antioxydante des extraits des composés phénoliques de *Thymus ciliatus* ssp *coloratus* et ssp *euciliatus*. Thèse de Doctorat en Biologie. Université Aboubekr Belkaid de Tlemcen, 18p
100. Klimczak, I., Malecka, M., Szlachta, M. et Gliszczynska-Swiglo, A. (2007). Effect of storage on the content of polyphenols; vitamin C and the antioxidant activity of orange juices. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20; 313-322.
101. Korichi-Almi, A. (2016). Effets des extraits de quelques plantes spontanées du Sahara septentrional, sur trois stades de développement (œuf, L1 et adulte) d'*Ectomyelois ceratoniae* Zeller (Lepidoptera, Pyralidae). Mémoire de Magister en sciences agronomiques. Université Kasdi Merbah- Ouargla, 23 p
102. Lahmar, I., Belghith, H., Ben Abdallah, F. et Belghith, K. (2017). Nutritional Composition and Phytochemical, Antioxidative, and Antifungal Activities of *Pergularia tomentosa*. *L Bio Med Research International*, 9; 1-9.
103. Lahmer, N. et Messai, S. (2017). Étude phytochimique et biologique des extraits aqueux et méthanolique des écorces des racines du *Zizyphus lotus* (L). Mémoire de Master en Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire. Université des Frères Mentouri Constantine, 44p.
104. Lu, Y., Zhang, C., Bucheli, P. et Wei, D. (2006). Citrus Flavonoïds in Fruit and Traditional Chinese Medicinal Food Ingredients in China. *Journal of Plant Foods for Human Nutrition*, 61(2); 57-65.
105. Lugasi, A., Hovari, J., Sagi, K. V. et Biro, L. (2003). The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases, *Acta Biologica Szegedensis*, 1-4; 119-125.
106. Macheix, J.J., Fleuriet, A. et Jay, A. C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed Presses polytechnologiques et universitaires romandes, 4p.
107. Makhoulfi, A. (2010). Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de Bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus Officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du

beurre. Thèse de doctorat d'état en biologie, Université Abou-Baker-Belkaid, Tlemcen. Algérie, 136p.

108. Markom, M., Hasan, M., Daud, W., Singh, H. et Jahim, J. (2007). Extraction of hydrolysable tannins from *Phyllanthusniruri Linn.* : Effects of solvents and extraction methods. *Separation Purif. Technol*, 52; 487-496.

109. Maurice, N. (1997). L'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXI^e siècle. Ed. Tec et Doc, Paris. France, pp : 12-14.

110. Mauro, N.M. (2006). Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs : la (+)-anatoxine-a et la (±)-camptothécine, thèse doctorat, Université Joseph Fourier Grenoble, p13; 16-28.

111. Mechernene, B. (2014). Évaluation de l'activité antioxydante de quelques extraits de la racine de Bryoniadioica. Mémoire de master Biologie. Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen, pp : 18- 35

112. Meddour, A., Yahia, M., Benkiki, N., Ayachi, A., (2013). Étude de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'un ensemble des parties de la fleur du *Capparis Spinosa L.* *Lebanese Science Journal*. Vol. (14): 49-60

113. Milcent, R. et Chau, F. (2003). Chimie organique hétérocyclique : Structure fondamentale, chimie et biochimie des principaux composés naturels. Ed. Francoischau EDP. Paris. France, 846 p.

114. Missaoui, R. (2018). Extraction verte et caractérisation des molécules bioactives dans les coproduits de la production d'asperge (*Asparagus officinalis*L.).Université Québec, Canada, 16p

115. 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 aboubekr Belkaid. Algérie, pp : 169-170.

116. Mohammedi, Z. et Atik, F. (2011). Impact of solvent extraction type on total polyphenols content and biological activity from *Tamarixa phylla (L.) Karst.* *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 2(1); 609-615

117. Nazck, M. et Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *J Chromatogram A*. 1054(1-2); 95-111.

118. Nazck, M. et Shahidi, F. (2006). Phenolics in cereals, fruits and vegetables: occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Bio medical Analysis*, 41; 1523-1542.
119. Neuzinger, H.D. (1996). African Ethnobotany: Poisons and Drugs: Chemistry Pharmacology. Toxicology. Edition: Hapman et Hall. Germany. pp : 246-248
120. Nguyen, M.T. (2007). Identification des espèces de moisissures, potentiellement productrices de mycotoxines dans le riz commercialisé dans cinq provinces de la région centrale du Vietnam - étude des conditions pouvant réduire la production des mycotoxines. Spécialité: Génie des procédés et de l'environnement, pp : 37-38.
121. Ouedraogo, Y., Nacoulma, O., Guissou, I.P. et Guede Guina, F. (2001). Evaluation in vivo et in vitro de la toxicité des extraits aqueux d'écorces de tige et de racines de *Mitragyna inermis* (willd).o.ktz (rubiacées). *Pharm. Méd. Trad.* Vol, (11); 13-29.
122. Ould, EL., Hadj, M.D., Hadj-Mahammed, M. et Zabeirou, H. (2003). Place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région de Ouargla (Sahara septentrional est). *Courrier du Savoir*. 3 ; 47-51.
123. Paganga, G., Miller, N. et Rice-Evans, C. A. (1999). The polyphenolic content of fruit and végétales and their antioxidant activities. *Free Radic Res.* 30; 62-153.
124. Paris, R R. et Moyse, H. (1969). Matière médicale. Collection de précis de pharmacie. Edition Masson. 2^{ème} édition. Tome II, Paris, p518.
125. Park, H.J. et Cha, H.C. (2003). Flavonoids from leaves and exocarps of the grape Kyoho. *Korean journal of biological society*. 7; 327-330.
126. Piacente, S., Masulio M., De Neve, N., Dewelle, J., Hamed, A., Kiss, R. et 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.
127. Pinecemail, J., Karine, B., Karine, C. et Jean-Olivier, D. (2002). Mécanismes Physiologiques de la défense Antioxydante. *Physiological Action of Antioxydant Defences. Nutritio Clinique et métabolisme*. 16(6) ; 233-239.
128. Pitt, J.I. et Hocking, A.D. (1997). Primary keys and miscellaneous fungi. In *Fungi and Food Spoilage*. Blackie Academic and Professional. London, Weinheim, New York, Tokyo, Melbourne, Madras. 2nd Ed, pp.59-171

129. **Rached, W. (2009).** Évaluation du potentiel antioxydant de plantes médicinales et analyse phytochimique. Mémoire de Magister en Biologie. Université d'Oran Es-Sénia, 122p.
130. **Rakotonanahary, M. (2012).** Thèse présentée pour l'obtention du titre de docteur en pharmacie diplôme d'état. Université Joseph Fourier: 16, 19, 27, 28.
131. **Rebouh, M. et Belkhirat, S. (2016).** Evaluation de l'activité antibactérienne et le pouvoir cicatrisant d'une Asclepiadaceae. Mémoire de Master en Biologie. Université M'hamed Bougara. Boumerdes, pp : 43-60 .
132. **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 Dhar Mehraz – Fés, 170p.
133. **Rira, M. (2006).** Effet des polyphénols et des tanins sur l'activité métabolique du microbioteruminal d'ovins. Thèse de Magister en biochimie et microbiologie appliquées, Université M'entourai Constantine, Algérie, 94 p.
134. **Rodier, J., Legube, B., Merlet, N. (2009).** L'analyse de l'eau, 9 ème édition, Ed. Dunod p.1579.
135. **Rufai ,S.B., Singh, A., Kumar, P., Singh, J., Singh, S. (2015).** Performance of Xpert MTB/RIF Assay in Diagnosis of Pleural Tuberculosis by Use of Pleural Fluid Samples J Clin Microbiol, 53 (11) , pp. 3636-3638
136. **Saffidine, K. (2015).** Etude analytique et biologique des flavonoïdes extraits de *Carthamus Caeruleus L.* et de *Plantago major L.* Thèse de doctorat. Université Ferhat Abbes, Sétif, p 8- 64.
137. **Santos-Buelga, C. et Scalbert, A. (2000).** Proanthocyanidinsan tannin-like compounds-nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. Journal of Sei. Food Agric, 80; 1094-1117.
138. **Sarni-Manchado, P. et Cheynier, V. (2006).** Les polyphénols en agroalimentaire, Lavoisier, Editions Tec et Doc, 398p.
139. **Scalbert, A. (1991).** Antimicrobial properties of tannins. Phytochemistry, 30, 3875-3883 secoisolariciresinol diglucoside. Nutrition journal, 14; 1 – 7.
140. **Schlesier, K., Harwat, M., B.hm, V. et Bitsch, R. (2002).** Assessment of antioxidant activity by using different in vitro methods, Free Radical Res, 36(2); 177–87.

141. Shan, B., Cai, Y. Z., Brooks, J. D. et Corke, H. (2007). The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *International Journal of Food Microbiology*, 117; 112-119.
142. Shinkafi, S.A. (2013). Antidermatophytic activities. phytochemical screening and Chromatographic studies of *Pergularia tomentosa* L. an *Mitracarpus scaber* Zucc. (Leaves) Used in the Treatment of Dermatophytoses. *International Research Journal of Microbiology*. Vol, 4(1); 29-37.
143. Singleton, A., Vernon, L., Rudol, O., Rosa, M. , Lamuel, R. (1974). Analysis of total phenols and other oxidation substances and antioxidants by means of folinciocalteau. *Methodes in enzymologie*, 299; 152-178.
144. Speroni, E. et Scartezzini, P. (2000). Review on some plants of indiane traditional medicine with atioxidant activity. *J. Ethnopharmacol*, 71; 23– 43.
145. Tátraaljai, D., Major, L., Földes, E. et Pukánszky, B. (2014). Study of the effect of natural antioxidants in polyethylene: Performance of β -carotene. *Polym Degrad Stab*, 102(1); 33-40. Doi: 10.1016.
146. Tian, F.Li.B., Ji B., Yang, J., Zhang, G., Chen, Y. et Luo, Y. (2009). Antioxidant and antimicrobial activities of consecutive extracts from *Gallachinensis*: The polarity affects the bioactivities. *Food Chemistry*, 113; 173-179.
147. Tirichine, H. S. (2010). Etude ethnobotanique, activité antioxydante et analyse phytochimique de quelques cultivars de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) du Sud-Est algérien. Thèse de Magister en Biologie. Université d'Oranes-Es Senia, Oran Algérie, 88 p.
148. 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. Université Kasdi Merbah. Ouargla, 98p.
149. Treki, A.S., Merghem, R. et Dehimat L. (2009). Etude phytochimique et Évaluation de l'activité antibactérienne d'une Labiée : *Thymus hirtus*. *Sciences & Technologie*. Vol. (29) ; 25-29.
150. Tsao, R. et Deng, Z. (2004). Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals. *Journal of Chromatography B*, 812 ; 85-99.
151. Turkmen, N., Sari, F.Y. et Velioglu, S. (2006). Effects of extraction solvents on conce nitration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin-Ciocalteu methods. *Food Chemistry*, 99; 835-841.

152. Vanamala, J., Reddivari, L., Yoo, K.S., Pike, L.M. et Patil, B.S. (2006). Variation in the content of bioactive flavonoids in different brands of orange and grapefruit juices. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19; 157-166.
153. Vuorela, S. (2005). Analysis, isolation and bioactivities of rapeseed phenolics. Ed. University of Helsinki. Helsinki, 76p
154. Wong, S.P., Leong, L.P., Koh, J.H.W. (2006). Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. *Food Chemistry*; Vol. 99; pp : 775-783.
155. Wu, P., Ma, G., Li, N., Deng, Q., Yin, Y. et Huang, R. (2015). Investigation of *In vitro* and *In vivo* antioxidant activities of flavonoids rich extract from the berries of *Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk. *Food Chem*, 173; 194-202.
156. Yadav, R. et Agarwala, M. (2011). Phytochemical analysis of some medicinal plants. «*Journal of phytology*, 3(12); 10-14.
157. Yap, C.F., Ho, C.W., Wan-Aida, W.M., Chan, S.W., Lee, C.Y. et Leong, Y.S. (2009). Optimization of Extraction Conditions of Total Phenolic Compounds from Star Fruit (*Averrhoa carambola* L.) Residues. *Sains Malaysiana*, 38(4); 511-520.
158. Ya-Qin, M., Xing-Qian, Y., Zhong-Xiang, F., Jian-Chu, C., Gui-Hua, X. et Dong-Hong, L. (2008). Phenolic Compounds and Antioxidant activity of extracts from ultrasonic treatment of Satsuma Mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) Peels. *J. Agric. Food Chem.*, 56(14) ; 5682-5690.
159. Zerargui, F. (2015). Activité antioxydante des extraits de racines *Tamus communis* L. et caractérisation des substances bioactives, Thèse de doctorat en Biochimie, Université Ferhat Abbas Sétif 1, 42p.
160. Zerriouh, M. (2015). Contribution à l'étude phytochimique et activité antidiabétique de *hammada scoparia* (Pomel), « Remth ». Thèse de Doctorat en Biologie. Université Abou Bekr Belkaid –Tlemcen, 29p.
161. Zhang, Y., Moqtaderi, Z., Rattner, B., Euskirchen, G., Snyder, M., Kadonaga J., Liu, X. et 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.

Résumé

Les extraits naturels issus des végétaux contiennent une variété de molécules biologiquement actives. Dans ce contexte nous avons tenté d'évaluer l'activité antimicrobienne et antioxydante de l'extrait préparé à partir des racines du *Pergularia tomentosa*, cet extrait ont été obtenus par macération dans un solvant polaire : l'éthanol. Le rendement respectif est : 9,78%.

L'analyse qualitative d'extrait par les tests préliminaires, a révélé la présence des composés phénoliques, des alcaloïdes et des flavonoïdes dans l'extrait, ceci est confirmé par une analyse quantitative basée sur le dosage des composés phénoliques et des flavonoïdes dont les valeurs sont : pour les composés phénoliques (égale $4,208 \pm 0,210$ mg EAG/g. d'extrait) et les flavonoïdes ($0,411 \pm 0,110$ mg EQ /g d'extrait) dans l'extrait éthanolique.

L'activité antioxydante a été établie par la méthode de DPPH *in vitro*, les résultats obtenus démontrent la présence des principes actifs antioxydants dans l'extrait avec un IC_{50} d'ordre de $31,54 \pm 2,74$ mg/ml.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne d'extraits a révélé aucune activité contre les souches (*E. coli*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, et *Aspergillus parasiticus*) avec un effet remarquable contre le souche fongique *Aspergillus carbonarius* dont la zone d'inhibition est de $10 \pm 0,66$ mm.

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

Abstract

Natural extracts from plants contain a variety of biologically active molecules. In this context we tried to evaluate the antimicrobial and antioxidant activity of the extract prepared from the roots of *Pergularia tomentosa*, this extract was obtained by maceration in a polar solvent: ethanol. The respective yield is: 9.78%.

The qualitative analysis of extract by preliminary tests, revealed the presence of phenolic compounds, alkaloids and flavonoids. This is confirmed by a quantitative analysis based on the dosage of phenolic compounds and flavonoids whose values are : for phenolic compounds (4.208 ± 0.210 mg EAG / g. of extract) and flavonoids (0.411 ± 0.110 mg EQ / g of extract) in the ethanolic extract.

The antioxidant activity was established by the method of DPPH *in vitro*, the results obtained demonstrate the presence of the antioxidant active ingredients in the extract with the IC₅₀ value of $31.54 \pm 2,74$ mg/ml.

Evaluation of the antimicrobial activity of extract revealed no activity against strains (*E. coli*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, and *Aspergillus parasiticus*) with a remarkable effect against the fungal strain *Aspergillus carbonarius* whose area inhibition is 10 ± 0.66 mm.

Key words: *Pergularia tomentosa*, phenolic compounds, flavonoids, antioxidant activity and antimicrobial activity.

الملخص

تحتوي المستخلصات الطبيعية من النباتات على مجموعة متنوعة من الجزيئات النشطة بيولوجيًا. في هذا السياق، حاولنا تقييم النشاط المضاد للميكروبات ومضادات الأكسدة للمستخلص المحضر من جذور نبتة العلقه (*Pergularia tomentosa*)، وتم الحصول على هذا المستخلص عن طريق النقع في مذيب قطبي: الإيثانول. المردود هو: 9.78٪.

كشف التحليل النوعي للمستخلص عن طريق الاختبارات الأولية عن وجود المركبات الفينولية والقلويدات والفلافونويد في المستخلص، وهذا ما أكدته التحليل الكمي لجرعة المركبات الفينولية والفلافونويد التي كانت قيمها: بالنسبة للمركبات الفينولية (يساوي 4.208 ± 0.210 ملغ مكافئ من حمض الغاليك / غ من المستخلص) والفلافونويد (0.411 ± 0.110 ملغ مكافئ من الكاتشين / غ من المستخلص) في مستخلص الإيثانول.

تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة بواسطة طريقة الجذر الحر (DPPH) في المختبر، وأظهرت النتائج التي تم الحصول عليها وجود المكونات النشطة المضادة للأكسدة في المستخلص بقيمة IC_{50} من 31.54 ± 2.74 ملغم / مل.

كشف تقييم النشاط المضاد للميكروبات للمستخلصات عن عدم وجود نشاط ضد السلالات (*Bacillus subtilis* و *Salmonella typhimurium* و *Staphylococcus aureus* و *Aspergillus parasiticus*) مع تأثير ملحوظ ضد السلالة الفطرية *Aspergillus carbonarius* لمنطقتها تثبيط 10 ± 0.66 مم

الكلمات المفتاحية: *Pergularia tomentosa*، المركبات الفينولية، الفلافونويد، النشاط المضاد للأكسدة والنشاط المضاد للميكروبات.