



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 حمدة لخضر الوادي

*Université Echahid Hamma Lakdhar- EL OUED*

كلية العلوم الطبيعية والحياة

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

قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département de Biologie Cellulaire et Moléculaire

## **MÈMOIRE DE FIN D'ÉTUDE**

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

Spécialité : Biochimie appliquée

### **THÈME**

**Composition chimique, activité antimicrobienne et  
antioxydante de quatre plantes d'Asteraceae**

Présenté Par :

M<sup>elle</sup> : AHMIMID Fatma

M<sup>elle</sup> : BENGLIA Samah

M<sup>elle</sup> : KAB Lobna

M<sup>elle</sup> : ZEGHOUANE Amira Yasmine

Soutenu le 02 Octobre 2024

Devant le jury composé de :

Mr. ZAATAR Abdelmalek

MCB. Université d'El-Oued

Président

Mr. TLILI Mohammed Laid

MA/A. Université d'El- Oued

Examinateur

Mr. GHANIA Ahmed

MA/A. Université d'El-Oued

Rapporteur

Année universitaire: 2023/2024

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ  
الْحَمْدُ لِلَّهِ الَّذِي  
خَلَقَ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضَ  
وَالَّذِي يُرِيهِمْ آيَاتِهِ  
وَالَّذِي يُخْرِجُ النَّوْمَ  
وَالَّذِي يُخْرِجُ النَّوْمَ

## *Remerciement*

*En Premier lieu, nous tenons à remercier notre DIEU, notre créateur pour nous avoir donné la force pour accomplir ce travail.*

*Nous désirons exprimer notre profonde et vive reconnaissance à notre encadreur, **Dr. Zaatat Abdel -Malik** qui a mis toute sa compétence à notre disposition, pour ces directives et Conseils judicieux et pour son suivi régulier à l'élaboration de ce travail.*

*Nous exprimons nos sincères remerciements et notre gratitude au **Dr Hammami Hadia**, chargée de cours à la Section A, qui a déployé tous ses efforts pour terminer ce mémoire et nous amener au meilleur.*

*Nous remercions aussi les membres du comité de discussion d'avoir examiné notre mémoire.*

*Nous voudrions aussi exprimer toute notre gratitude et nos remerciements à responsables du laboratoire Faculté de sciences de la nature et de la vie **Mr, Amor, madame salma**. Ainsi que tous les membres qui nous ont beaucoup aidés à réaliser ce travail dans des bonnes conditions.*

*Nous remercions également tout le personnel du laboratoire d'analyses médicales Al majd.*

*Merci à nos parents pour l'encouragement.*

*Enfin, Nous remercions tous nos proches et amies.*

## Dedicace

" وَآخِرُ دَعْوَاهُمْ أَنِ الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ "

الحمد لله الذي بنعمته تتم الصالحات، الحمد لله ملء السموات والأرض وما بينهما حمدا لا  
ينفذ أوله ولا ينقطع آخره

نشكره سبحانه وتعالى على منحه نعمة العقل والأمل والصلاة والسلام على خير البشر وشفيع الأمة  
و بدر التمام محمد صلى الله عليه وسلم و بعد:

أهدي ثمرة جهدي المتواضع هذا إلى كل من أحبهم في الله ، يتوق القلب ليخاطب من شذى بذكرهما  
اللسان و قال فيها الرحمان " و قضى ربك ألا تعبدوا إلا إياه و بالوالدين إحسانا "

والدي الذي علمني أن الدنيا كفاح و سلاحها العلم و تاجها النجاح بن قلية الجموعي

والدتي التي نسجت لي خطوات الطريق في صلاتها و خاطت لي ثوب النجاح بدعائها بن قلية فتيحة  
إلى من أشد بهم عضدي إخواني و أخواتي : عائشة ، جميلة ، سعاد ، شيماء ، هاجر / عبد المجيد ،  
عبد الرزاق ، عبد الرحمان ، عبد الحفيظ .

إلى عائلة أختي الغالية جميلة : عمر ، جاسم ، رزان ، جواد ، جوري و أخص بالذكر نزار و غيث

إلى أخواتي في الله اللواتي لم تنجبهم أمي صديقاتي

إلى زميلات و رفيقات المشوار في مذكرة التخرج لبنة، أميرة و فاطمة



## Dédicace

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ  
(... وَأَخِرُ دَعْوَاهُمْ أَنْ الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ)

الحمد لله الذي بلغني هذا اليوم الذي أكتب فيه اهداء تحرجي، الحمد لله شكرا وامتنانا، الحمد لله حتى يبلغ الحمد منتهاه. الحمد لله على سنوات العمر في سبيل العلم، سنوات مليئة بالجد والتعب، الفرح والحزن، الصدمات والتجارب، سنوات رأينا فيها ما يغيرنا للأقوى في كل يوم. وها أنا اليوم أقولها بكل نخر لم تذهب أيام عمري سدا وأنا اليوم بفضل الله أول خريجة لأهلي رافعة رؤوسهم بسلاح العلم الذي لا يهزم صاحبه.

عن أبي هريرة رضي الله عنه أن النبي ﷺ قال: «لا يَشْكُرُ اللهُ مَنْ لا يَشْكُرُ النَّاسَ أَهْدِي اليَوْمَ نَجَاحِي الَّذِي هُوَ بِتَوْفِيقِ الْخَالِقِ الْوَاحِدِ الْأَحَدِ لِنَفْسِي أَوْلا وَلِكُلِّ مَنْ وَقَفَ وَسَعِيَ مَعِيَ فَعَلَا أَوْ قَوْلَا.

شكرا لنفسي على كل ما مررنا به في هاته السنوات، على كل خيبات الأمل التي عشناها والدموع التي ذرفناها والليالي التي سهرناها فكم من الأيام لم نعرف فيها معنى للنوم والراحة. شكرا لنفسي التي تصمد في كل محنة وتقول لي انهضي لا وقت للسقوط. شكرا لقلبي الذي تحمل الأذى ولم يستطع إيذاء أحد. شكرا لي لأنني كنت سند نفسي، لأنني أعيد ترميم نفسي في كل كبوة فقط لأكمل المسيرة. وها أنا الحمد لله واقفة صامدة شامخة رافعة قبعتي بكل نخر وانتصار.

الحمد لله الذي رزقني بدل الأم اثنين وبدل الأب اثنين. شكرا للأم التي ربت وسهرت وتعبت، يامن لم تنامي الليل لأجلي وحلمتي همومي فوق همك هما، يامن كنتي لي الام والأب والاخ والسند والرفيق في مسيرتي والأنيس في وحدتي. تبعثرت حروف كلماتي امام وصفك يا أطهر قلب فليس باليد حيلة كي أرد جمالك سوى أن أتوج بتاج العلم أمام ناضرك أمي عائشة. واما عن أبي الذي لست من صلبه ولكنني من قلبه، أي وصف يكفيك يا حبيب القلب ورفيق الروح لم تكن يوما أبي بل كنت أعظم من ذلك انت الأخ والصديق والسند، انت الكفاية من كل شيء لم أحتج لشيء او لأحد في وجودك فأنت مراد وكنت مرادي دوما ولم يكن لك مطلب سوى أن أبلغ من العلم ما كتبه الله لي وأنا على وعدي ما حييت. فلة وما أجمله من اسم يتعطر به اللسان أمي التي عشت أجمل الشهور في أحشائها، ويا لها من نعمة ان تكوني أمي. بالنسبة لي دوما كنتي المرأة العظيمة التي ضحت بفلذة كبدها لعيون أختها فلا كلاما يوافيك ولا فعلا يجازيك سوى أن أقول كم أنا فخور بكونك أما لي. وأما عن الذي أتيت من صلبه، توفيق. رزقك الله من خير الدنيا والآخرة وجزاك كل خير أنك كنت لنا الأب والعون، لظالما اردت لنا كل خير وسعيت لتكمل نقصنا ومهما فعلنا لن نرد جميلك أبدا.

أما اخوتي كل باسمه فلا كلام يوافي حبه في قلبي. وليد، سامي، محمد. ثلاثة أسماء أستغني بهم عن الدنيا وما فيها فهل بعد حب الأخ حب.. رزق من الله على هيئة بشريكفيني بالدنيا سماع ضحكهم ورؤية عيونهم المليئة بالفخري. يشهد الله أنكم قطعة من قلبي بلا والله أنكم القلب كله والروح والفؤاد حفظكم الله ورعاكم وأدامكم ضلعا ثابت لا يميل.

الحمد لله على عائلتي التي كانت لي السند دائما، فأني نخر بعد نفري بكم وأي كلام يكفيني في وصفكم.

الحمد لله على نعمة الأصدقاء والأرواح الطيبة الطاهرة، التي تكون معنا من غير مصلحة بل كانت لنا تحفيزا للتقدم شكرا لكل

صديقة عرفتها. شكرا لكل شخص مد يد العون لي في هذه الرحلة ولم أذكره سهوا مني.

وأخيرا وليس آخرا أختهم اهدائي بالشكر لرفيقات الكفاح سماح، لبنة وفاطمة. وبحمد الله حمدا كثيرا طيبا مباركا فيه. أنا لكم الله من سعادتني وفرحتي أضعاف مضاعفة فلا فرحة تضاهي فرحة النجاح.

زهوان أميرة يسمين



## *Dédicace*

*D'abord, je remercie ALLAH qui ma donné la volanté et la patience pour réaliser ce travail*

*Je dédie ce mémoire à mes chers parents avec toute ma reconnaissance pour leur amour, leur soutien, leurs sacrifices, et pour tous les efforts qu'ils ont fait pour moi.*

*A mes chers frères; **Abd El kaddousse** et **Mammar**, ma sœur **Yasmine** et son fils **Ouassim**, vous m'avez soutenu tout au long de mon parcours.*

*A ma source de volontéet du courage tout au long de la préparation de ce travail mon mari **Noureddine** et sa famille surtout ses parents.*

*A mes amies; **Djihane**, **Imane** et **Khaoula** qui m'ont accompagnées durant tout mon chemin scolaire.*

✍️ LOBNA



## Dedicace

### بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

(... وَ آخِرُ دَعْوَاهُمْ أَنِ الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ)

الحمد لله ملء السموات والأرض وما بينهما نشكره سبحانه وتعالى على منحه نعمة العقل والأمل والصبر والصلاة والسلام على أشرف المرسلين وبعده.

من قال : أنالها نالها

لم تكن الرحلة قصيرة لا ينبغي لها أن تكون لم يكن الحلم قريبا ولا الطريق كان محفوفا بالتسهيلات لكنني فعلتها و نلتها ها أنا اليوم أختم بحث تخرجي بكل همة ونشاط فالحمد لله اللهم لا تجعله آخر عهدي من العلم واجعله خير بداية لطريق أعظم.

أهدي هذا النجاح لنفسى أولا و إلى قوتي بعد الله وداعمي الأول إلى من آمن بقدراتي رغم عجزى و ضعفى و وقف خلفي كظلي أبى عمار أهديك تخرجي و الحمد لله اصطفاك لي من بين البشر أبا يا خير سند و قوة و إلى من كانت بجوارى دون ملل أو كلل إلى من كانت كتف لا يميل وإن مالت الدنيا ، إلى ملاكى الطاهر أمى العطرة حوامد أهدى تخرجي. و إلى من كانا بمثابة الأبوين و خير سند : العم عثمان و الخال العيد ودادا فطيمة.

إلى من قيل فيهم سنشد عضدك بأخيك إلى خيرة أيامى و صفوتها إلى من مدت لي أياديهم وقت ضعفى و آمنوا بقدراتى إلى ضلعي الثابت و أمان أيامى إخوتى (عبد الجبار. مسعودة.زهرة. بشرى. آية )

إلى من جمعهم معى صلة الرحم و كل عائلتى احميميد و حوامد

إلى من ساندنى بكل حب عند ضعفى و أزاحوا عن طريقي المتاعب أصدقائى و إخوتى الذين لم تنجبهم أمى (بشير احميميد، زاهى، ميمونة بن لشهب، هناء صبر قلوب عبد الكريم).

كما لا أنسى الذين شاركونى خطوات هذا الطريق إلى من هونوا تعب هذه الأيام من شجعونى على المتابعة و إكمال المسيرة إلى رفقاء السنين ممتنة لكم (سماح بن قلبية، فاطمة بن لشهب يقين دربهم إبراهيم ضيف).

إلى صاحب فضل بعد الله تعالى لنجاحى و وصولى إلى ما أنا عليه الآن الأستاذ عبد الحميد دقعة حفظه الله ورعاه.

إلى من سعتهم ذاكرتى و لم تسعهم مذكرتى إلى من حفظهم القلب و نسيهم القلم.

و أحب أن أختم الإهداء إلى من شاركنى هذا العمل أصحاب الفضل العظيم الدكتورة همامى هادية رفيقتنا طوال إنجاز مذكرة التخرج والشكر خاص للدكتور والمشراف زعتر عبد المالك

و أخيرا من قال أنا لها نالها و أنا لها إن أبت رغما عنها أتيت بها ، ما كنت لأفعل هذا لولا توفيق من الله ها هو اليوم العظيم هنا. اليوم الذى أجريت سنوات الدراسة الشاقة حافلة حتى تواتت بمنه و كرمه لفرحة التمام. الحمد لله الذى به خيرا وأملا و أغرقنا سرورا و فرحا و ينسينى مشقتى

## *Résumé*

## Résumé

Au cours de ce travail, les polyphénols contenus dans les quatre Asteraceae *Brocchia cinerea* (Del.) et *Matricaria pubescens* (Desf.), *Launaea resedifolia* O.K et *Launaea glomerata* (Coss). Hook et à travers l'étude des extraits MeOH pour les quatre Plantes.

Les analyses chromatographiques HPLC effectuées sur les extraits ont montré, qualitativement et quantitativement, leur richesse en composés phénoliques notamment les flavonoïdes de différentes classes. La mise en évidence et l'évaluation de l'activité antioxydante de ces échantillons, ont été réalisées par deux tests, couramment utilisés dans ce domaine. Le premier qui utilise le radical libre 2, 2-diphényl-2 - picrylhydrazyle (DPPH) et le FRAP a été le deuxième en utilisant 2, 4, 6-tris (2-pyridyl)-1, 3, 5-s-triazine (TPTZ). Le test DPPH a révélé que *B. cinerea* avec  $IC_{50}=0.467\text{mg/ml}$  à piéger les radicaux libres que les autre échantillons, le test FRAP a montré que *Launaea resedifolia* O.K une capacité à réduire le fer élevée pare contre les quatre échantillons.

Les tests antibactérienne effectués dans ce travail ont montré un effet antimicrobien appréciable des plantes étudiées *B.cinereasur* *M. pubescens*et, les souches bactérienne : *Pseudomonas Aeruginosa* Gram-, *Staphulococcus aureus* et *Bacillus subtiliis* Gram+.

Mots clés : *Matricaria pubescens*, *Brocchia cinerea*, polyphénols, *Launaea resedifolia* O.K *aunaea glomerata* (Coss). Hook, flavonoïdes, activité antioxydants. Antibactérienne.

**Abstract**

During this work, the polyphenols contained in the four Asteraceae *Brocchia cinerea* (Del.) and *Matricaria pubescens* (Desf.), *Launaea resedifolia* O.K and *Launaea glomerata* (Coss). Hook and through the study of MeOH extracts for the four Plants.

The HPLC chromatographic analyses carried out on the extracts showed, qualitatively and qualitatively, their richness in phenolic compounds including flavonoids of different classes. The highlighting and evaluation of the antioxidant activity of these samples were carried out by two tests, commonly used in this field. The first one using the free radical 2, 2-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) and FRAP was the second one using 2, 4, 6-tris (2- pyridyl)-1, 3, 5-s-triazine (TPTZ). The DPPH test revealed that *B. cinerea* with  $IC_{50} = 0.467\text{mg / ml}$  to scavenge free radicals than the other samples, the FRAP test showed that *Launaea resedifolia* O.K a high iron reducing capacity against the four samples. The antibacterial tests carried out in this work showed an appreciable antimicrobial effect of the studied plants *B.cinerea* and *M. pubescens*, the bacterial strains: *Pseudomonas Aeruginosa* Gram- , *Staphulococcus aureus* and *Bacillus subtilis* Gram + . Keywords: *Matricaria pubescens*, *Brocchia cinerea*, polyphenols, *Launaea resedifolia* O.K *Launaea glomerata* (Coss). Hook, flavonoids, antioxidant activity. Antibacterial.

**Keywords:** *Artemisia Campestris*. L, *Pistacia lentiscus* oil, burns, wounds, healing, Phytochemical Screening, Antibacterial Activity

## المخلص

من خلال هذا العمل تم استهداف المركبات الفينولية المتعددة الموجودة في النباتات الأربعة Asteraceae *Brocchia cinerea* (Del.) Et *Matricaria pubescens* (Desf.), *Launaea resedifolia* O.K et *Launaea glomerata* (Coss). Hook

أظهرت نتائج تحليل الكروماتوغرافيا سائل عالية الأداء HPLC أن جميع المستخلصات غنية بالمركبات الفينولية بما في ذلك الفلافونويدات من فئات مختلفة. أما تقييم الفاعلية المضادة لأكسدة العينات فقد أجري باستعمال اثنين من الاختبارات كثيرة الاستخدام أولاً اختبار DPPH باستعمال الجذور الحرة، 2, 2-diphényl-2 – picrylhydrazyle والثاني اختبار FRAP لإرجاع ثلاثي الحديد المستخدم ل 2, 4, 6-tris (2-pyridyl)-1, 3, 5-s-triazine (TPTZ).

أظهر اختبار DPPH أن عينة *Brocchia cinerea* (Del.) لها فاعلية مضادة للأكسدة قوية مع  $IC_{50}=0.467\text{mg/ml}$  مقارنة بالعينات الأخرى، كما أظهرت نتائج FRAP أن عينة *Launaea resedifolia* O.K لها قدرة أكبر على إرجاع الحديد مقارنة بالعينات الأخرى

تقييم الفاعلية ضد البكتيريا أظهر وجود تأثير للنباتات على السلالات البكتيرية المختبرة *Pseudomonas Aeruginosa* Gram-, *Staphulococcus aureus* et *Bacillus subtiliis* Gram+.

**الكلمات المفتاحية:** Asteraceae *Brocchia cinerea* (Del.) *Matricaria pubescens* (Desf.), *Launaea resedifolia* O.K et *Launaea glomerata* (Coss). Hook المتعددة، الفعالية المضادة للأكسدة، الفاعلية المضادة للبكتيريا.

## Liste des abréviations

Abréviations	Désignation
BHA	Tertiobutyl hydroxyanisole
BHT	tertiobutyl hydrox toluene
Céq	Concentration equivalent
CCM	Chromatographie sur Couche Mince
DPPH	1,1- diphenyl-2-pierylhydrazyl
ERO	Espèce Réactive de l'Oxygène
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power
FVT	flavonoïdes totaux
HPLC	Chromatographie liquide de haute performance
PPM	PhosPhoMolybdate
PPT	polyphénols totaux
TPTZ	2,4,6-tris(2-pyridyl)-1,3,5-s-triazine
UV	Ultra Violet
IP%	Pourcentage d'inhibition
MeOH	Méthanol
R%	Rendement
UV/Vis	Spectrophotométrie Ultraviolet- Visible
Rf	Facteur de retard
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
CHS	Chalcone Synthase

## Liste des Figures

Figures	Titre	Pages
Figure 01	photo de la plante <i>Brocchia cinerea</i> (Vis.)	5
Figure 02	répartition géographique de la plante dans le nord Africain [4].	6
Figure 03	photo de la plante <i>Matricaria pubescens</i> (Desf ).	9
Figure 04	.répartition géographique de la plante dans Algeria	10
Figure 05	photo de la plante <i>Launaea Resedifolia</i>	13
Figure 06	photo de la plante <i>Launaea glomerata</i> .	15
Figure 07	Distribution géographique de <i>Launaea glomerata</i> [29].	16
Figure 08	Exemples structurales de polyphénols.	18
Figure 09	Structure de base des flavonoïdes	22
Figure 10	Voie biosynthétique des flavonoïdes.	23
Figure 11	les deux bandes d'absorption des flavonoïdes.	27
Figure 12	Éléments structuraux essentiels d'un flavonoïde actif et stable.	30
Figure 13	Structures de quelques antioxydants synthétiques	34
Figure 14	Réaction et transformation du Fe <sup>+3</sup> – TPTZ en Fe <sup>+2</sup> - TPTZ	36
Figure 15	Équation du radical DPPH transformé en DPPH	36
Figure 16	Les échantillons conservés dans des conditions favorables	44
Figure 17	Les échantillons avant et après séchage lors de l'étape d'extraction	46
Figure 18	La solution d'extrait après l'addition du réactif pour le dosage.	47
Figure 19	Chromatographie en phase liquide à haute performance.	49
Figure 20	Réduction du radical libre DPPH	51
Figure 21	Particule TPTZ <sup>+</sup> Fe <sup>3+</sup> .	52
Figure 22	Courbe d'étalonnage de l'acide Gallique (polyphénols)	57
Figure 23	Courbe d'étalonnage de Quercitine (flavonoïde)	59
Figure 24	Composition en composés phénoliques des différents extraits	60
Figure 25	chromatogramme du mélange des étalons.	61
Figure 26	chromatogramme d'extrait <i>Brocchia cinerea</i> Vis	62
Figure 27	chromatogramme d'extrait <i>Launaea glomerata</i> (Coss). Hook	63
Figure 28	chromatogramme d'extrait <i>Matricaria pubescens</i> (desf) Schultz	63
Figure 29	chromatogramme d'extrait <i>Launaea resedifolia</i> O.K	64
Figure 30	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique(PPM).	65

Figure 31	Launaea resedifolia O.K	68
Figure 32	Matricaria pubescens (desf) Schultz	68
Figure 33	Launaea glomerata (Coss). Hook	68
Figure 34	Brocchia cinerea Vis	68
Figure 35	Courbe d'étalonnage d'acide sulfurique.	69

## Liste des tableaux

N°	Intitulés	Pages
01	classification systématique de <i>Brocchia cinerea</i> (Vis.).	5
02	métabolites secondaires isolées de <i>Brocchia cinerea</i> (Vis.)	7
03	classification systématique de <i>Matricaria pubescens</i> (Desf)	10
04	classification systématique de <i>Launaea Resedifolia</i>	13
05	classification systématique de <i>Launaea glomerata</i>	15
06	Exemples de classes des polyphénols.	19
07	Quelques propriétés des polyphénols	21
08	Principales classes des flavonoïdes	24
09	La relation entre R <sub>f</sub> et la structure flavonique.	26
10	Relation entre la fluorescence sous lumière de Wood et les structure flavoniques	26
11	Position des bandes I et II en fonction du type de flavonoïdes	28
12	Exemples de propriétés biologiques des flavonoïdes.	29
13	Relation structure-fluorescence des flavonoïdes.	30
14	Zones de prélèvement d'échantillons.	43
15	Les rendements des extraits de quatre échantillons.	56
16	Taux en polyphénols totaux des différents extraits	58
17	Teneur en flavonoïde totaux des différents extraits	59
18	Composés phénoliques identifiés dans les étalons	62
19	Composés phénoliques identifiés dans les extraits	64
20	Résultat de Test d'évaluation Activité antioxydant totale	66
21	Résultats du test DPPH (mg/ml)	67
22	Résultats du test FRAP (mg/g)	69
23	Diamètres des zones d'inhibition (mm) des extraits des échantillons.	70

## Sommaire

Remerciement .....	
Dédicace.....	
Dédicace.....	
Dédicace.....	
Résumé .....	
Liste des abréviations.....	
Liste des Figures .....	
Liste des tableaux .....	
Sommaire .....	
INTRODUCTION.....	
Introduction .....	1

### PARTIE 01: BIBLIOGRAPHIQUE

#### Chapitre I: Description des plantes étudiées

I. Description des plantes étudiées .....	5
I.1. L'espèce <i>Brocchia cinerea</i> (Vis.).....	5
I.1.1. Description Botanique de <i>Brocchia cinerea</i> Vis : .....	5
I.1.2. Classification systématique :.....	5
I.1.3. Répartition géographique de l'espèce. ....	6
I.1.4. Usages traditionnels. ....	7
I.1.5. Travaux antérieurs sur l'espèce <i>Brocchia cinerea</i> (Vis.). ....	7
I.1.5.1. Du point de vue composition chimique.....	7
I.1.5.2. Du point de vue potentiel biologique. ....	8
I.2. L'espèce <i>Matricaria pubescens</i> (Desf). ....	9
I.2.1. Description botanique .....	9
I.2.2. Classification systématique.....	10
I.2.3. Répartition géographique de l'espèce. ....	10
I.2.4. Usages traditionnels. ....	11
I.2.5. Travaux antérieurs sur l'espèce <i>Matricaria pubescens</i> (Desf.) .....	11
I.2.5.1. Du point de vue composition chimique.....	11
I.2.5.2. Du point de vue potentiel biologique. ....	12
I.3. L'espèce <i>Launaea Resedifolia</i> O.K. ....	12
I.3.1. Description botanique .....	12

I.3.2. Classification systématique.....	13
I.3.3.Répartition géographique de l'espèce.....	13
I.3.4.Etudes antérieures: .....	14
I.4.L'espèce <i>Launaea Resedifolia</i> .....	14
I.4.1. Description botanique de <i>Launaea glomerata</i> .....	14
I.4.2. Classification systématique:.....	15
I.4.3. Répartition géographique de l'espèce :.....	15
I.4.4. Usage traditionnel : .....	16
I.4.5. Travaux antérieurs sur l'espèce <i>Launaea glomerata</i> (coss), HOOK :.....	16

## Chapitre II:L'activité biologique

<i>I. Les composés phénoliques</i> : .....	18
I.1.Généralités.....	18
I.2.Classements des polyphénols.....	18
I.3.Propriétés biologiques des polyphénols .....	20
I.4.Les flavonoïdes.....	21
I.4.1. Définition et structure chimique.....	21
I.4.2. Biosynthèse des flavonoïdes.....	22
I.4.4. Identification des flavonoïdes .....	25
I.4.4.1. Techniques d'identification de structure.....	25
I.4.4.2. Identification spectrale.....	27
I.4.5. Activités biologiques des flavonoïdes.....	29
I.4.6.1. Relation activité-structure dans les flavonoïdes :.....	29
I.4.6.2. Relation structure-fluorescence dans les flavonoides .....	30
<i>II. Activité antioxydant</i> .....	30
II.1.Généralités:.....	31
II.2. origine et production des radicaux libres.....	31
II.2.1.Définition des radicaux libres.....	31
II.2.2. Nature des radicaux libres.....	32
II.2.2.1.Les radicaux libres oxygénés.....	32
II.2.2.2.Les radicaux libres non oxygénés.....	32
II.2.3. Stress oxydatif.....	32
II.3. Les antioxydants.....	33
II.3.1. Définition.....	33
II.3.2. Classification des antioxydants selon la nature chimique.....	33

II.3.3.Principaux antioxydants. ....	34
II.3.4. Mécanismes d'action des antioxydants .....	34
II.3.5. Principaux tests d'activité antioxydant.....	35
II.3.5.1. Méthode de réduction de Fer (FRAP) :.....	35
II.3.4.2. Inhibition du radical stable DPPH. ....	35
<i>III. Activité antimicrobienne.....</i>	<i>36</i>
III.1. Introduction.....	36
III.2. Les antibiotiques.....	37
III.3. Les alternatifs naturels.....	37
III.4. Méthode d'évaluation de l'activité antimicrobienne.....	38
III.4.1. Méthode de diffusion en milieu solide.....	38
III.4.2. Méthode du micro dilutions en milieu solide.....	38

## **DEUXIÈME PARTIE:PARTIE EXPÉRIMENTALE**

### **Chapitre I:Matériel et méthodes**

<i>III. Matériels et méthodes:.....</i>	<i>41</i>
III.1. Matériels : .....	41
III.1.1.Matériels de laboratoire :.....	41
III.1.2.Matériels végétale:.....	42
III.1.2.1. Echantillonnage et description : .....	42
III.1.2.2.Préparation des échantillons secs. ....	43
III.2.Méthodes.....	43
III.2.1. Protocole utilisé pour l'extraction des composés phénoliques.....	44
III.2.1.1.Définition d'extraction.....	44
III.2.1.2.L'extraction solide-liquide.....	44
III.2.2.Dosage des composés phénoliques par les méthodes colorimétriques « Analyse qualitative.....	45
III.2.2.1.Dosage des polyphénols totaux (PPT).....	45
III.2.2.2.Dosage des flavonoïdes totaux (FVT).....	46
III.2.3.Technique chromatographie <<Analyse quantitative>>.....	46
III.2.3.1.Chromatographie liquide de haute performance (HPLC).....	47
III.2.3.2.Appareillage.....	47
III.2.3.3.Les conditions opératoires .....	48
III.2.4.Evaluation de l'activité antioxydant des extrais des échantillons.....	48
III.2.4.1.Les méthodes spectrophotométrie.....	49

III.2.5.Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion par disque :	52
.....	52

## **Chapitre II:Résultats et discussion**

<i>IV. Résultats et discussion:</i> .....	54
IV.1 Rendement d'extraction des composés phénoliques : .....	54
IV.2. Dosage des composés phénoliques par la méthode colorimétrique : .....	54
IV.2.1. Evaluation des concentrations équivalentes:.....	55
IV.2.2. Quantification des polyphénols totaux (PPT) : .....	55
IV.2.3. Quantification de flavonoïde total (FVT) : .....	56
IV.3. Composition en composés phénoliques des différents extraits : .....	58
IV.4. Technique d'analyse chromatographique HPLC.....	58
IV.4.1. Chromatogrammes des étalons : .....	59
IV.4.2. Analyses par HPLC des extraits : .....	60
IV.5. Evaluation d'activité antioxydant: .....	62
IV.5.1. Evaluation d'AAO par la méthode spectrophotométrie:.....	62
IV.5.1.1. Test d'évaluation d'activité antioxydant totale (PPM): .....	63
IV.5.1.2. Test du 2-diphényle-1-picrylhydrazyl (DPPH•) :.....	64
IV.5.1.3. Test de réduction d'ion fer (FRAP) :.....	66
IV.6.Evaluation de l'activité antibactérienne.....	68
<b>Conclusion générale</b> .....	<b>71</b>
<b>Références</b> .....	<b>74</b>
<b>Annexe</b> .....	<b>84</b>

# *INTRODUCTION*

### **Introduction**

Depuis les temps les plus reculés, l'homme a trouvé dans la nature et particulièrement, chez les plantes des solutions à ses problèmes quotidiens : de santé, lutte contre les prédateurs, conservation de la nourriture, etc.

Au fil des années, il a pu rassembler des connaissances importantes sur certaines plantes, basées sur des observations et des pratiques traditionnelles.

La découverte des produits synthétiques tels que les antibiotiques, les antioxydants, insecticides ....etc, a provoqué le déclin de la thérapie à base de plantes et l'a reléguée à un rang secondaire, cependant, la résistance des micro-organismes pathogènes à de tels médicaments ou encore les effets nocifs de tels conservateurs ont obligé les scientifiques de différentes disciplines à faire recours aux plantes médicinales et aromatiques pour découvrir des alternatives naturels bioactifs.

L'immensité du territoire Algérien, sa situation géographique particulière et par conséquent, des conditions climatiques très variées, ont permis l'apparition de plusieurs types de flore, entre autres la flore saharienne qui est caractérisée par des plantes spontanées très appréciées et très répandues en médecine traditionnelle dans ces régions. Néanmoins, leur connaissance et leurs utilisations restent au niveau de certaines tribus sahariennes.

Notre contribution dans la valorisation de ces plantes, porte sur l'étude phytochimique de quatre espèces entre elles, *Brocchia cinerea* (Vis.), *Matricaria pubescens* (Desf.), *Launaea glomurata* (Coos) Hook et *Launaea resedifolia* O.K connues, pour leurs applications, dans tout le Sahara algérien. Cependant, leurs compositions chimiques, notamment en métabolites secondaires, restent encore méconnues.

La complexité et la diversité des produits de ce métabolisme rend la tâche de leur caractérisation très difficile, mais possible grâce aux progrès scientifiques réalisés dans le domaine des techniques d'analyse. [1].

Les Asteraceae avec environ 25 000 espèces est considérée l'une des plus grandes familles dans le règne végétal. Plus de 5 000 espèces ont fait l'objet d'études phytochimiques dont environ 7 000 constituants ont été isolés et identifiés, cette famille est certainement la plus étudiée [2].

## Introduction

---

Ces composés appartiennent à différentes classes chimiques, mais parmi ceux qui sont considérés caractéristiques pour les Asteraceae, nous citons : les polyacétylènes [3, 4] les flavonoïdes [5-6] et les lactones sesquiterpéniques, d'après (F. C. Seaman) [7] les Asteraceae ont une tendance particulière pour l'accumulation de ce dernier type de substances [8].

Ces principaux constituants chimiques des Asteraceae expliquent la diversité de leurs activités pharmacologiques [9].

Quatre plantes de la famille des Asteraceae ont été ciblées et l'activité antioxydant et l'activité antibactérienne de chacune d'entre elles ont été mesurées.

### ❖ 1 ère Partie :

Dans laquelle une synthèse bibliographique est faite sur :

✚ Les quatre espèces « *Matricaria pubescens* (Desf.) », « *Brocchia cinerea* », « *Launaea glomurata* (Coos) Hook » et « *Launaea resedifolia* O.K ».

✚ Les produits naturels ciblés.

✚ Les activités antioxydant et antibactérienne.

### ❖ 2ème partie :

Elle est constituée des étapes expérimentales suivies dans cette étude dans cet ordre :

✚ Extraction des polyphénols.

✚ Dosage des polyphénols, des flavonoïdes.

✚ Evaluation de l'activité antioxydante par deux méthodes, la réduction de fer (FRAP) et le piégeage du radical libre DPPH.

✚ Evaluation de l'activité antimicrobienne.

*PARTIE 01*

*BIBLIOGRAPHIQUE*

*Chapitre I*

*Description des plantes*

*étudiées*

## I. Description des plantes étudiées

### I.1. L'espèce *Brocchia cinerea* (Vis.)

#### I.1.1. Description Botanique de *Brocchia cinerea* Vis :

*B. cinerea* est une plante annuelle herbacée laineuse de 5- 15 cm complètement, tomenteuses. Les feuilles et les tiges vert blanchâtre sont recouvertes de poils minuscules épais. Ses tiges sont dressées ou diffuse, ses fleurs toutes en tubes et ses feuilles sont d'épaisseur divisée à une partie supérieure avec deux ou trois segments, en la tige de la branche supérieure il y a des inflorescences jaunes. Cette plante se développe dans des conditions désertiques (végétales xérophiiles) et favorise les sols de sable limoneux [10], [11].



Figure 01 : photo de la plante *Brocchia cinerea* (Vis.)

#### I.1.2. Classification systématique :

Tableau 01 : Classification systématique de *Brocchia cinerea* (Vis.) [12].

<b>Embranchement</b>	<b>Spermaphyta</b>
<b>S/embranchement</b>	<b>Angiospermes</b>
<b>Classe</b>	<b>Dicotylédones</b>
<b>Ordre</b>	<b>Asterales</b>

<b>Famille</b>	<b>Asteraceae</b>
<b>Tribu</b>	<b>Anthemideae</b>
<b>Genre</b>	<b>Brocchia (syn: Cotula)</b>
<b>Espèce</b>	<b>Brocchia cinerea Vis.</b>
<b>Nom vernaculaire</b>	<b>Chihia</b>

### I.2.3. Répartition géographique de l'espèce.

L'espèce *Brocchia cinerea* (Vis.) est très rencontrée dans tout le Sahara, elle pousse dans les ergs et les sols peu ensablés, c'est une espèce saharo-arabique plus fréquente au Sahara septentrional qu'au Sahara central. On la voit au niveau des points d'eau. Dans la région de Ouargla, elle est retrouvée à Oued Zouzfana, Oued M'zab, Bamendil, où elle est connue sous le nom de chouihia (ou parfois chihia). *Brocchia cinerea* (Vis.) est aussi connue dans les régions sahariennes du Maroc et d'Égypte. La carte sur la figure 02 montre la répartition de cette espèce dans les pays du nord d'Afrique [12].

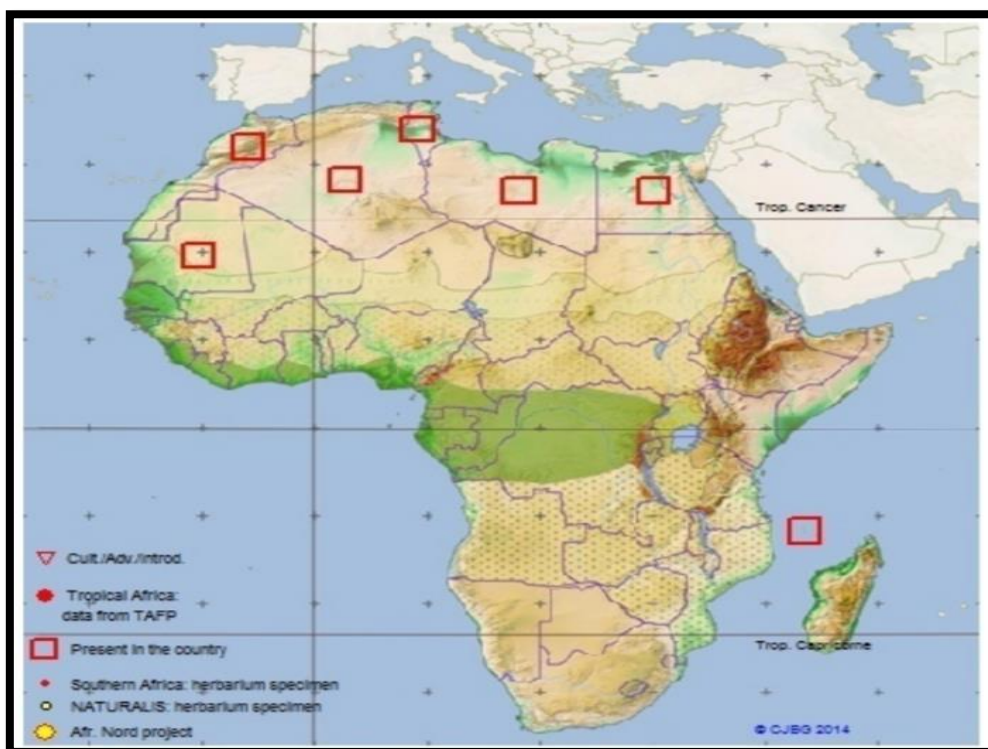


Figure 02 : répartition géographique de la plante dans le nord africain [13].

#### I.1.4. Usages traditionnels.

Brocchia cinerea est citée parmi les plantes médicinales les plus utilisées par la population locale saharienne, en raison de ses vertus médicinales. Elle est utilisée pour traiter les douleurs d'estomac, la fièvre, les maux de tête et migraines, la toux et l'inflammation des articulations. Elle présente des propriétés biologiques très variées, citons entre autres l'activité : anti-inflammatoire, analgésique, antiseptique, antibactérienne, antipyrétique. Elle est très appréciée par les habitants des régions sahariennes, ils l'ajoute à leur boisson de thé vert pour la parfumer aussi elle est additionnée à certaines nourritures pour rehausser la saveur [12]

#### I.1.5. Travaux antérieurs sur l'espèce Brocchia cinerea (Vis.).

##### I.1.5.1. Du point de vue composition chimique.

Le rattachement de Brocchia cinerea à la famille des Asteraceae et plus particulièrement à la tribu des Anthemideae, une des tribus les plus étudiées [14], lui confère une composition chimique appréciable dont les plus caractéristiques sont les flavonoïdes, les lactones sesquiterpéniques et les polyacétylènes [15]. Cette espèce en tant que plante aromatique renferme une huile essentielle très odorante. Deux études ont ciblé sa composition volatile; une réalisée sur l'espèce Egyptienne [16] et l'autre sur l'espèce Marocaine [17]. Le tableau (02) résume les travaux phytochimiques antérieurs réalisés sur Brocchia cinerea ainsi que les composés chimiques isolés de cette espèce.

**Tableau 02 : métabolites secondaires isolées de Brocchia cinerea (Vis.)**

Origine/ Parties utilisées.	Composés isolés	Réf.
<b>Egypte/parties aériennes</b>	kaempféritine, quercétrine, et kaempférol. Luteoline, 7-glucosyl luteoline, 7-diglucosyl luteoline, 7-glucosyl quercétine, 3,6,7-triméthyl quercétagétine, 7-O- $\beta$ -D-di-glucoside luteoline, 6-hydroxy-7-O- $\beta$ -D glucosid luteoline, apigénine 7-O- $\alpha$ -L-rhamnoside. 3-O- $\beta$ -D- glucoside quercétine, 3- O- $\beta$ -D-galactoside, 7-O- $\beta$ -D-glucoside,	[18] [19]

	quercétine, 5,3',4'-trihydroxy 3,6,7-trimethoxyflavone.	
<b>Algérie/ Parties aériennes</b>	Apigénine, 7-glucosyl apigénine, 6-hydroxy luteoline, pedalitine (6-hydroxy-7-methoxy luteoline), isokaempferide (3-méthyl kaempférol), 3-méthyl quercétine, 7-glucosyl-3-méthyl quercétine, 3,6-diméthyl quercétagétine, 3-glucosyl isorhamnétine, 7-di-glucosyl-3,6-diméthyl quercétagétine, 7-glucosyl luteoline / tatrudin A	[20] [21]
<b>Egypte /racines</b>	farnochrol, acétyldrimartol A, acétyldrimartol B, scopofarnol, drimartol A, pectachol.	[22]
<b>Egypte/ parties aériennes</b>	13 lactones sesquiterpéniques (les structures sont présentées dans le chapitre III)	[23]
<b>Egypte</b>	5 lactones sesquiterpéniques (les structures sont présentées dans le chapitre III)	[24]

### I.1.5.2. Du point de vue potentiel biologique.

La richesse de l'espèce en métabolites secondaires et sa large utilisation en médecine traditionnelle, laissent penser à un potentiel biologique très intéressant pour cette plante. En effet, différents extraits (n-butanol, éther diéthylique, l'acétate d'éthyle et du chloroforme) issus de *Brocchia cinerea* (Vis.) Marocaine ont été investigués, l'extrait alcoolique et celui de l'acétate ont montré une activité antibactérienne importante vis-à-vis des différents micro-organismes testés, ce qui est en concordance avec une étude réalisée sur cette espèce originaire d'El-oued (Algérie). D'autres investigations marocaines ont attribué à la plante des activités biologiques très intéressantes, citons entre autres: l'activité analgésique, fébrifuge, molluscicide et l'activité larvicide. L'activité antifongique de *Brocchia cinerea* (Vis.) a été évaluée dans l'étude dont l'huile essentielle a présenté des MIC (concentration inhibitrice minimale) variant entre 3.2 et 4.7 mg/ml. [12].

## I.2. L'espèce *Matricaria pubescens* (Desf).

### I.2.1. Description botanique

*Matricaria pubescens* est une petite plante, de 10 à 20 cm, rarement de 40 cm. (Makhloufi et al. 2012), à tiges couchées puis redressées, nombreuses, en touffes, à feuilles découpées velues et d'un vert sombre; involucre à bractées ayant une marge membraneuse large, fleurs toute en tubes; achaines surmonté d'une écaille membraneuse plus longue que lui, rejetées sur un côté et ayant l'aspect d'une ligule ; commun dans tout le Sahara septentrional et central. C'est une espèce endémique très connue en Afrique du Nord [25]. C'est une plante pubescente à racine de 5-15 cm, à tiges décombantes, feuilles pubescentes et pinnatifides, capitules très petits (5 à 7 mm de diamètre), pédoncules non épaissis au sommet, bractées de l'Involucre amplement scarieuses-lacérées tout autour. Akènes jaunâtres, munis d'une collerette déjetée sur le côté et aussi longue qu'eux, triangulaires et à faces courbes (face antérieure convexe, deux faces latérales concaves), lisses, pâturages steppiques et désertiques. [26].

**Synonymes :** -*Chlamydophora pubescens* -*Cotula pubescens*.

**Noms vernaculaires :** -Ghartoufa - Filia - Ouazouza Anglais : Hairy camomile.



Figure 03: photo de la plante *Matricaria pubescens* (Desf ).

### I.2.2. Classification systématique.

**Tableau 03 : classification systématique de *Matricaria pubescens* (Desf ).**

<b>Embranchement</b>	Spermaphyta
<b>S/embranchement</b>	Angiospermes
<b>Classe</b>	Monocotylédones
<b>Famille</b>	Asteraceae
<b>Tribu</b>	Athemideae
<b>Gener</b>	Matricaria
<b>Espèce</b>	<i>Matricaria pubescens</i> Desf

### I.2.3. Répartition géographique de l'espèce.

*Matricaria pubescens* (Desf.) Appelée aussi camomille du Sahara, son nom vernaculaire est « Garetoufa » ou encore « Ouazouza ». C'est une espèce endémique nordafricaine, elle est largement distribuée dans tout le Sahara algérien. Au Sahara Occident, Maroc, Tunisie et la Libye. Elle est rencontrée dans les dépressions argilo sableuses et les lits d'oued [27,28].



**Figure 04:..répartition géographique de la plante dans Algeria**

#### **I.2.4. Usages traditionnels.**

*Matricaria pubescens* (Desf.) appartient à la flore spontanée saharienne, elle est très appréciée par les habitants des régions sahariennes, l'espèce est très connue pour ses nombreuses vertus thérapeutiques, ces derniers sont mis à profit par les habitants des régions sahariennes où elle pousse en abondance. [29].

Ils l'utilisent dans la plupart du temps sous forme de décoction, par voie orale ou locale, aussi mélangée au beurre local « d'han » pour traiter les maladies suivantes [30, 31]:

Maladies du système ostéo-articulaire et des muscles: rhumatisme, courbatures, refroidissements, douleurs articulaires. Maladies de l'appareil génital féminin : dysménorrhée. Maladies broncho-pulmonaires

Toux (Comme expectorant et béchique). Asthme. Maladies du nourrisson et du jeune enfant: syndrome d'éruption dentaire. Rougeole. Antiseptique oculaire. Maladies de la peau et des tissus sous cutanées: dermatoses, urticaire

Les utilisations de *Matricaria pubescens* (Desf.) ne semblent pas être limitées, cette espèce occupe une place de prestige dans la cuisine saharienne, en fait, la poudre végétale issue de ses parties aériennes, soigneusement sélectionnées et séchées est ajoutée à la soupe locale « l'hsa », elle lui donne une odeur agréable. Les habitants de ces régions se servent également de ces parties comme filtre, à travers lequel ils font passer le beurre de chèvres fondu ce qui lui transmet un arôme agréable et aide à le mieux conserver. Economiquement, La plante entière est recueillie fraîche au printemps, et commercialisée à grande échelle dans les marchés de plusieurs oasis (Ouargla, Béchar, El Goléa et Djan).

#### **I.2.5. Travaux antérieurs sur l'espèce *Matricaria pubescens* (Desf.)**

##### **I.2.5.1. Du point de vue composition chimique**

Des travaux de recherche réalisés sur l'espèce *Matricaria pubescens* (Desf.) ont permis d'isoler des flavonoïdes, amides, coumarine et terpènes, ainsi que certaines activités biologiques.

L'investigation des parties aériennes de *Matricaria pubescens* originaire de « Ghardaia » a permis d'obtenir une huile essentielle caractérisée par la présence de l'isochrysanthemoate d'éthyle (26.5%), spathulenol (19.4%),  $\alpha$ -cadinol (12.9%) et geranylisovalerate (8.2%), cette huile a révélé un effet analgésique. Une autre étude effectuée sur l'huile essentielle des parties

aériennes fraîches de l'espèce collectée de la même région a mené aux composés majoritaires suivants: Spathulenol (0.1%-19.4%),  $\alpha$ -bisabolol oxide B (0.1%-7.0%),  $\alpha$ bisabolol (5.2%-56.9%) and  $\alpha$ -bisabolol oxide A (10.2%-53.6%).

Deux autres travaux de recherche ont mis en évidence la présence de thienylhexadienisobutylamide, décadienisobutylamide, Herniarine, Apigénine, Lutéoline, Quercétine, 7-O-glucoside Apigénine, 7-O-glucoside Luteolin, 3-O-glucoside Quercétine, Herniarine, 3,4dehydroherniarine et (2E, 4E)-6-(2-thienyl)-2,4-hexadien-isobutylamide [12].

### **I.2.5.2. Du point de vue potentiel biologique.**

Dans une étude intéressée à la conservation et de valorisation de la flore tunisienne, *Matricaria pubescens* a été citée parmi les espèces aromatiques et médicinales de cette flore.

Des extraits aqueux et alcoolique, bruts, issus des parties aériennes de la plante de la région de Bechar ont montré une activité antibactérienne variable.

Après avoir confirmé la richesse de *M. pubescens* en différents groupes de métabolites secondaires à travers des tests phytochimiques préliminaires, l'activité anti-listérienne de son huile essentielle et d'autres extraits a été vérifiée et des résultats encourageants ont été obtenus, en effet, la MIC de l'huile essentielle a été évaluée à 2.0 mg/ml, celles des extraits méthnolique et éthanolique ont été respectivement, de 1.0 et 0.5 mg/ml.

Récemment apparue, une investigation biologique a signalé une activité cytotoxique très intéressante pour les trois extrais obtenus de *M. pubescens* par ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , meOH et l'eau) dont les pourcentages d'inhibition des cellules cancéreuses testées ont été respectivement, de 94%, 29% et 17%. [12].

## **I.3.L'espèce *Launaea Resedifolia* O.K.**

### **I.3.1. Description botanique**

C'est une plante vivace à fleurs jaune vif appartenant à la famille d'Asteraceae, sa hauteur est comprise entre 20 et 40 cm avec des tiges feuillues ramifiées se terminant par un cou, ses feuilles sont lisses ramifiées en forme de cotylédons entourés d'épines blanches, et il se caractérise par la densité de ses belles fleurs, et il peut sortir jaune même après que la chaleur s'intensifie, et en pressant ses tiges, une substance blanche laiteuse sort de la plante. Il est

considérée comme une bonne plante pastorale pour les chameaux et les moutons et pousse après les pluies et ses fleurs apparaissent du mois de février à fin avril. [33], [34]

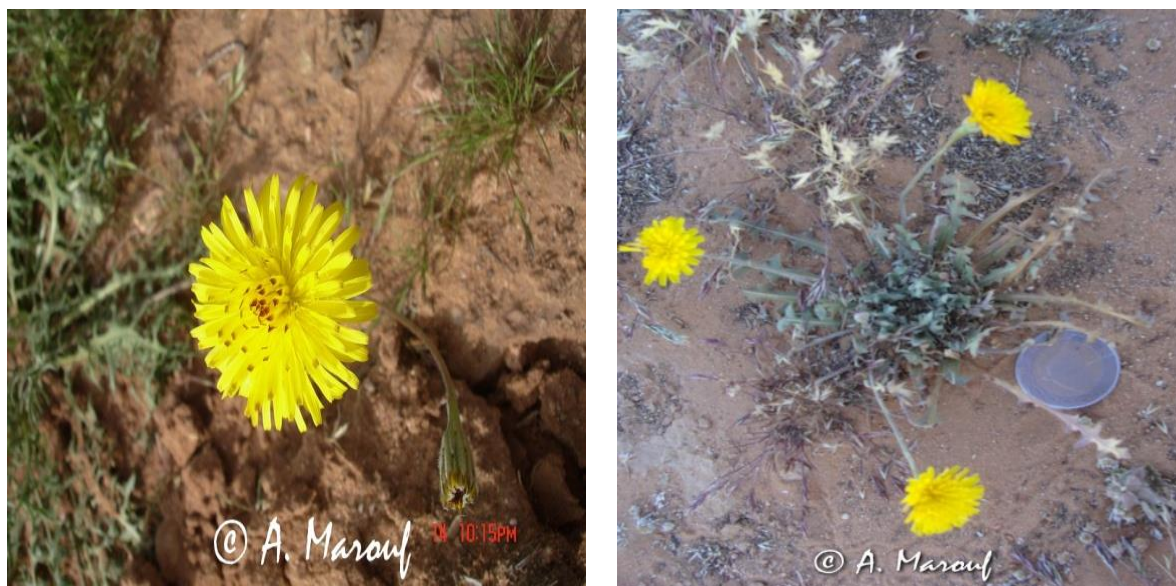


Figure 05: photo de la plante *Launaea Resedifolia*

### I.3.2. Classification systématique.

Tableau 04: classification systématique de *Launaea Resedifolia*

Royaum	Plante
Embranchement	Trachiobionta
S/ embranchement	Spermatophyta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magoliopsida
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Asterales
Famille	Asteraceae
Genre	<i>Launaea</i>
Espèce	<i>Launaea Resedifolia</i>

### I.3.3. Répartition géographique de l'espèce.

*Launaea Resedifolia* est une plante herbacée vivace répandue dans les régions arides de la région méditerranéenne, du nord du Sahara et du Sahara central, où elle se trouve en

abondance dans le sud-est de l'Algérie. Le genre *Launaea* (tribu la ctuci, famille Asteraceae) comprend environ 40 espèces et pour l'Algérie il y a 9 espèces que nous mentionnons: *Launaea acanthoclada*, *Launaea angustifolia* (Desf.) Kuntze, *Launaea anomala* (Batt.), *Launaea arborescens* (BUTT.), *Launaea cassiniana*, *Launaea nudicaulis* Hook. F, *Launaea quercifolia* (Desf.) Pamp., *Launaea resedifolia* (O.K.) and *Launaea glomerata* (Cass. Hook. F) La plupart d'entre eux se produisent dans le désert. [33],[34].

#### **I.3.4. Etudes antérieures:**

Plusieurs espèces du genre *Launaea* sont utilisées en médecine populaire pour l'estomac amer, les maladies de la peau et auraient des activités antitumorales, insecticides et cytotoxiques. Les activités antimicrobiennes des composants de la coumarine et les propriétés neuropharmacologiques ont également été étudiées. Des travaux antérieurs sur l'espèce *Launaea resedifolia* ont révélé que les principaux composants sont des flavonoïdes, des coumarines et des terpénoïdes. Il a été rapporté que *Launaea resedifolia* d'Egypte comprend les quatre flavonoïdes: l'apigénine, la lutéoline-7-O-glucoside, l'apigénine-5-o-diglucoside et la 5,7-D-oh coumarine. [33], [34]:

#### **I.4. L'espèce *Launaea Resedifolia***

##### **I.4.1. Description botanique de *Launaea glomerata*.**

Le nom populaire à El Oued de cette plante est El harchaya se trouve dans de la zone d'ELOUED [35]., ce sont des plantes annuelles ou bisannuelles appartenant à la famille des composées qui poussent à la fin de l'hiver et fleurissent au printemps, elles contiennent du lait végétal et leurs feuilles peuvent être consommées, et elles sont également considérées comme une plante herbacée et pastorale en tant qu'aliment pour les animaux. [36].

- Description des parties de la plante : La plante mesure de 10 à 40 cm de haut, avec des fleurs jaune vif à la base et pâles sur le reste de la plante (4), Il donne des fruits ailés qui sont portés par le vent. Les feuilles sont de couleur verte et de texture uniforme avec une forme de rosette légèrement ondulée et dentée de 10 à 40 cm de long. Les racines sont charnues ou ligneuses et fibreuses, tandis que les graines sont de forme ovale et ont tendance à être de couleur blanche avec des taches brunes. La tige est soit courte, soit longue et étendue sur le sol [36].



Figure 06: photo de la plante *Launaea glomerata*.

#### I.4.2. Classification systématique:

Tableau 05: Classification systématique de *Launaea glomerata* [36]. [37].

<b>Embranchement</b>	<b>Chordata</b>
<b>S/ embranchement</b>	Magnoliphytes
<b>Classe</b>	Dicotylédonnes
<b>Sous-classe</b>	Astéride
<b>Ordre</b>	Astérales
<b>Famille</b>	Astéraceae
<b>Genre</b>	Launaea
<b>Espèce</b>	<i>Launaea glomérata</i>

#### I.4.3. Répartition géographique de l'espèce :

Dans le monde : on remarque sa propagation au Levant, Égypte, Afrique du Nord et région méditerranéenne, Turquie, Péninsule Arabique et c'est rare dans le désert central et occidentale. Quant à l'Algérie, on la trouve dans le désert du nord-est, comme El 'Oued. [36. 38.39].



**Figure 07 : Distribution géographique de *Launaea glomerata* [38].**

#### **I.4.4. Usage traditionnel :**

Les plantes de la famille des Astéracées sont d'une grande importance car elles sont considérées comme des sources d'alimentation humaine utilisées comme graines, légumes ou épices, ainsi que pour la décoration intérieure et extérieure en raison de la beauté de leurs fleurs, car cette famille se caractérise par ses multiples composés chimiques : flavanoïdes, terpènes, acides phénoliques. Cela les rend biologiquement actives, c'est pourquoi elles sont utilisées dans l'usage médical de nombreuses maladies) Maladies cardiovasculaires, infections cutanées, tension artérielle, élimination du mauvais cholestérol dans l'organisme. Ils sont également utilisés en cosmétique [39].

#### **I.4.5. Travaux antérieurs sur l'espèce *Launaea glomerata* (coss), HOOK :**

Grâce à une étude antérieure de l'extrait méthanolique de tripes de lapin, les phénols ont été estimés quantitativement à l'aide du réactif de Folin-Ciocalteu et ont été estimés à 71,9-25,69 mg d'acide gallique/g d'extrait sec. Quant aux flavanoïdes, qui ont été détectés grâce à l' $AlCl_3$ , ils ont été estimés à 71,9 (49,24 mg d'acide quercétine/g d'extrait sec). Quant à l'analyse qualitative par chromatographie liquide à haute performance, la présence de caféine et de coumarine a été révélée. Résultats de l'activité antioxydante en utilisant le test DPPH CAT ABTS dans l'extrait d'échantillon. L'étude a montré qu'il a une efficacité significative par rapport à d'autres plantes du même genre. Quant à l'efficacité biologique, l'étude a montré qu'il a une efficacité contre (*Fusarium* sp.) et types de champignons (*Escherichia coli* – *Listeria innocua*...) et bactériens (*Leucon candidalbian*). [39].

# *Chapitre II*

## *L'activité biologique*

## I. Les composés phénoliques :

### I.1. Généralités.

Les composés phénoliques, ou polyphénols, constituent une famille de molécules organiques largement présentes dans le règne végétal. Ils sont présents partout, dans les racines, les tiges, les fleurs, les feuilles. Ce sont des métabolites secondaires produits par les plantes pour interagir avec les autres végétaux et les animaux [40]. Ces produits naturels font partie intégrante de notre alimentation dont les principales sources sont les fruits et légumes, les boissons (thé, café, jus de fruits), les céréales, et les légumes secs. Les fruits et les légumes contribuent d'environ par la moitié de notre apport en polyphénols, les boissons telles que : le jus de fruits et surtout le café, le thé apportant le reste [41].

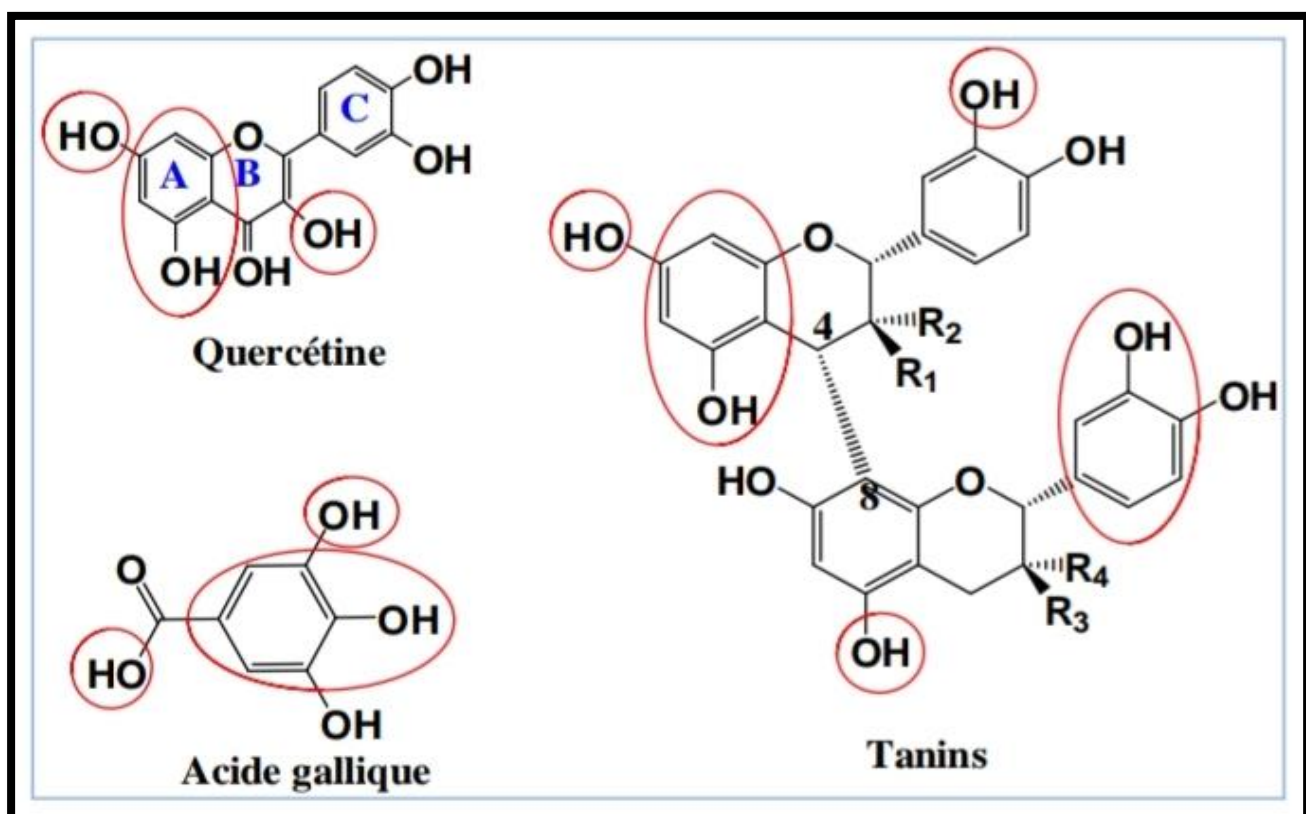


Figure 08 : Exemples structurales de polyphénols.

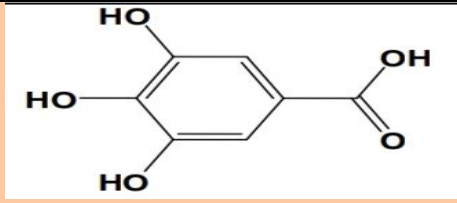
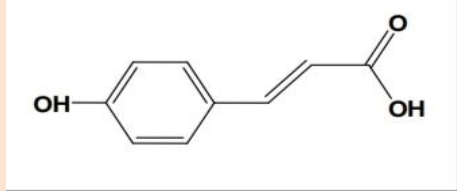
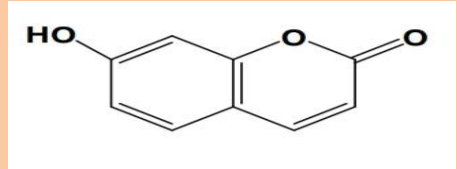
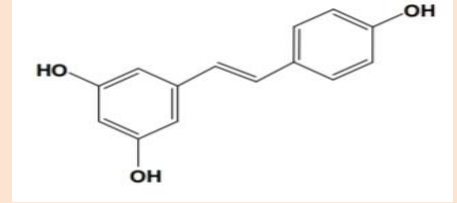
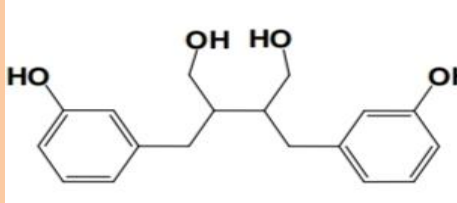
### I.2. Classements des polyphénols.

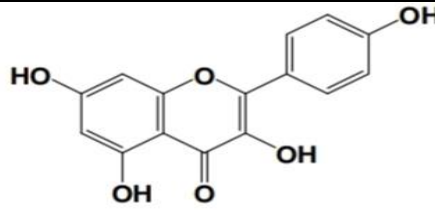
Les polyphénols forment un très vaste ensemble de substances chimiques, présentant toutes un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à six carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH). Ces structures

peuvent également être acylées, glycosylées, ce qui donne une grande variété de structures et de polarités [42].

Ils peuvent être classifiés, selon le nombre et l'arrangement de leurs atomes de carbones en plusieurs classes de polyphénols, citons entre autres : les acides phénols, les quinones, les flavonoïdes, les coumarines, les anthocyanes, les tanins, les stilbènes. Le tableau (06) présente quelques catégories.

**Tableau 06 : Exemples de classes des polyphénols. [43, 44]**

Classification des polyphénols	Squelettes	exemples	Structure	Origine
Acide phénol	C6 – C1	Acide gallique		feuilles de thé
Acides hydroxy cinnamiques	C6 – C3	Acide-p coumarique		Tomates, ail
Coumarines	C6 – C3	Ombelliferone		Carottes
Stilbènes	C6 – C2 – C6	Resveratrol		Raisin
Lignane	(C6 – C3)2	Entérodiol		Lin

flavonoïdes	C6 – C3 – C6	Kaempférol		Fraises
-------------	-----------------	------------	--	---------

### I.3. Propriétés biologiques des polyphénols

Les composés phénoliques constituent une famille de substances naturelles très importante du point de vue thérapeutique et économique.

En effet, les effets bénéfiques des polyphénols intéressent particulièrement deux domaines : la phytothérapie et l'industrie alimentaire [45]. D'après les études multiples attestant de l'impact positif de la consommation de polyphénols sur la santé et la prévention des maladies, les industriels commercialisent maintenant des aliments enrichis en polyphénols ou des suppléments alimentaires. De plus, leur activité antioxydant assure une meilleure conservation des denrées alimentaires en empêchant la peroxydation lipidique.

Dans l'industrie cosmétique, les composés phénoliques trouvent leur application pratique en luttant contre la production des radicaux libres néfastes pour la santé et la beauté de la peau.

En phytothérapie, une variété de vertus est attribuée à ces composés, même si certaines indications sont communes à plusieurs classes, les propriétés vasculoprotectrices, antispasmodiques et anti-inflammatoires sont par exemple aussi bien attribuées aux flavonoïdes qu'aux anthocyanes, tanins et autres coumarines, chaque classe chimique semble être utilisée pour des bénéfices spécifiques [46].

Par ailleurs, leur rôle au niveau des plantes qui les produisent est d'une grande importance. En fait, Les acides phénoliques, les stilbènes, les flavonoïdes, les tanins et les lignanes sont présents dans les feuilles, les fleurs, fruits et l'écorce de bois. Ces molécules contribuent à la croissance des végétaux et dans la lutte contre des agents pathogènes et des infections [47].

**Tableau 07: Quelques propriétés des polyphénols**

Activités biologiques	Exemples des polyphénols
<b>Polyphénols</b>	Antioxydante
<b>Antimicrobienne</b>	Flavonoïdes (Quercétine, Hespéridine) (apigénine)
<b>Anti-inflammatoire</b>	Acides phénoliques, flavonoïdes (quercétine, astragaline, myricétine...)
<b>Antiseptique</b>	Acides phénoliques (phénol simple)
<b>Anti-radicalaire</b>	Acides phénoliques, flavonoïdes
<b>Anti-cancéreux</b>	Stilbénes, flavonoïdes (La Catéchine)

#### I.4. Les flavonoïdes

##### I.4.1. Définition et structure chimique.

Les flavonoïdes sont des produits chimiques appartenant au groupe des composés phénoliques et constituent un groupe important de métabolites secondaires en raison de leur propriété biochimique [48]. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux. Presque toujours hydrosolubles qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles [49].

Les flavonoïdes ont tous la même structure chimique de base, ils possèdent un squelette carbone de 15 atomes de carbone composé de deux cycles aromatique (appelés les cycles A et B) reliés par une unité à trois carbones (qui forme généralement un troisième cycle appelé le cycle C) [50].

Les flavonoïdes sont caractérisés par un squelette de trois unités, C6-C3-C6, formant ainsi une structure diphenyl-propane dont l'unité centrale est une benzo- $\gamma$ -pyrone. De multiples groupes hydroxyle, sucre, oxygène ou méthyle sont attachés à cette structure centrale [51].

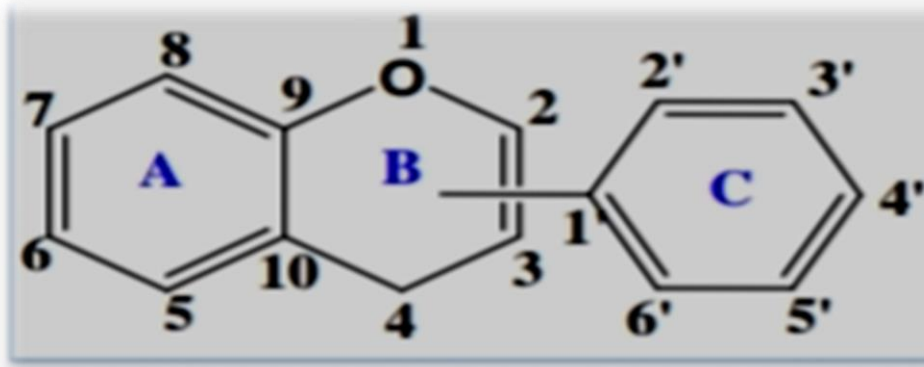


Figure 09 : Structure de base des flavonoïdes

#### I.4.2. Biosynthèse des flavonoïdes.

Le cycle B et la chaîne à trois carbones (cycle C) sont issus de la voie de l'acide shikimique via la phénylalanine et l'acide *p*-coumarique. Les six atomes de carbone du cycle A dérivent de l'acide malonique, sous la forme d'un complexe malonyl-coenzyme A (malonyl-CoA). L'enzyme clé est la chalcone synthase (CHS) qui provoque la condensation séquentielle de trois molécules de malonyl-CoA et d'une molécule de *p*-coumaryl-CoA, formant de la naringénine-chalcone. Une chalcone est une séquence C6-C3-C6 dans laquelle le cycle C n'est pas encore fermé [52].

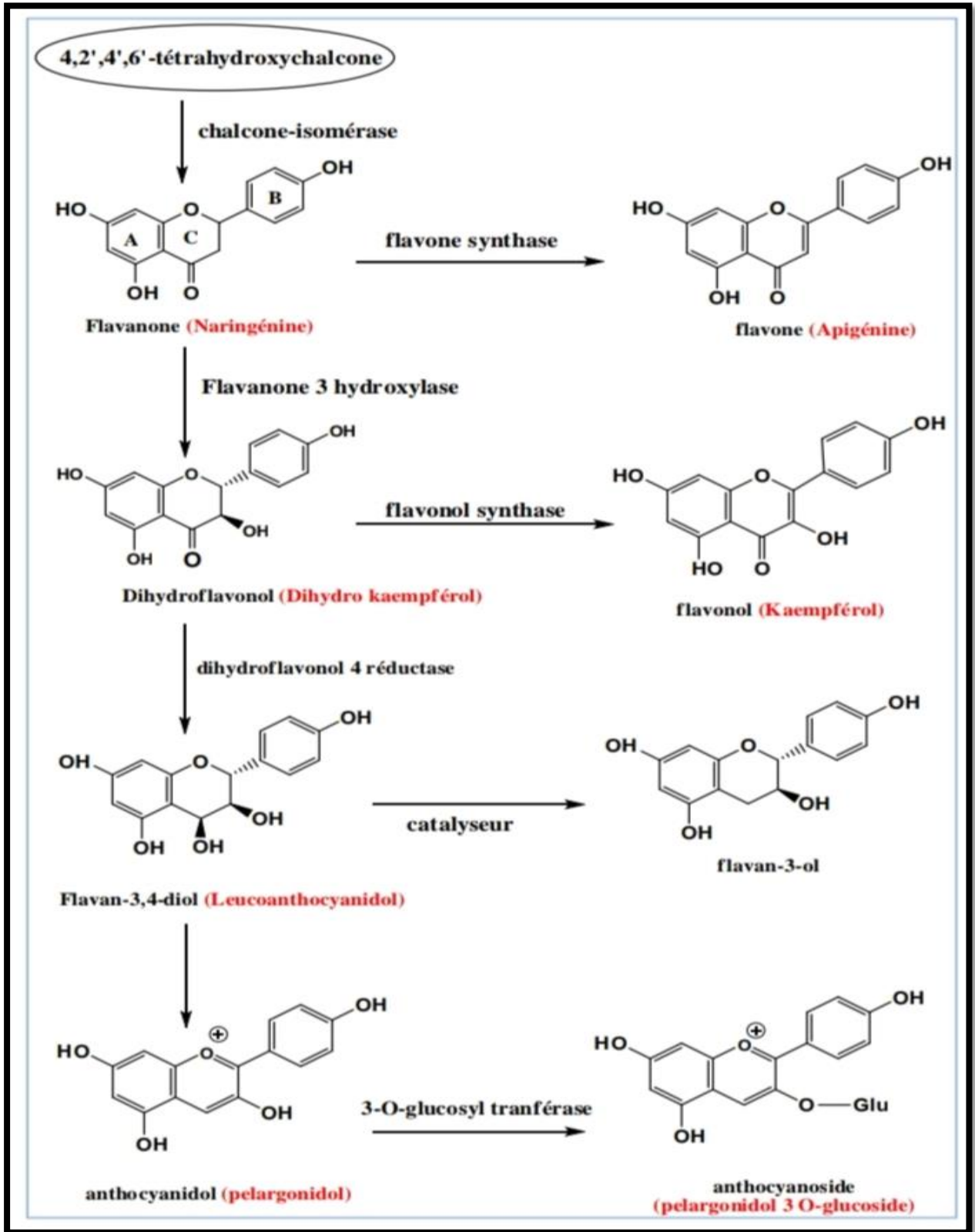
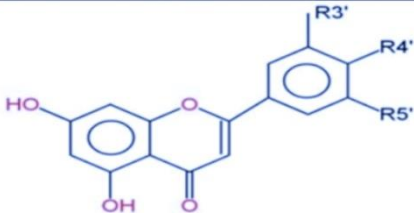
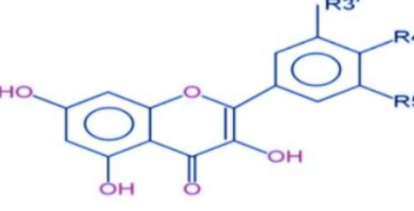
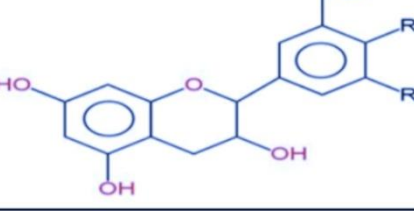
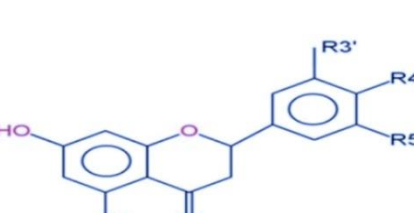



Figure 10 : Voie biosynthétique des flavonoïdes.

### I.4.3. Classification des flavonoïdes

Les flavonoïdes se divisent en plusieurs classe de molécules sont : Les flavones, les flavonols, les flavanols, les flavanones, les Anthocyanidines, les isoflavones. Indique dans le tableau suivant.

**Tableau 08: Principales classes des flavonoïdes [53,54]**

Classes	Structures chimique	R3'	R4'	R5'	Exemples
Flavones		H	OH	H	<b>Apigénine</b>
		OH	OH	H	<b>Lutéoline</b>
		OH	OCH3	H	<b>Diosmétine</b>
Flavonols		H	OH	H	<b>Kaempférol</b>
		OH	OH	H	<b>Quercétine</b>
		OH	OH	OH	<b>Myrecétine</b>
Flavanols		OH	OH	H	<b>Catéchine</b>
Flavanones		H	OH	H	<b>Naringénine</b>
		OH	OH	H	<b>Eriodictyol</b>
Anthocyanidines		H	OH	H	<b>Pelargonidine</b>
		OH	OH	H	<b>Cyanidine</b>
		OH	OH	OH	<b>Delphénidine</b>

Isoflavones		OH	OH	OH	<b>Genisteine</b>
		H	O-Glu	OH	<b>Daidezine</b>

Donc structurellement les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécule selon le degré d'oxydation et la nature des substituants portés sur le cycle C [55]. Les composés de chaque classe se distinguent entre eux par le nombre, la position et la nature des substituants sur les deux cycles aromatiques A et B et le cycle intermédiaire [56,57].

#### I.4.4. Identification des flavonoïdes

##### I.4.4.1. Techniques d'identification de structure

L'identification des flavonoïdes utilise généralement une combinaison de propriétés chromatographiques des flavonoïdes, telles que la fluorescence sous lumière UV-Vis et sous lumière de Wood, les valeurs  $R_f$  dans divers systèmes de solvants. Aussi elle est réalisée par plusieurs techniques spectroscopiques, comme la spectrophotométrie UV-Vis, la résonance magnétique nucléaire (RMN) [58,59].

##### I.4.4.1.1 Facteur de retard et comportement chromatographique

Ce facteur, noté  $R_f$ , est défini comme le rapport de la distance entre la tache de produit et l'origine et la distance entre l'origine et le front de solvant.

$$R_f = \frac{\text{Distance parcourue par le composé}}{\text{Distance parcourue par l'éluant.}}$$

La valeur  $R_f$  dépend du type de solvant utilisé (organique ou aqueux), du type de support chromatographique (silice, polyamide, cellulose), de la morphologie du produit lui-même (aglycone ou glycosyle), et de la disposition des différents substituants sur le squelette flavonique. Le tableau (09) montre l'effet de la substitution du squelette de flavone sur les valeurs  $R_f$  [58,59] :

**Tableau 09: La relation entre Rf et la structure flavonique.**

Structure flavonique	Rf
<b>Augmentation des groupes hydroxyles</b>	<b>Rf</b> diminue dans les systèmes de solvants organiques et augmente dans les systèmes de solvants aqueux.
<b>Méthylation des hydroxyles</b>	<b>Rf</b> augmente dans les systèmes de solvants organiques et diminue dans les systèmes de solvants aqueux.
<b>Glycosylation</b>	<b>Rf</b> diminue dans les systèmes de solvants organiques et augmente dans les systèmes de solvants aqueux.

**I.4.4.1.2. Coloration sous UV (la fluorescence sous la lumière de Wood).**

L'examen des flavonoïdes sous lumière UV 365 nm est souvent utilisé pour leur détection. Tous les flavonoïdes apparaissent sous forme des taches colorées sous UV, fournissant des informations pour déterminer leur structure [60]. Le tableau suivant montre la relation entre la fluorescence et la structure chimique :

**Tableau 10 : relation entre la fluorescence sous lumière de Wood et les structure flavoniques.**

La fluorescence	Les structures
Violette noire	Flavones avec 5, 6, 7 ou 5, 7, 8 trihydroxy flavone Flavonol avec 3-OR Chlacones
Bleue	Flavone ou Flavonol sans OH en 5 Flavanone avec OH en 3 ou flavanol Flavonol avec OH et sans 5-OH
Jaune ou jaune terne	Flavonol avec 3-OH, et avec ou sans 5-OH
Orange fluorescente	Isoflavones
Jaune verte	Aurones
Bleu-verte	Flavanone sans 5-OH

### I.4.4.2. Identification spectrale.

#### I.4.4.2.1. Spectrophotométrie UV-Vis.

C'est la méthode la plus importante pour l'identification partielle des structures de flavonoïdes. Il repose essentiellement sur l'enregistrement de spectres en milieu alcoolique (méthanol ou éthanol) caractérisé par deux bandes principales d'absorption. (Fig.) [60].

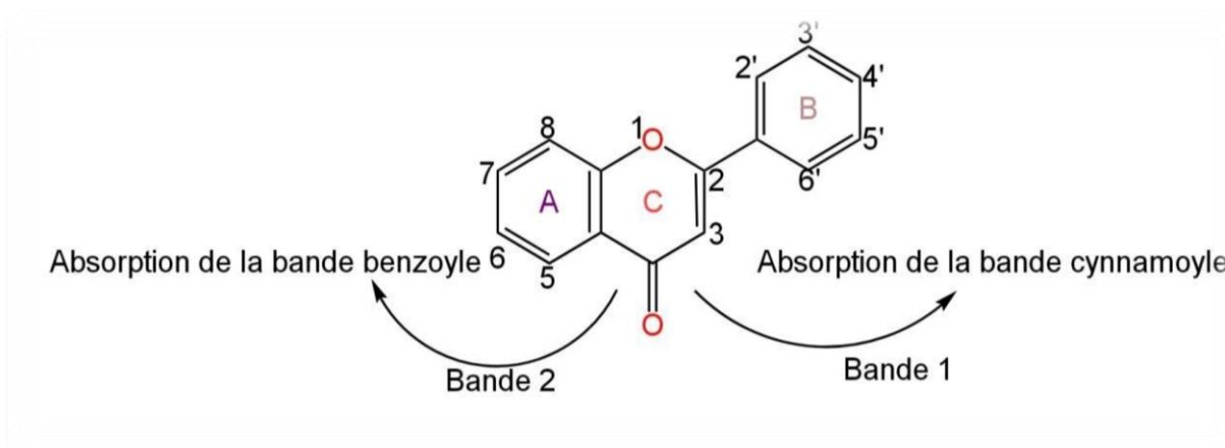


Figure 11: les deux bandes d'absorption des flavonoïdes.

#### La bande I :

Le maximum d'absorption à 300–400 nm est attribué à l'absorption du système cinnamoyle due à la conjugaison du groupe carbonyle avec la double liaison C2-C3 et le noyau B, éclairant ainsi les changements conformationnels du cycle B et hétérocycle C [61].

#### La bande II :

Il existe un maximum d'absorption entre 240 et 280 nm, qui est attribué à l'absorption du système benzoyle résultant de la conjugaison du groupement carbonyle avec le noyau A, éclairant les changements structuraux du cycle A.

Le tableau donne l'intervalle du maximum d'absorption des deux bandes en milieu méthanolique pour quelques types de flavonoïdes :

**Tableau 11: Position des bandes I et II en fonction du type de flavonoïdes**

Type de flavonoïdes	Bande I, $\lambda_{\max}$ (nm)	Bande II, $\lambda_{\max}$ (nm)
<b>Flavones</b>	310-350	250-280
<b>Flavonols (3-OH libre)</b>	350-385	250-280
<b>Flavonols (3-OH substitué)</b>	330-360	250-280
<b>Isoflavones</b>	310-330	245-275
<b>Flavanones et dihydroflavanols</b>	300-330	275-295
<b>Chalcones</b>	340-390	230-370 faibles intensités
<b>Aurones</b>	380-430	230-370 faibles intensités

#### I.4.4.2.2. Spectrométrie de résonance magnétique nucléaire (RMN)

C'est une méthode très précise et très efficace, elle est trouvée un grand emploi pour la détermination des flavonoïdes [62].

##### ❖ La RMN du proton (RMN 1H) .

Elle informe sur l'environnement des différents protons flavoniques qui résonnent généralement entre 6 et 8 ppm elle permet de connaître :

- ✓ Position et nombre de protons différents portés par les flavonoïdes.
- ✓ Le nombre de substituants méthoxyle sur le squelette flavonique.
- ✓ Le nombre et le type de sucres attachés à l'aglycone.

##### ❖ RMN du carbone (RMN 13C) :

Donne des informations utiles et parfois nécessaire pour mieux identifier la molécule telle que [60] :

- ✓ Le nombre total d'atomes de carbone du composé flavonique ainsi que leur environnement.
- ✓ Connaissance des types de liaisons sucre -C- et/ou -O-.

### I.4.5. Activités biologiques des flavonoïdes.

En tant que produits naturels de structures chimiques très intéressantes, les flavonoïdes ont été largement étudiés. Ils sont doués d'une variété d'activités biologiques.

Certaines d'entre elles ont fait l'objet de plusieurs travaux de recherche, telles que : l'activité antioxydant, anti-inflammatoire, antimicrobienne, etc.

Le tableau suivant montre quelles que propriétés biologiques des flavonoïdes d'après plusieurs études mis en jeu :

**Tableau 12: Exemples de propriétés biologiques des flavonoïdes**

Activités biologiques	Exemples de Flavonoïdes
<b>Antioxydante</b>	Anthocyanines
<b>Antimicrobienne</b>	Rutine, Quercétine, Hespéridine, bi flavonoïde
<b>Antiallergique</b>	Quercétine,
<b>Anti-inflammatoire</b>	Astragaline, fisetine, kaempferal, Rutine.
<b>Anti-diabète</b>	Apigénine
<b>Anti-tumorale</b>	Anthocyanines, Catéchine, Quercétine, chalcone
<b>Antifongique</b>	narginine, noblétine, isoflavones, flavone, flavanone
<b>Antivirale</b>	Narginine, luteolin,

#### I.4.6.1. Relation activité-structure dans les flavonoïdes :

La plus part des flavonoïdes sont connus par leur activité antioxydant à cause de leurs faibles potentiels Redox. Les flavonoïdes sont capables de réduire les radicaux libres, par le transfert d'hydrogène pour obtenir un radical du flavonoïde correspondant très stable et avoir un bon pouvoir piègeur des radicaux libres. [63].

D'après Rice-Evans et Al., en 1996 [64, 65], trois conditions structurales doivent exister chez un flavonoïde pour qu'il soit actif et stable, tel que la quercétine, à savoir :

- ✓ La structure ortho-di-hydroxy sur le cycle C, formant le noyau catéchol. [66].
- ✓ La double liaison C2-C3 en conjugaison avec la fonction oxo (C4) sur le cycle B. [67].
- ✓ La présence du groupe OH sur le C3 en combinaison avec la double liaison C2-C3. [67].

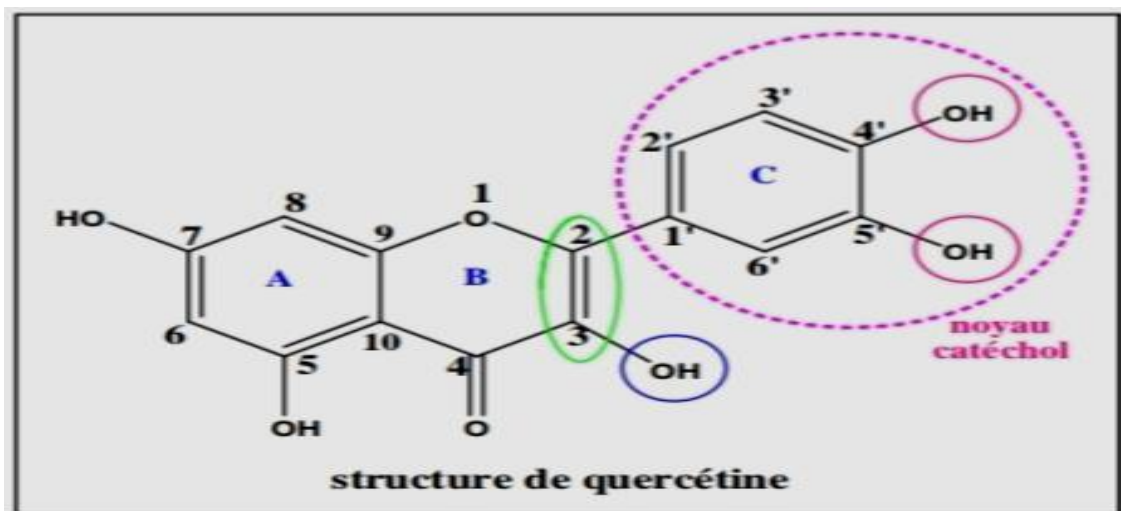


Figure 12 : Éléments structuraux essentiels d'un flavonoïde actif et stable.

#### I.4.6.2. Relation structure-fluorescence dans les flavonoïdes. [64,68].

Chaque flavonoïde est caractérisé par une couleur qui oriente vers sa structure, le tableau ci-dessous montre quelle relation existe entre la structure des flavonoïdes et fluorescence.

Tableau 13 : Relation structure-fluorescence des flavonoïdes.

La couleur sous l'UV	Type des flavonoïdes
Jaune	Flavone, Flavonol, Aurone, Chalcone Flavanone, Dihydroflavonol
Marron (brun)	Flavone, Flavonol, Chalcone, Tannins condensés
Mauve (violet)	Flavone, isoflavone, Dihydroflavonol, Chalcone
Bleue	Flavone, Flavonol
Verte	Aurone
Orange	Flavonol, Isoflavone

## II. Activité antioxydant

## II.1.Généralités:

L'oxygène est un élément essentiel pour les organismes multicellulaires parce qu'il permet de produire de l'énergie en oxydant de la matière organique. Mais nos cellules convertissent une partie de cet oxygène en métabolites toxiques : les radicaux libres organiques [69].

Dans les conditions normales, la production de ces espèces chimiques est contrôlable, en fait elles sont des intermédiaires indispensables à l'organisme où ils sont impliqués, à des faibles quantités, dans des processus métaboliques. Cependant, l'excès de la production des espèces chimiques réactives peut devenir toxique pour les composants majeurs de la cellule, les lipides, les protéines et les acides nucléiques, et donne lieu à ce qu'on appelle le stress oxydatif. Celui-ci est soupçonné d'être la cause dans diverses pathologies à savoir, les maladies neurodégénératives (Alzheimer, Parkinson), le diabète, les cancers, les maladies inflammatoires, le vieillissement, etc. [70].

## II.2. origine et production des radicaux libres.

### II.2.1.Définition des radicaux libres.

Les radicaux libres sont des variétés de produits chimiques expédition atomique ou moléculaire neutre ou chargée positive ou négative, avec le montage e-électron unique (non apparié) ou plus, et être surtout très efficace( réagissent rapidement ) avec d'autres véhicules d'essayer de saisir l'absence d'électrons pour atteindre la stabilité chimiothérapie, ces variétés sont générés par des réactions chimiques qu'il composés de titres sont très efficaces et à la fin, et composé des éléments suivants interactions successives spéciaux et d'autres réactions telles quela polymérisation et les réactions photochimiques et celles relatives à jeter le rayonnement électromagnétique brillant et autres minutes radioactifs [71].

Les types de radicaux libres, y compris ceux qui contiennent une charge d'un électron et d'atomes neutralisés tels que l'hydrogène, l'azote, le fluor, le chlore, le brome et l'iode, et les radicaux des (CH<sub>3</sub>) • Et éthyle (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>) • phényle (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>) • et les radicaux hydroxyles (OH) • et peroxydes(COOH) • comme contenant deux électrons solidairement ou plus (pas de double) et l'expédition neutralisé tel qu'un atome d'oxygène (:O:) racines (NH) • et les racines de méthylène(CH<sub>2</sub>) • où ont appelé ces racines (di radicaux) et être ancrés plus efficace et moins des racines de premier type, les radicaux libres positifs et la charge négative sont les racines de très efficace et très courte âge [71].

## **II.2.2. Nature des radicaux libres.**

### **II.2.2.1. Les radicaux libres oxygénés.**

L'oxygène est la source de vie pour les organismes aérobies. Mais l'oxygène peut être également une source d'agression pour ces organismes [72]. Les espèces actives de l'oxygène produites en faibles quantités lors du métabolisme de l'oxygène, sont des messagers secondaires impliqués dans l'activation de diverses voies de signalisation intracellulaire. Produites en trop grandes quantités, ces espèces sont délétères et vont attaquer les constituants de la cellule, menaçant l'intégrité cellulaire [73].

### **II.2.2.2. Les radicaux libres non oxygénés.**

Les espèces libres non oxygénées sont les produits des réactions de certaines molécules avec les espèces réactives déviées de l'oxygène (ERO).

Ils peuvent à leur tour réagir avec d'autres molécules et être à l'origine de la multiplication des réactions d'oxydation et de la propagation des dommages oxydatifs.

Nous citerons, par exemple, les acides gras peroxydés, résultats de l'action des espèces oxygénées sur les membranes biologiques.

Les fractions protéiques, les acides aminés et les acides nucléiques peuvent aussi réagir avec les ERO généralement des molécules réactives [74], [75].

## **II.2.3. Stress oxydatif.**

Dans l'organisme, la production des radicaux libres est contrôlée par ses systèmes de défenses. En effet, dans les conditions normales, on assiste à un équilibre de la balance antioxydants/prooxydants [76].

Dans certaines situations, cette production augmente fortement, entraînant un stress oxydatif que l'on définit comme un déséquilibre entre la production et la destruction de ces espèces chimiques. Ce déséquilibre est la conséquence de nombreux facteurs, notamment les polluants présents dans l'air que nous respirons, l'eau et les aliments que nous consommons. Les rayons ultraviolets du soleil, d'autres radiations, le tabagisme et l'exercice excessif sont également des facteurs qui augmentent considérablement la présence des radicaux libres dans notre système [77].

## II.3. Les antioxydants.

### II.3.1. Définition.

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques d'ERO (espèces réactives de l'oxygène). Notre organisme réagit donc de façon constante à cette production permanente de radicaux libres et on distingue au niveau des cellules deux lignes de défense inégalement puissantes pour détoxifier la cellule [78].

### II.3.2. Classification des antioxydants selon la nature chimique.

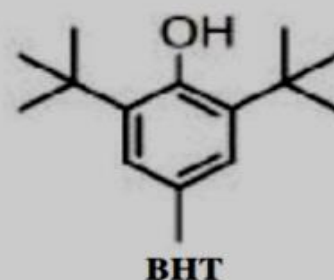
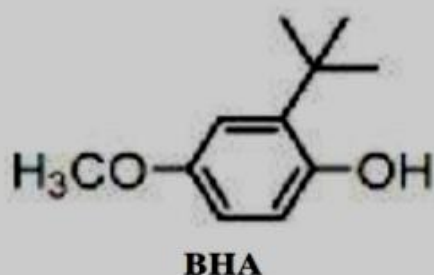
La classification de tous les antioxydants connus est difficile, ils sont classés généralement par leur mécanisme d'action ou par leur nature chimique [79].

#### a-Antioxydants synthétiques.

Plusieurs antioxydants synthétiques sont officiellement autorisés pour l'utilisation dans l'alimentation. Leur présence s'avère également nécessaire au sein des produits alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques afin d'éviter leur dégradation.

Cependant, des études toxicologiques ont jugé certains antioxydants synthétiques comme sources de danger [80;81]. La recherche de nouveaux antioxydants naturels tels que les polyphénols est l'objectif de nombreux industriels et scientifiques.

Parmi les antioxydants phénoliques de synthèse qui sont autorisés dans certains aliments le BHT (3,5-ditertiobutyl-4-hydroxytoluène), BHA (3-tertiobutyl-4-hydroxyanisole), sont l'un et l'autre soluble dans les lipides et résistent bien à la chaleur.



---

### Figure 13: Structures de quelques antioxydants synthétiques

#### **b-Antioxydants d'origine végétale.**

Les plantes constitue des sources très importantes d'antioxydants, les antioxydants naturels dont l'efficacité est la très reconnue aussi bien dans l'industrie agroalimentaire que pour la santé humaine tels que : les tocophérols, les caroténoïdes et les polyphénols qui sont capables de neutraliser les radicaux libres. En effet les groupes hydroxyles des polyphénols sont bien des donneurs d'atomes d'hydrogène. Ils peuvent réagir avec les espèces réactives de l'oxygène et les espèces réactives de l'azote.



La forme radicalaire produite, ayant une très grande stabilité structurale, est moins dangereuse que le radical initial [81].

#### **II.3.3. Principaux antioxydants.**

##### **A. Antioxydants endogènes (Enzymatique) :**

- La catalase, la glutathion peroxydase, la superoxyde dismutase [82;83].

##### **B. Antioxydants exogènes (Non enzymatique) :**

###### 1. Les vitamines :

- Vitamine C, Vitamine E,  $\beta$ -Carotène, les flavonoïdes, les composés phénoliques [84; 85;86].

#### **II.3.4. Mécanismes d'action des antioxydants [86].**

Mécanisme d'action des antioxydants sont divers :

- Incluant le captage de l'oxygène singulier.
- La désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente.
- La réduction de radicaux ou de peroxyde.
- La chélation des métaux de transition

### II.3.5. Principaux tests d'activité antioxydant.

#### II.3.5.1. Méthode de réduction de Fer (FRAP) :

Les métaux sont en général les meilleurs initiateurs de réactions en chaîne susceptibles de déséquilibrer la balance du stress oxydatif en faveur de prooxydants. Parmi ces métaux, le cation ferrique  $Fe^{3+}$  est le plus actif et on le retrouve souvent dans les aliments d'origine végétale ou animale. Le pouvoir réducteur d'un extrait vis-à-vis du cation ferrique peut être considéré comme un indicateur de son activité antioxydante.

L'activité antioxydante, non enzymatique, inhibitrice de radicaux libres et de la peroxydation lipidique, est généralement contrôlée par des réactions d'oxydo-réduction ; la méthode FRAP peut être une bonne méthode pour investiguer le pouvoir antioxydant d'un extrait en évaluant son pouvoir de réduction du cation ferrique.

Le dosage consiste à réduire le complexe tripyridyltriazine ferrique  $[Fe^{3+}-TPTZ]$  de couleur jaune en complexe ferreux  $[Fe^{2+}-TPTZ]$  de couleur bleu, sous l'action d'un antioxydant par un transfert d'électron (Figure 14). La variation de la coloration est mesurée à 593 nm. [87].

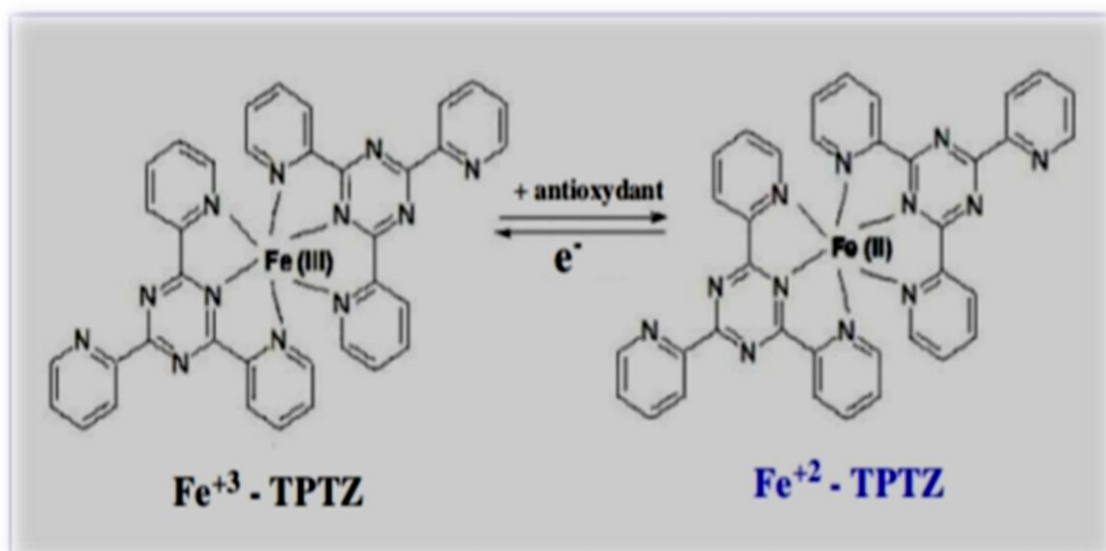


Figure 14: Réaction et transformation du  $Fe^{3+} - TPTZ$  en  $Fe^{2+} - TPTZ$

#### II.3.4.2. Inhibition du radical stable DPPH.

Le composé 2,2-diphényl-1-picrylhyrazyl (DPPH) a été découverte en 1922 [88] a été l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité antioxydant des composés phénoliques, est une molécule stable soluble dans le méthanol caractérisée par sa couleur violet foncé (fig7) avec un maximum d'absorption à 515 nm [89], Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote [90], lorsqu'il est réduit par un antioxydant ou une espèce radical (par un mécanisme combinant le transfert d'un atome d'hydrogène et le transfert d'électrons), la coloration devient incolore ou jaune pâle qui pourrait être facilement surveillée avec un spectrophotomètre. Ce test est largement utilisé pour déterminer l'activité antioxydante d'extraits bruts ou de composés purifiés de plantes [89].

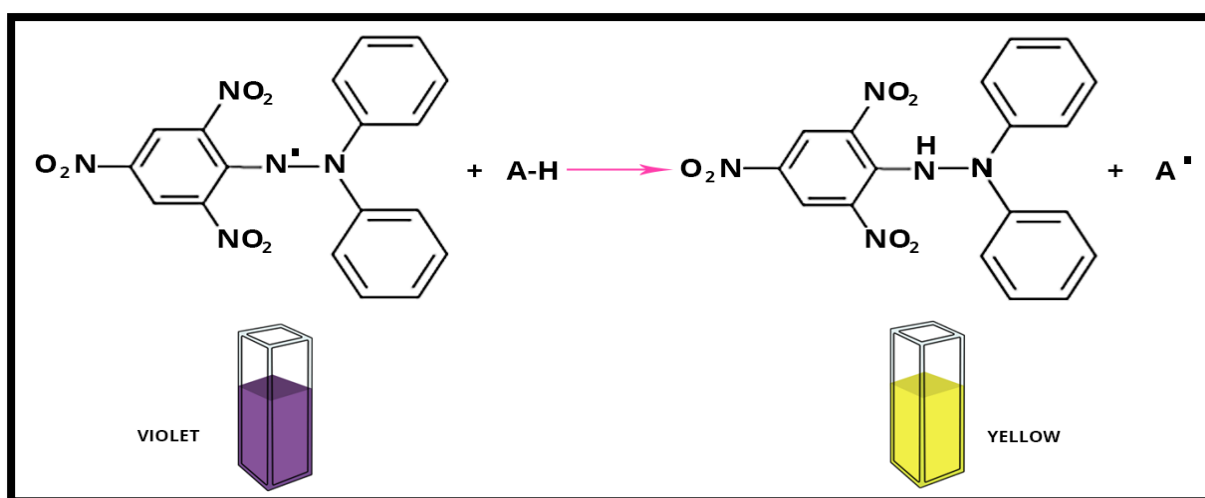


Figure 15: Équation du radical DPPH transformé en DPPH

### III. Activité antimicrobienne.

#### III.1. Introduction.

Le terme antimicrobien fait référence à un ensemble de composés qui ont la capacité d'éliminer ou de réduire la prolifération de microbes. Les microbes visés par un antimicrobien peuvent être des bactéries, des virus, des champignons ou des parasites. Les traitements antibiotiques font partie également des antimicrobiens. Ils ciblent les champignons ou les bactéries.

L'utilisation des antibiotiques conduit dans la très grande majorité des cas à la sélection de populations microbiennes résistantes. Cette résistance est due à des mutations chromosomiques ou à l'acquisition des gènes de résistance portés par des éléments génétiques mobiles (plasmides, phages). Ces résistances ont conduit à chercher de nouveaux agents

---

antimicrobiens possédant une efficacité plus importante que les drogues synthétiques d'une part et bien accepté par l'organisme d'autre part [91;92].

### **III.2. Les antibiotiques.**

Les antibiotiques sont par définition, des produits microbiens, ou leurs dérivés, capables de tuer les micro-organismes sensibles ou d'inhiber leur croissance [93]. Leur action étant spécifique et dirigée contre les micro-organismes, ils ne sont pas toxiques pour les cellules eucaryotes.

L'étendue de l'activité antibactérienne d'un antibiotique définit son spectre d'action. Plus un antibiotique agit sur des espèces bactériennes différentes, plus son spectre est large.

L'action des antibiotiques peut s'exercer sur des structures ou des mécanismes essentiels à la croissance ou à la survie des bactéries. Ainsi, ceux qui inhibent la croissance bactérienne sont qualifiés de «bactériostatiques» alors que ceux qui tuent les bactéries sont dits «bactéricides» [94].

### **III.3. Les alternatifs naturels.**

La maîtrise des infections bactériennes devient complexe du fait que de nombreuses bactéries ont développé une résistance à la plupart des antibiotiques ce qui a constitué un problème de santé important à l'échelle mondiale. Suite à cette préoccupation concernant les effets indésirables des molécules synthétiques destinées à la lutte contre les infections bactériennes, il semble donc important de trouver une alternative à l'utilisation des antibiotiques classiques.

Les remèdes à base de plantes constituent une alternative dans les systèmes de soins primaires et donc, une voie prometteuse pour le développement des médicaments traditionnellement améliorés. Récemment, beaucoup de chercheurs s'intéressent aux plantes médicinales pour leur richesse en antioxydants naturels à savoir les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins, etc. qui possèdent des activités antimicrobiennes.

De ce fait, l'exploitation de nouvelles molécules bioactives ayant des effets secondaires limités ou inexistantes depuis des sources naturelles et leur adoption comme une alternative thérapeutique aux molécules synthétiques sont devenues des objectifs prioritaires pour les recherches scientifiques et les industries alimentaires et pharmaceutiques [95].

---

### **III.4. Méthode d'évaluation de l'activité antimicrobienne.**

#### **III.4.1. Méthode de diffusion en milieu solide.**

La méthode de diffusion à partir d'un disque solide a été utilisée pour mettre en évidence l'activité antimicrobienne des germes pathogènes vis-à-vis des antibiotiques et des extraits bruts.

La diffusion de l'agent antimicrobien dans le milieu de culture ensemencé résulte d'un gradient de l'antimicrobien. Quand la concentration de l'antimicrobien devient très diluée qu'il ne peut plus inhiber la croissance de la souche testée, la zone d'inhibition est démarquée [96].

#### **III.4.2. Méthode du micro dilutions en milieu solide.**

Le principe de méthode CMI en milieu solide, l'extrait étant ici incorporé dans un milieu de culture solide. L'intérêt de cette technique en milieu solide réside dans la possibilité d'étudier un grand nombre de souches bactériennes [97].

La CMI n'est pas, pour une bactérie donnée, une constante biologique. Elle est définie par le Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM) comme étant la plus faible concentration d'une gamme de dilutions d'antibiotique de demi en, demi qui entraîne l'inhibition de toute croissance bactérienne visible.

La méthode par dilution successive en milieu solide est la méthode de référence pour déterminer la sensibilité bactérienne aux antibiotiques. Cette détermination exige une standardisation rigoureuse du protocole expérimental (influence de l'inoculum, du délai séparant ensemencement et observation, milieu de culture), toute modification des conditions expérimentales rendant l'interprétation difficile.

D'autres méthodes sont applicables : dilutions successives en milieu liquide (croissance bactérienne appréciée par l'apparition d'un trouble).

*DEUXIÈME PARTIE*

*PARTIE*

*EXPÉRIMENTALE*

# *Chapitre I*

## *Matériel et méthodes*

### III. Matériels et méthodes:

Notre travail de recherche a été réalisé au sein du laboratoire de la Faculté des Sciences Naturelles et de la Vie de l'Université d'El Oued.

#### III.1. Matériels :

##### III.1.1. Matériels de laboratoire :

###### A. Appareillage et matériels :

- UV spectrophotometer
- Un chromatographe liquide haute performance HPLC
- Etuve.
- Centrifugeuse.
- Agitateur.
- Balance analytique
- Verrerie : béchers, pipettes, ballons, éprouvettes graduées, tubes à essais, le pipete et micro pipete

###### B. les logiciels

- Logiciel VoltaMaster4, version 7.08, pour obtenu des voltamogrammes.
- Logiciel OriginPro 8, pour dessiner les voltamogrammes, aussi que pour l'élaboration des courbes d'étalonnages et facteur de corrélations.
- Logiciel Microsoft office Excel 2007, pour le calcul des concentrations à partir des courbes d'étalonnage et pour la présentation des résultats.
- Logiciel LC Solution, pour obtenu des chromatogrammes HPLC.

###### C. Réactif et produit chimiques

###### ❖ Solvants et réactifs

- acétate buffer pH=3.6
- Trichlorure d'aluminium  $AlCl_3$
- Trichlorure de fer  $FeCl_3$
- DPPH ( $C_{18}H_{12}N_5O_6$ ) (95%) Production par (ALFA AESAR)
- Réactif Folin Fioaltea ( $3H_2O, P_2O_5, 13WO_3, 5MoO_3, 10H_2O$ ) Production par (PROLABO)

- Eau Ultra pure (Bi distillé) solution tampon ( $H_2Na_2PO_4/HNa_2PO_4$ ) pH=7
- Eau distillée ( $H_2O$ )
- Carbonate de sodium  $Na_2CO_3$
- méthanol 95% ( $CH_3-OH$ ) (99%) Production par (ALFA AESAR) l'eau oxygénée  $H_2O_2$
- acide sulfurique  $H_2SO_4$
- Phosphate de sodium
- FRAP réagent.

❖ **La solution standard utilisée.**

- Acide ascorbique  $C_6H_6O_6$  (99%) Production par (ALFA AESAR)
- acide gallique  $CHO$  (99%) Production par (PROLABO)
- Rutine ( $C_{27}H_{30}O_{16}$ ) (97%) Production par (ALFA AESAR)
- Quercitaine dihydrate  $C_{15}H_{10}O_7$  (97%) Production par (ALFA AESAR)
- acide chlorogénique (97%) Production par (ALFA AESAR)
- acide caféique (99%) Production par (ALFA AESAR)
- acide salicylique (99%) Production par (PROLABO)
- Vanilline (99.5%) Production par (ALFA AESAR)

### III.1.2. Matériel végétale:

#### III.1.2.1. Echantillonnage et description :

Les échantillons d'étude ont été obtenus dans différentes régions de l'État d'El Oued, où le climat est chaud et sec. Tous les échantillons ont été récoltés dans des conditions standard et appropriées pour l'étude.

**Tableau 14: Zones de prélèvement d'échantillon.**

Les échantillons	<i>Brocchia cinerea</i> Vis	<i>Matricaria pubescens</i> (desf) Schultz	<i>Launaea resedifolia</i> O.K	<i>Launaea glomerata</i> (Coss). Hook
Origine	Ben Gacchah	Djamaa	Gmare	Talb arabi

### III.1.2.2.Préparation des échantillons secs.

#### ❖ Séchage des échantillons.

Après l'opération de prélèvement vient l'opération de purification et de séchage, Après le processus de prélèvement d'échantillon on les lave et les nettoie de résidus Microscopiques.

Après avoir obtenu une quantité importante d'échantillons, chacun d'eux est découpé en petits morceaux pour faciliter et accélérer le processus de séchage et placé sur une feuille de papier blanche ou de même sur un tissu épais dans le but de faciliter l'opération de renverse pour deux fois par jour en mettant considération de ne pas exposer les plantes à certains facteurs qui peuvent aboutir à perdre l'efficacité de matière comme les rayons de soleil pour un long temps. A la fin on doit s'assurer que les plantes ne contiennent pas de l'eau ou l'odeur parce que faciliter le fait de mouliner et Protéger les plantes contre la pourriture.

#### ❖ Conservation

Après le bien-écrasé par la machine électrique, on conserve différents types dans des récipients de plastique et tout formées et loin de lumière mais avant, on doit s'assurer que les plantes ne sont pas infectées.



Figure 16: Les échantillons conservés dans des conditions favorables

### III.2.Méthodes

Notre étude a été basée spécifiquement sur le:

1- Dosage des polyphénols totaux

2- Evaluation de l'activité antioxydant des extraits des échantillons.

3- Etude des propriétés antibactérienne

### **III.2.1. Protocole utilisé pour l'extraction des composés phénoliques**

#### **III.2.1.1. Définition d'extraction.**

C'est le fait d'isoler les matières naturelles ou composées de la matière première (la plante) avec l'utilisation des solvants organiques, si la matière qui on veut la séparer est liquide on applique la méthode liquide-liquide ; si la matière est solide on applique l'extraction solide-liquide. [98].

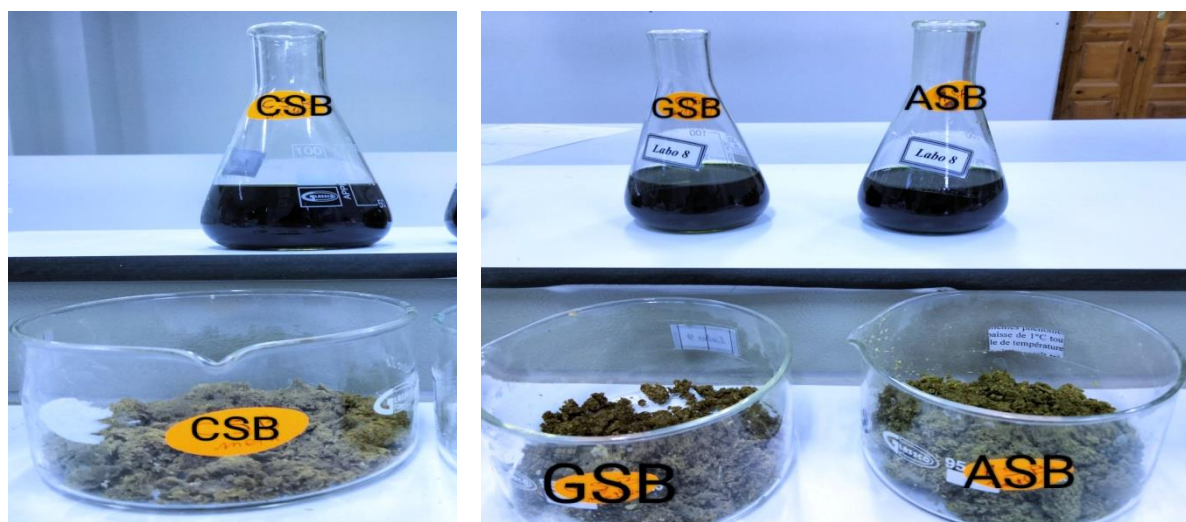
#### **III.2.1.2. L'extraction solide-liquide.**

Dans une cartouche en cellulose, on a mis (10 g) d'échantillon (*Brocchia cinerea* Vis), *Matricaria pubescens* (desf) Schultz, *Launaea resedifolia* O.K., *Launaea glomerata* (Coss) Hook, Cette dernière est ensuite introduite dans un extracteur de type multisoixhlet fixé sur un bucheur qui : contient 80 ml du solvant.

D'après quelque teste on procède à l'épuisement par un solvant polaire méthanol + l'eau distillée (70 :30 v/v) pendant 2 h. [99].

Après l'épuisement, on a procédé à la filtration de nos extraits obtenus afin d'éliminer les substances insolubles. Par la suite, on a transvasé l'extrait dans un ballon pour éliminer tous les solvants à partir d'un évaporateur rotatif muni d'une pompe à vide à une température de 45°C puis à 65°C pour éliminer le solvant. Dans cette dernière étape, on prendra soin de noter la masse du ballon avant et après évaporation afin de calculer le rendement d'extraction, le résidu sec obtenu, est solubilisé dans 15 ml d'méthanol /eau (70 :30) est on a congelé cette échantillon à une température de (-4°C à -5°C) pour protéger ses caractéristiques physicochimique pour l'étudier âpre son efficacité

Les résidus obtenus sont dosés à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible afin de quantifier les teneurs en polyphénols totaux ensuite ils sont analysés par la méthode de voltampérométrie cyclique et Chromatographie liquide de haute performance (HPLC) pour déterminer le pouvoir antioxydant des polyphénols contenus dans les différents échantillons.



**Figure 17: Les échantillons avant et après séchage lors de l'étape d'extraction**

### **III.2.2. Dosage des composés phénoliques par les méthodes colorimétriques « Analyse qualitative**

#### **III.2.2.1. Dosage des polyphénols totaux (PPT).**

Cette analyse permet d'avoir une estimation sur la teneur en phénols totaux de l'échantillon. Le dosage des phénols totaux a été effectué par une méthode adaptée de Singleton et Ross en utilisant le réactif de Folin-Siocalte. Pour quantifier la teneur en polyphénols, il faut utiliser une courbe d'étalon.

##### **• La courbe standard d'acide Gallique:**

Le dosage est réalisé selon la méthode citée avant, en utilisant le réactif de Folin. Le réactif est formé d'acide phosphomolybdique  $H_3PMo_{12}O_4$  et d'acide phosphotungstique  $H_3PW_{12}O_4$  qui est réduits par l'oxydation des phénols en oxydes bleus de tungstène  $W_8O_{23}$  et de molybdène  $Mo_8O_3$ .

Les composés phénoliques totaux sont dosés de la manière suivante, 1 ml des solutions d'acide gallique de concentration de 0.01 jusqu'à 0.1 mg/mL, ensuite 1 ml d'une solution de réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois dans l'eau distillée est ajouté puis immédiatement après il est ajouté 0.8ml d'une solution de  $Na_2CO_3$  (7.5%). Le mélange obtenu est incubé à la température ambiante pendant environ 30 minutes à l'abri de la lumière. L'absorbance de chaque solution a été déterminée à 760nm contre un blanc. Les lectures de la densité optique à 760nm, des solutions ainsi préparées ont permis de tracer la courbe d'étalonnage de l'acide gallique [100].



**Figure 18:** La solution d'extrait après l'addition du réactif pour le dosage.

#### **III.2.2.2. Dosage des flavonoïdes totaux (FVT).**

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode adaptée avec le trichlorure d'aluminium et la soude. Le trichlorure d'aluminium  $AlCl_3$  forme un complexe jaune avec les flavonoïdes et la soude forme un complexe de couleur rose absorbe dans le visible à 510 nm [101].

Pour quantifier la teneur en flavonoïdes, il faut utiliser une courbe standard.

##### **• La courbe standard de Quercitine:**

La courbe d'étalonnage a été obtenue par des solutions de Quercitine de concentration varie entre [0.05 jusqu'à 0.25 mg/ml]. 1,5 ml de chaque solution a été introduits à l'aide d'une micropipette dans des tubes à essai, suivis de l'addition de 0,1 ml de trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ), 2,8 ml de l'eau distillée. Les solutions ont été secouées immédiatement et bien mélangées, puis ils sont maintenus à l'obscurité pendant minutes. L'absorbance de chaque solution a été déterminée à 630 nm contre un blanc et en fin on trace la courbe d'étalonnage de quercitine en fonction de concentration :  $A = f(C)$ . [102].

#### **III.2.3. Technique chromatographie <<Analyse quantitative>>**

La chromatographie est une technique d'analyse qualitative et quantitative de la chimie analytique dans laquelle l'échantillon contenant un ou plusieurs composés est adsorbé sur une

phase stationnaire (papier, gélatine, silice, polymère, silice greffée), puis est désorbé par une phase mobile (liquide, gaz ou fluide supercritique). Les différents composés de l'échantillon sont séparés en fonction de leurs vitesses d'adsorption-désorption. [103].

### III.2.3.1. Chromatographie liquide de haute performance (HPLC).

La HPLC est un moyen très flexible et simple d'isoler et d'identifier les différents composés d'un mélange.

La HPLC peut être assez largement décrite par de théorie commune. Dans ce cas, un fluide appelé phase mobile traverse une colonne qui contient une phase solide (silices, silices fondues, silice greffées)

A l'instant initial, le mélange à séparer est injecté à l'entrée de la colonne où il est entraîné par la phase mobile. Si la phase stationnaire a été bien choisie, les constituants du mélange ayant des temps de rétentions différents sont séparés par élution. Un détecteur placé à la sortie de la colonne couplé à un enregistreur permet d'obtenir un tracé appelé chromatogramme. [104].

### III.2.3.2. Appareillage.

Les analyses ont été réalisées à l'aide d'un chromatographe HPLC-RP-C18, Les différentes parties constituant l'appareil sont décrites ci-dessous

**A) Pompe :** un système de deux pompes, Pompe: LC 20AL, LC20AL pour déplacer la phase mobile à haute pression (plusieurs dizaines de bars).

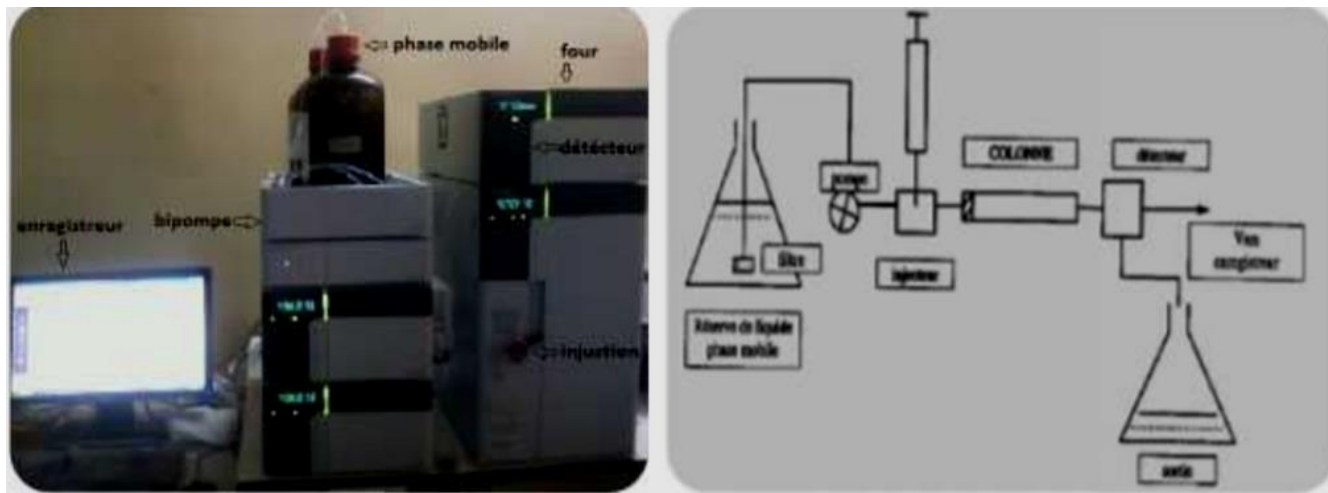
**b) Injecteur :** c'est une vanne d'injection qui porte une boucle d'échantillonnage portant Volume d'injection: 20 µl.

**c) Colonne :** (d'une longueur de 125 mm et d'un diamètre interne de 4,6 mm) contenant la phase stationnaire apolaire (phase inverse), cette dernière est constituée de silice modifié chimiquement par greffage de résidus (C-18), ces colonnes en phase inverse permettent la séparation des composés polaires solubles dans l'eau ou dans les mélanges hydro-alcooliques ;elle contient la phase stationnaire qui définit le type de chromatographie, soit en phase normale soit en phase inverse. et l'éluant utilisé est constitué de deux compositions constante (H<sub>2</sub>O acide acétique, (0.2%), acéto-nitrile)

**d) Détecteur :** un détecteur monochrome: UV SPD-20A à longueur d'onde variable (190-400 nm) qui permet de détecter les différents composés contenus dans l'échantillon à analyser.

Notons qu'il est important que les produits à détecter portent un chromophore qui absorbe dans cette plage de longueur d'onde.

e) **Four:** CTO 20A. [105].



**Figure 19: Chromatographie en phase liquide à haute performance.**

Dans notre étude on a utilisé une HPLC en mode phase inverse, à la quelle nous avons réalisé une analyse qualitative et quantitative des composés polyphénoliques contenant dans nos différents extraits

### III.2.3.3. Les conditions opératoires

Les conditions opératoires qui nous avons utilisée dans notre analyse sont comme suite:

- ✓ Débit: 1ml/min
- ✓ Volume d'injection: 20  $\mu$ l
- ✓ Longueur d'onde: 300 nm
- ✓ Concentration de l'échantillon: 0.1mg/ml
- ✓ Temps d'analyse : 50 min

### III.2.4. Evaluation de l'activité antioxydant des extrais des échantillons.

L'évaluation de l'aptitude du composé (extrait) à piéger des radicaux libres consiste donc à mesurer sa capacité à piéger les radicaux libres et donc à ralentir ou inhiber la création de radicaux libres.

Les tests proposés pour la mise en évidence du pouvoir antioxydant et antiradicalaire de nos extraits phénoliques ont été réalisé par deux types de test chimique:

- Les méthodes spectrophotométrie «teste d'évaluation : FRAP, DPPH, Radicale OH
- Les méthodes électrochimiques << la voltametrie cyclique>>

### **III.2.4.1. Les méthodes spectrophotométrie.**

La spectrophotométrie est une méthode analytique quantitative qui consiste à mesurer l'absorbance ou la densité optique d'une substance chimique donnée en solution. Plus cette espèce est concentrée plus elle absorbe la lumière dans les limites de proportionnalités énoncées par la loi de Beer-Lambert.

La densité optique des solutions est déterminée par un spectrophotomètre préalablement étalonné sur la longueur d'onde d'absorption de l'espèce chimique à étudier. Lorsqu'une lumière d'intensité  $I_0$  passe à travers une solution, une partie de celle-ci est absorbée par le(s) soluté(s). [106].

A la différence des autres tests, ce test permet non seulement de quantifier l'apport de l'activité antioxydante des polyphénols mais aussi d'autres composés antioxydants tel que les vitamines (C, E...) [107]. Pour quantifier la teneur en flavonoïdes, il faut utiliser une courbe standard.

#### **A. Test d'évaluation de l'activité antioxydante totale (PPM).**

Le test du PPM (PhosPhoMolybdate) est une variante du test DPPH. Au cours de cet est l'hydrogène et l'électron sont transférés du composé réducteur (extrait- antioxydant) vers le complexe oxydant (PPM). Ce transfert dépend du potentiel redox, du pH du milieu et de la structure du composé antioxydant.

Le test est basé sur la réduction du molybdène de l'étage d'oxydation (VI) à l'étage d'oxydation(V). Cette réduction se matérialise par la formation d'un complexe verdâtre (phosphate/ Mo (V)) à un pH acide. On mesure la diminution de la coloration du complexe molybdène(VI) en présence d'antioxydant.

#### **• La courbe standard de l'acide gallique.**

L'analyse de molybdate phosphate est réalisée en utilisant le protocole décrite comme suit:

On prépare 100 ml d'un mélange des trois solutions suivantes

- 0.6 M d'acide sulfurique

- 28 mM phosphate de sodium
- 4 mM molybdate d'ammonium

200  $\mu$ l de l'acide gallique dilué sont ajoutés à 2ml de la solution précédente. Le mélange est placé dans un bain marie à une température de 95°C pendant 90 min, après refroidissement l'absorbance a été mesurée à nm 695.

L'évaluation de l'activité antioxydante de nos extraits est comparée par rapport à l'acide gallique qui est utilisé comme antioxydant dans l'industrie agroalimentaire.

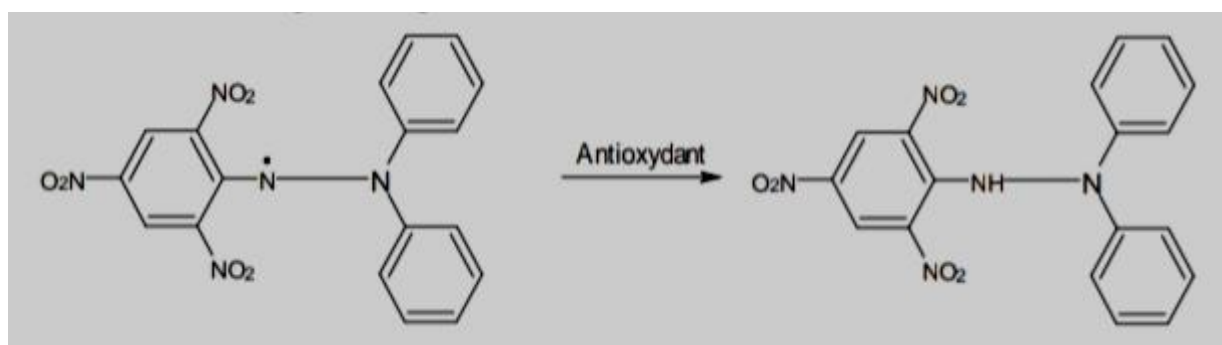
La norme courbe a été préparée en utilisant les concentrations connues de (0,05 à 0,3 mg/ml) [108].

### B. Test du 2-diphényle-1-picrylhydrazyl (DPPH•).

La réduction du radical libre DPPH• par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie UV visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par la présence des extraits phénoliques.

Le DPPH est initialement violet, se décolore lorsque l'électron célibataire s'apparie (Figure 20). Cette décoloration est représentative de la capacité des composés phénoliques à piéger ces radicaux libres indépendamment de toutes activités enzymatiques. Plus la chute de l'absorbance du DPPH est importante plus le pouvoir antioxydant des extraits est élevé.

Ce test permet alors d'obtenir des informations sur le pouvoir antiradicalaire direct de différentes substances phénoliques de nos extraits [109].



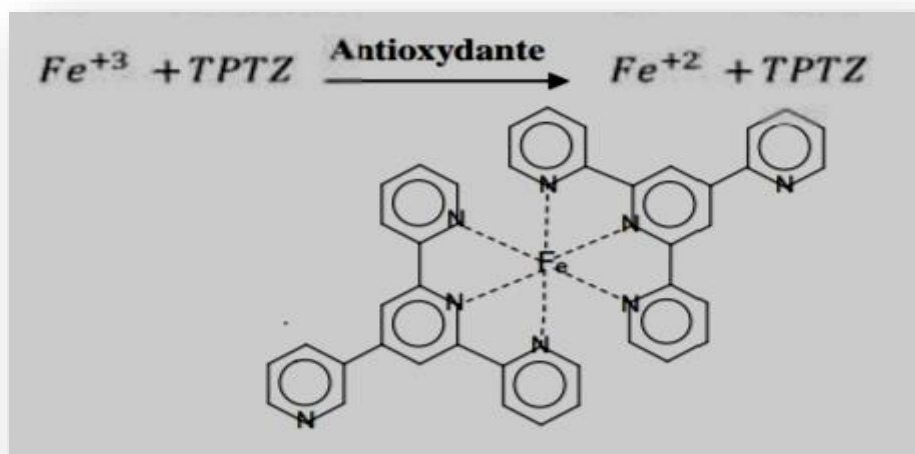
**Figure 20: Réduction du radical libre DPPH**

Les mesures des densités optiques de chaque solution d'extrait à différentes dilutions nous ont permis de calculer le paramètre IC50 qui indique le pouvoir antioxydant d'un composé ou d'un extrait et qui est défini comme étant la concentration de l'extrait exprimée en mg/ml

nécessaire pour balayer 50% du radical DPPH. La valeur d'IC<sub>50</sub> de chaque extrait est déduite à partir des équations des courbes de la variation du pourcentage d'inhibition I% en fonction de la concentration de chaque extrait. Il faut rappeler que plus la valeur de IC<sub>50</sub> est petite plus l'activité antioxydante des extraits est grande [110]

### C. Test du Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP).

La méthode FRAP, c'est un dosage colorimétrique du transfert d'électrons, évalue la réduction du fer (le passage de la forme ferrique à ferreux) en présence d'un antioxydant. Une molécule change de couleur une fois qu'elle est réduite, ce qui permet la quantification par spectrophotométrie. Les avantages de cette méthode sont qu'elle est simple, rapide, peu coûteuse et robuste. En revanche, les désavantages sont qu'elle n'est pas capable de détecter les protéines ou les composés contenant le group SH, incluant les thiols, qui peuvent transférer l'hydrogène. Pour cette raison, le test FRAP sous-estime souvent l'activité antioxydant du sérum sanguin [111].



**Figure 21: Particule TPTZ+ Fe<sup>3+</sup>.**

Pour quantifier la teneur en flavonoïdes, il faut utiliser une courbe standard.

#### La courbe standard d'acide sulfurique:

Le pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP) de dosage fournit une mesure de la réduction de la capacité des extraits. Cette méthode a été créée par Benzie et Strain, Le réactif FRAP était fraîchement préparée par mélange de 10 mM de 2, 4, 6-tripyridyl triazine (TPTZ) et du chlorure ferrique 20mM en 3mM de solution tampon d'acétate buffer (pH 3,6). 100  $\mu$ L des différentes concentrations (de 0,01 à 0,12mg/ml) d'essai ont été ajoutées à 300  $\mu$ L d'eau

---

distillée suivie par 3 ml d' FRAP réactif. L'absorbance a été lue à 593 nm après 30 minutes d'incubation à température ambiante contre une vierge [112].

### **III.2.5. Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion par disque**

:

#### **❖ Principe:**

Cette méthode est très courante dans les laboratoires de microbiologie. Elle est peu coûteuse, facile à réaliser. Elle est très informative, elle permet la détermination de la résistance ou la sensibilité des souches microbiennes vis-à-vis les composés testés et/ou les extraits qui les contiennent.

Le principe de cette technique est le même que celui du test d'antibiogramme, dont les disques sont chargés des extraits et déposés à la surface des milieux de cultures solidesensemencés par des espèces bactériennes bien déterminées.

Les extraits commencent à diffuser dès son application sur le milieu de culture, et pour favoriser la croissance bactérienne, les boîtes sont incubées dans l'étuve pendant 24 heures ou plus selon la bactérie.

L'effet des extraits sur la croissance bactérienne se traduit par l'apparition d'une zone appelée « zone inhibition » dépourvue des bactéries.

#### **❖ Protocole :**

Les différents extraits organiques issus des plantes sont solubilisés dans le diméthylsulfoxyde (DMSO). La gélose de Muller Hinton est coulée dans des boîtes de pétri et inoculée avec une suspension microbienne pure fraîchement préparée. Trois boîtes sont utilisées pour chaque souche.

Des disques de papier Whatman N°3 (Ø 5 mm) stérilisés à 120°C pendant 30 min ont été imbibés de 10 µl d'extraits. Puis ces disques déposés à la surface de la géloseensemencée, l'ensemble est incubé pendant 24 heures à 37°C. Dès l'application des disques imprégnés, l'extrait diffuse de manière uniforme et après 24 heures d'incubation, l'apparition, autour des disques, d'une zone d'inhibition circulaire dans laquelle il n'y a pas de croissance de microorganismes dénote la sensibilité de ceux-ci à cet extrait. Plus la zone d'inhibition est grande, plus le germe est sensible.

# *Chapitre II*

## *Résultats et discussion*

## IV. Résultats et discussion:

### IV.1 Rendement d'extraction des composés phénoliques :

Les extractions des différents composés phénoliques les plus abondants dans notre plante nous a permis de calculer le rendement de chaque extrait notamment les extraits selon la règle générale [113].

$$R \% = \frac{\text{mass de residu extrait} * 100}{\text{Mass initial de végétale}}$$

Le rendement qui a été déterminé par rapport à 10 g de matériel végétal et broyé est exprimé en pourcentage. Les résultats obtenus sont illustrés dans le tableau :

**Tableau 15: Les rendements des extraits de quatre échantillons.**

Les extractions méthanolique	
L'échantillon	Rendement %
Brocchia cinerea Vis	8.978
Matricaria pubescens (desf) Schultz	12.668
Launaea resedifolia O.K	19.35
Launaea glomerata (Coss). Hook	6.205

Les résultats obtenus pour les extraits, montrent que le rendement le plus élevé est celui de l'extrait de Launaea resedifolia O.K (19.35%) suivi Matricaria pubescens (desf) Schultz (12.668) , Brocchia cinerea Vis (8.978 ) et de Launaea glomerata (Coss). Hook (6.205) alors nous pouvons dire que l'extrait Launaea resedifolia O.K constitué grand rendement par rapport aux autres cas.

### IV.2. Dosage des composés phénoliques par la méthode colorimétrique :

Les différents extraits ont des couleurs caractéristiques, cela est due à la présence des pigments végétaux ou bien les polyphénols. Dans notre étude, nous intéressons à quantifier ces substances.

#### IV.2.1. Evaluation des concentrations équivalentes:

L'étude quantitative des extraits bruts des échantillons de deux états de différentes plantes par dosages spectrophotométriques avait pour objectif la détermination de la teneur en polyphénols.

La quantité des polyphénols correspondante a été rapportée en milligramme par un gramme de la matière végétale équivalent en solution standard. L'équation obtenue d'après la courbe linéaire de solution standard est :

$$y = ax \pm b \dots \dots (1)$$

Où :

**y**: représente la valeur d'absorbance.

**x**: représente la valeur de la concentration du standard en mg. ml<sup>-1</sup>.

En remplaçant à chaque fois la valeur d'absorbance dans l'équation précédente, on trouve la valeur de la concentration équivalente de solution standard C<sub>éq</sub> en mg/g.

#### IV.2.2. Quantification des polyphénols totaux (PPT) :

Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme de la matière végétale sèche (mg GAE/g), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique. (Figure 22).

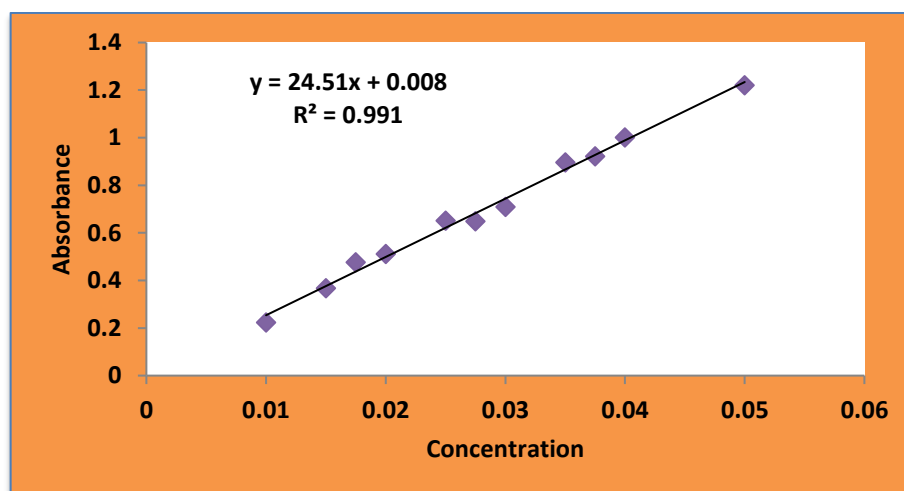


Figure 22: Courbe d'étalonnage de l'acide Gallique (polyphénols)

Pour la quantification des polyphénols dans notre extrais des échantillons on utilise la même mode opératoire illustrer dans (III.2.2.1) mais on remplace l'acide gallique par notre extrait a différents concentration.

Les résultats obtenus ont permis de donner des estimations sur les quantités des polyphénols contenues dans les échantillons et le tableau 16 rassemble les taux en polyphénols totaux dans les différents extraits étudiés.

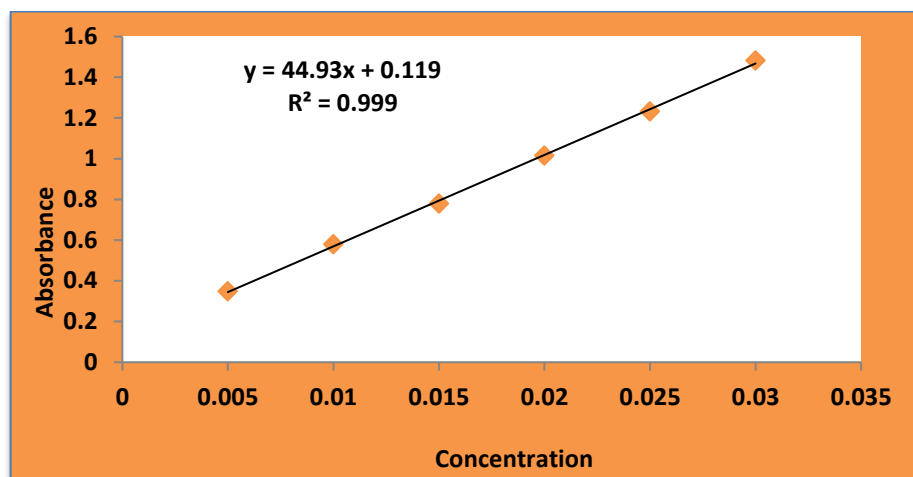
**Tableau 16: Taux en polyphénols totaux des différents extraits :**

Equation : $Y = 24.51x + 0.008$	Teneur en polyphénols totaux (mg/g) des plantes étudiées.			
$R_2 = 0.991$	Méthanolique			
	Brocchia cinerea Vis	Matricaria pubescens (desf) Schultz	Launaea resedifolia O.K	Launaea glomerata (Coss). Hook
	15.717	9.189	8.94	5.944

À travers les résultats de tableau 16. on peut déduire les points suivants: dans les échantillons, le montant en polyphénols se situait entre (15.717mg/g et 5.944 mg/g) où le teneur dans l'échantillon Brocchia cinerea Vis est 15.717 mg/g qui représente la plus haute teneur Quant au Matricaria pubescens (desf) Schultz (9.189mg /g) suivie Launaea resedifolia O.K (8.943) et de glomerata (Coss) Hook (5.944).

#### IV.2.3. Quantification de flavonoïde total (FVT) :

Comme nous avons l'indiqué dans le paragraphe (III.2.2.2) pour la détermination de la teneur en flavonoïde total, une droite d'étalonnage (figure 23) à été tracée pour cette objectif qui est réalisé avec des solutions d'étalons à des concentrations différentes.



**Figure 23: Courbe d'étalonnage de Quercitine (flavonoïde)**

La quantité des flavonoïdes a été rapporté en milligramme par un gramme de la matière végétale sèche équivalent en Quercitine. Le tableau (17) rassemble les taux en flavonoïdes totaux dans les différents extraits étudiés.

On répète même étapes des traitements solution standard de quercitine avec différentes extraits des échantillons.

Les résultats sont exprimés en milligramme (mg) équivalent de la quercitine par gramme de la matière végétale (mg EC/g).

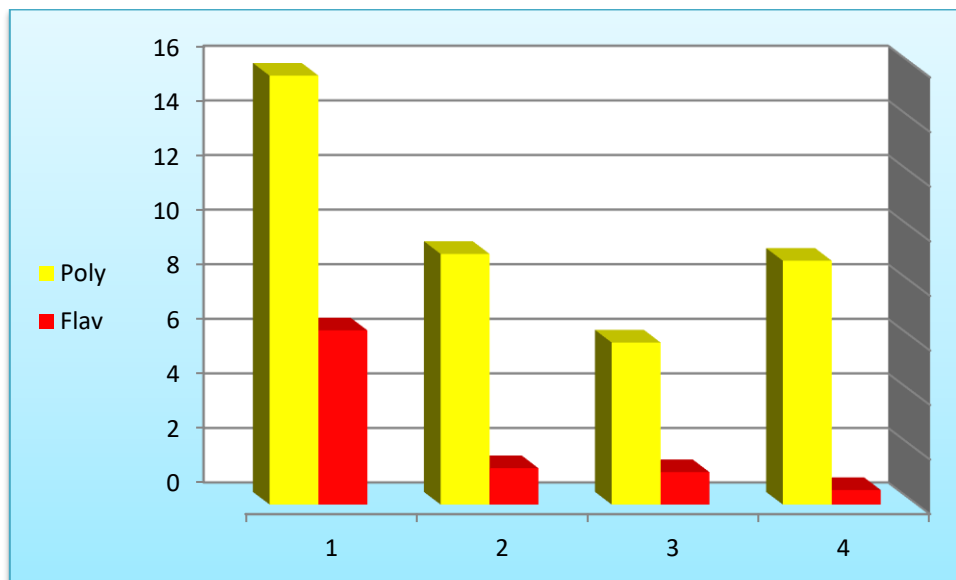
**Tableau 17: Teneur en flavonoïde totaux des différents extraits :**

Equation : $Y=44.93x+0.119$	Teneur en polyphénols totaux (mg/g) des plantes étudiées.			
R2= 0.999	Methanolique			
	Brocchia cinerea Vis	Matricaria pubescens (desf) Schultz	Launaea resedifolia O.K	Launaea glomerata (Coss). Hook
	6.389	1.337	0.535	1.191

D'après les résultats illustrés dans le tableau 17 on a observé des teneurs rapprochées en flavonoïdes dans les extraits (Matricaria pubescens (desf) Schultz, Launaea resedifolia O.K, Launaea glomerata (Coss). Hook (entre 0.535mg/g et 1.337mg/g)) par rapport de Brocchia cinerea Vis (6.389mg/g).

### IV.3. Composition en composés phénoliques des différents extraits :

Les résultats des analyses quantitatives par spectrophotomètre UV-visible des extraits étudiées sont représentés (figure 24) :



**Figure 24: Composition en composés phénoliques des différents extraits**

PPT: polyphénols totaux; FVT: flavonoïdes totaux

1 - Brocchia cinerea Vis

2 - Matricaria pubescens (desf) Schultz

3 - Launaea resedifolia O.K

4 - Launaea glomerata (Coss). Hook

### IV.4. Technique d'analyse chromatographique HPLC.

A 10 g de la matière végétale fraîche et sèche de différentes variétés on a fait l'extraction par les solvants polaires CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH /H<sub>2</sub>O :(70:30 % v/v) d'après eux on filtre l'extrait et conservé à une température de (-4°C à -5°C) jusqu'à l'utilisation. Avant l'analyse, le mélange obtenu est filtré sur papier Whatman N°3

Le débit d'élution est de 1 ml/ minute et la capacité de la boucle d'injection est de 20 µl .La détection a été réalisée à 300 nm. Après chaque cycle, le système est reconditionné pendant 50 minutes avant une nouvelle analyse.

L'étude quantitative des extraits bruts des échantillons de deux états des extraits poivron au moyen par la méthode chromatographie avait pour objectif la détermination de la présence de quelque composants polyphenoliques standard.

La quantité des composé standard « Acide Gallique, Acide chlorogénique , le vanilline et autre correspondante a été rapportée en microgramme par un gramme de la matière végétale équivalente en solution standard. L'équation obtenue d'après la courbe linéaire de solution standard est :

$$y = ax \pm b \dots \dots (2)$$

Où :

**y**: représente la valeur de surface.

**x**: représente la valeur de la concentration du standard en mg.mL<sup>-1</sup>.

En remplaçant à chaque fois la valeur de surface dans l'équation précédente, on trouve la valeur de la concentration équivalente de solution standard C<sub>éq</sub> en mg/g.

#### IV.4.1. Chromatogrammes des étalons :

Le figure (25) Représente le chromatogramme standard des mélanges « sept composants» des étalons utilisés concentration (1 µg/ ml), les analyses sont faites à longueurs d'ondes : 300 nm. L'identification et la quantification de composés phénoliques contenus dans les extraits se font par comparaison du temps de rétention, des surfaces des étalons utilisés par rapport à ceux obtenus en analysant les extraits.

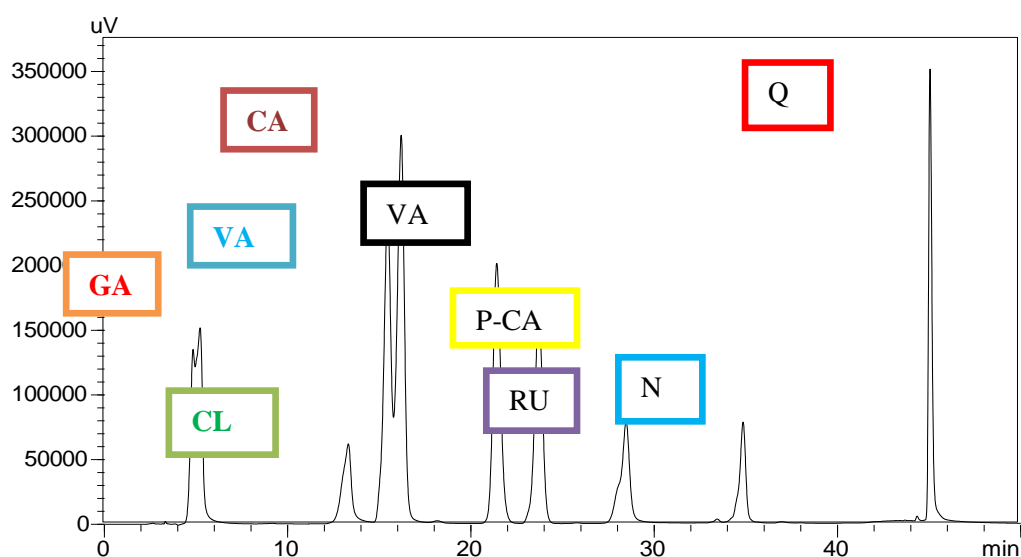


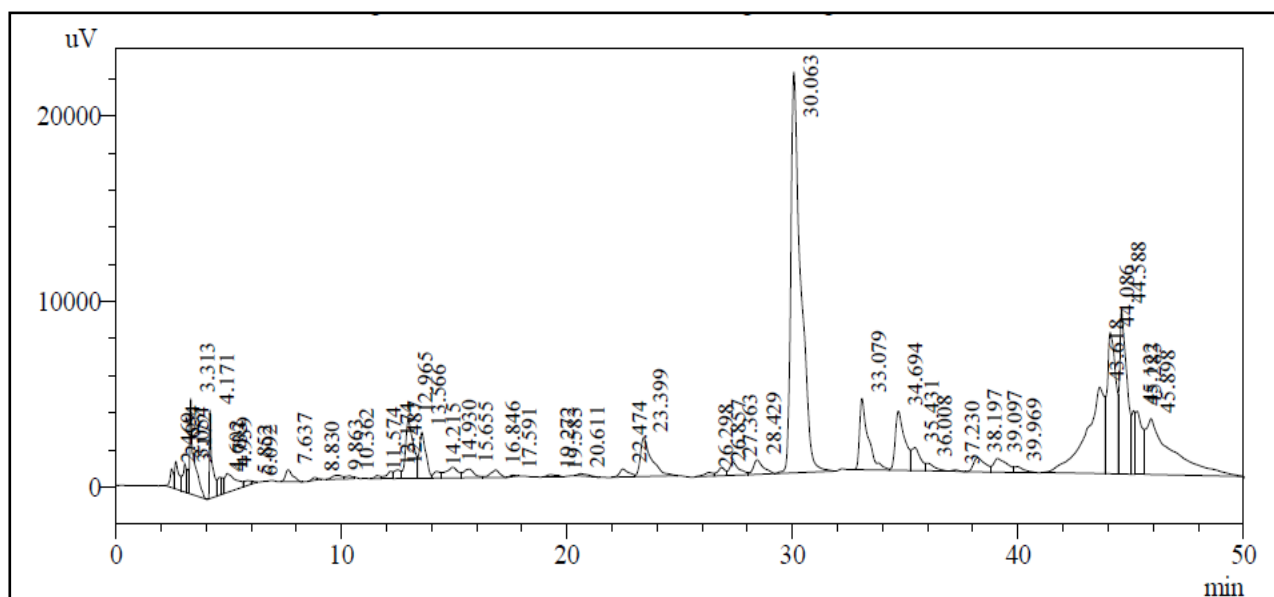
Figure 25: chromatogramme du mélange des étalons.

**Tableau 18: Composés phénoliques identifiés dans les étalons :**

	Nom du Composé	Rt (min)	Equation	R2
01	Acide Gallique	5.29	23616x	0.99864
02	<b>Acide Ascorbique</b>	4.41	75728x	0.9614
03	Acide chlorogénique	13.392	39775x-7232	0.9983
04	Acide caféique	16.277	72328x	0.9986
05	Quercétine	45.047	548x-2832	0.996
06	vanniline	21.46	82773x-1423	0.9984
07	Rutin	28.37	2411298x-1060	0.995

#### IV.4.2. Analyses par HPLC des extraits :

Les chromatogrammes de différents extraits analysés sont représentés au niveau des figures (26) tandis que les résultats des analyses qualitatives et quantitatives sont donnés dans le tableau (18).

**Figure 26: chromatogramme d'extrait Brocchia cinerea Vis**

**CSB:** Brocchia cinerea Vis

**KSB:** Launaea glomerata (Coss). Hook

**GSB:** Matricaria pubescens (desf) Schultz

**ASB:** Launaea resedifolia O.K

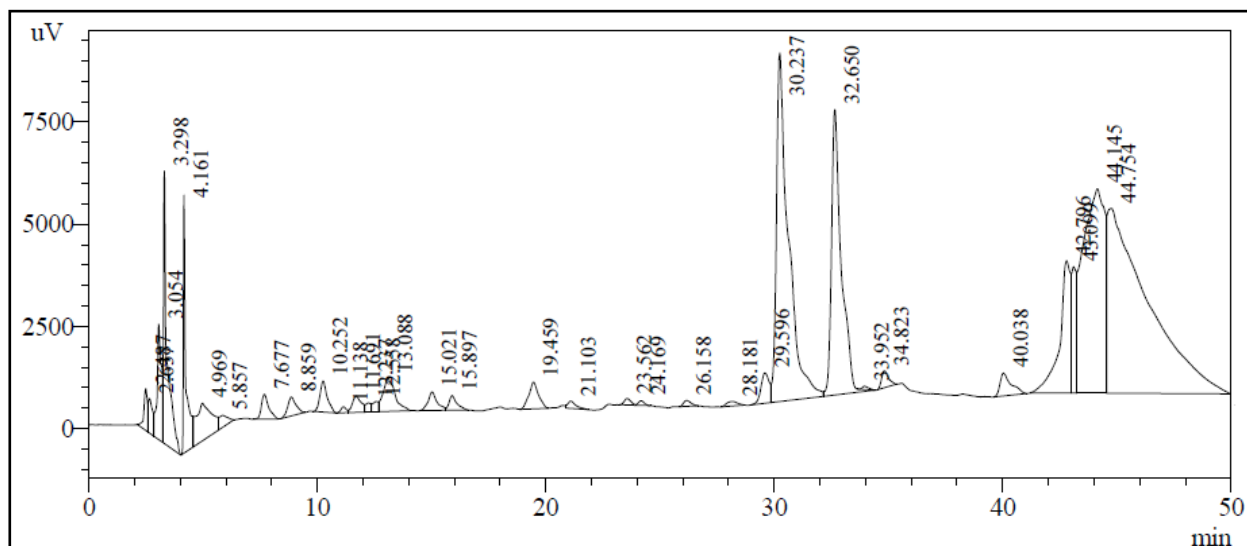


Figure 27: chromatogramme d'extrait *Launaea glomerata* (Coss.) Hook

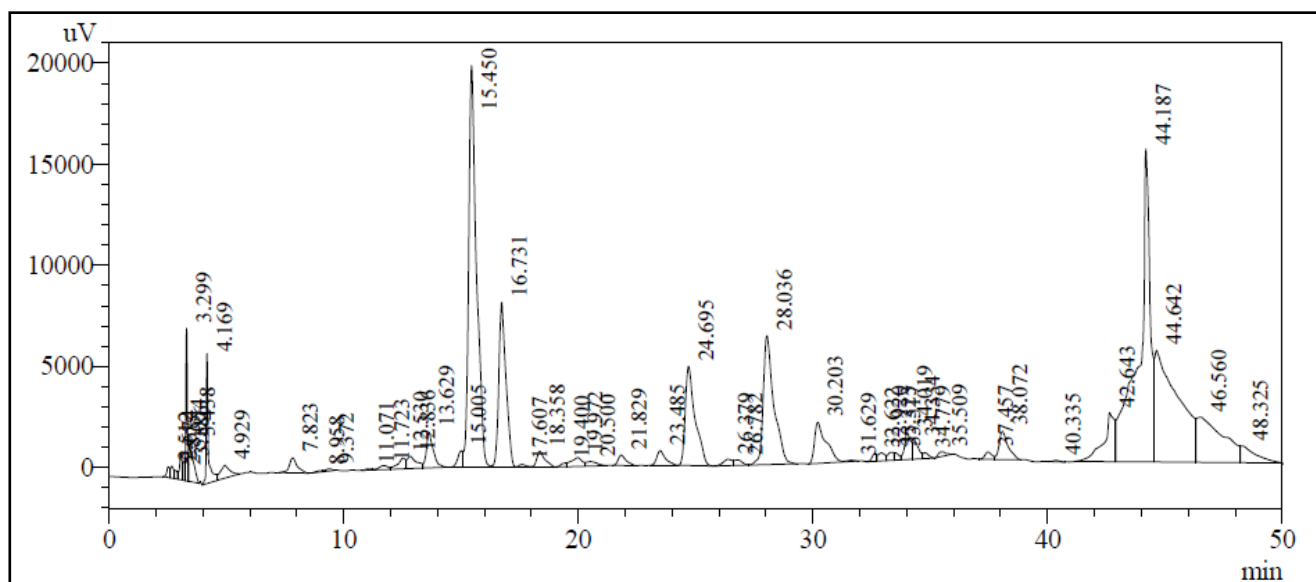
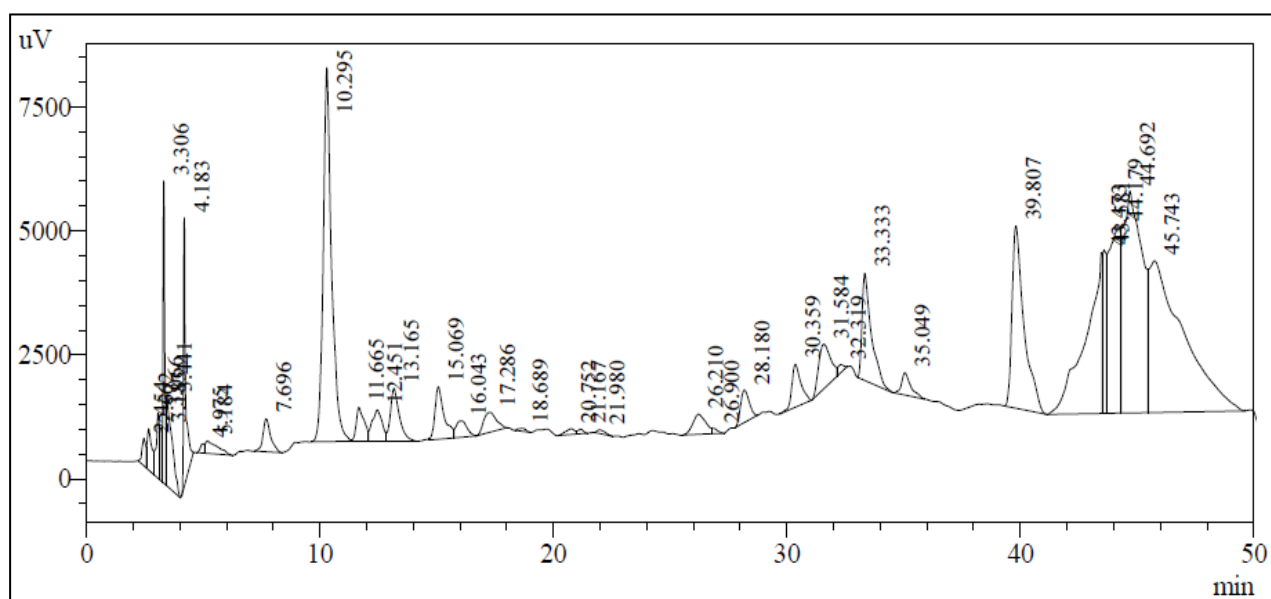


Figure 28: chromatogramme d'extrait *Matricaria pubescens* (desf) Schultz



**Figure 29: chromatogramme d'extrait Launaea resedifolia O.K**

**Tableau 19: Composés phénoliques identifiés dans les extraits**

N°	Nom du Composé	Rt (min)	CSB (µg /g)	KSB (µg /g)	GSB (µg /g)	ASB (µg /g)
01	Acide Vanilic	15.531	2277.954	1085.038	29.479	88.698
02	Acide Ascorbique	4.21	6.86	3.033	5.804	4.727
03	Acide Gallique	5.23	3.661	5.673	266.941	11.609
04	vanilline	21.46	73.789	41.402	14.315	0
05	Acide caféique	16.3	0	0	0	0
06	Quercétine	20.37	0	315.942	1879.501	9158.605
07	Acide chlorogénique	13.62	220.743	56.709	22.802	0

**CSB:** *Brocchia cinerea* Vis

**KSB:** *Launaea glomerata* (Coss). Hook

**GSB:** *Matricaria pubescens* (desf) Schultz

**ASB:** *Launaea resedifolia* O.K

#### IV.5. Evaluation d'activité antioxydant:

##### IV.5.1. Evaluation d'AAO par la méthode spectrophotométrie:

La mesure du potentiel antioxydant est réalisée en déterminant les produits résultant de l'oxydation ou en évaluant l'aptitude à piéger des radicaux de modèles réactionnels. Le premier mode, plus ancien, nécessite une connaissance préalable des composés issus de l'oxydation. En

effet ces méthodes recherchent certains groupements fonctionnels (aldéhydes, cétones, dicarbonylés...) dans les dérivés des constituants d'origine. Le second relie la quantité de radicaux piégés à celle d'antioxydant utilisé.

On a choisis parmi de nombreux modes d'expression de cette mesure d'utiliser le pourcentage d'inhibition (IP) et/ ou l'équivalence en solution standard obtenu par spectroscopie UV-Visible.

Le pourcentage d'inhibition qui permet d'évaluer l'activité antioxydant d'un échantillon se calcul selon la formule suivante:

$$IP\% = (a-b)/a * 100$$

Avec: a = absorbance de la solution oxydée en absence d'agents antioxydant,

b = absorbance de la solution oxydée en présence d'agents antioxydant.

#### IV.5.1.1. Test d'évaluation d'activité antioxydant totale (PPM):

La courbe d'étalonnage est établie en utilisant l'acide gallique comme référence et les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique par gramme de matière sèche (mgEGa/gMs), qui est établie avec un coefficient de corrélation  $R^2 = 0.982$ .

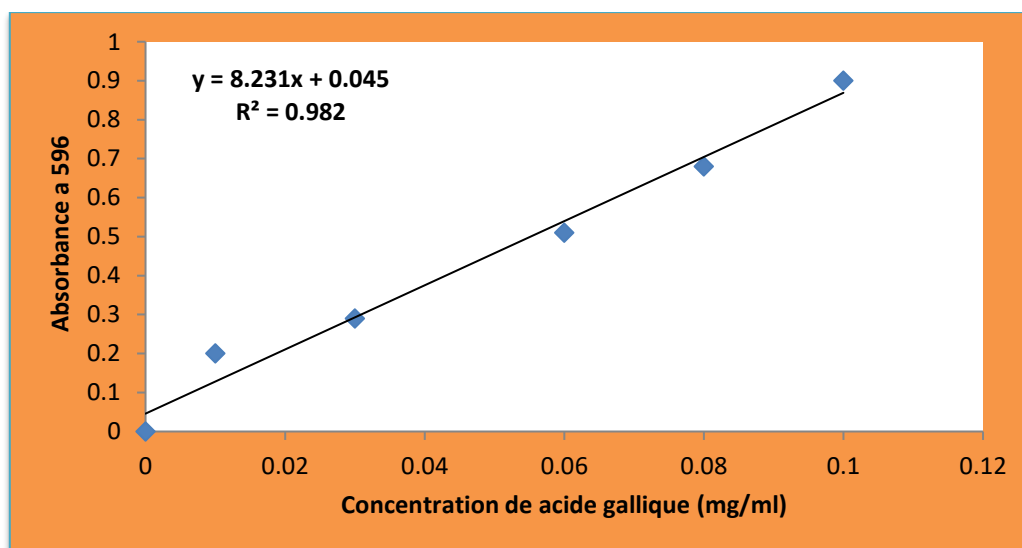


Figure 30: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique(PPM).

Les échantillons à analyser par rapport à la solution témoin (blanc) et les étalons sont analysés dans les mêmes conditions ( voir III.2.4.1 ), on enregistre le changement de valeurs de densité optique en fonction de la concentration, puis on trace la courbe pour déterminer la teneur

l'activité antioxydant totale dans différents extraits, la capacité antioxydant des extraits a été exprimée en termes de mg d'équivalent acide gallique (GAE) / g d'extrait sec ,les résultats sont regrouper dans le tableau suivant:

**Tableau 20:Résultat de Test d'évaluation Activité antioxydant totale :**

Equation :	R2	Extraits	La capacité d'activité antioxydante totale (mg/g) des échantillons
Y=8.231x+0.045	<b>R2=0.982</b>	Brocchia cinerea Vis	56.008
		Matricaria pubescens (desf) Schultz	17.192
		Launaea resedifolia O.K	25.522
		Launaea glomerata (Coss). Hook	18.433

Sur la base des valeurs de concentrations équivalentes on a remarqué que les propriétés antioxydants se varient entre les quatre échantillons comme suit: dans les extraits frais les activités antioxydants ont été classées dans l'ordre suivant: l'extrait de Brocchia cinerea Vis C<sub>éq</sub>=56.008 mg/g , puis l'extrait de Launaea resedifolia O.K C<sub>éq</sub>= 25.522, l'extrait de Launaea glomerata (Coss). Hook C<sub>éq</sub>=18.433 et l'extrait de Matricaria pubescens (desf) Schultz C<sub>éq</sub>=17.192.

#### **IV.5.1.2. Test du 2-diphényle-1-picrylhydrazyl (DPPH•) :**

La quantité de chaque extrait est additionnée à 1ml d'une solution de DPPH• (250µM) préparée dans le méthanol lorsqu'il s'agit de l'extrait phénolique des extraits Le mélange réactionnel a été secoué immédiatement, puis il est maintenu à l'obscurité pendant 30 minutes à une température ambiante pour que la réaction s'accomplisse. L'absorbance du milieu réactionnel a été mesurée à 517 nm contre un blanc. La préparation des échantillons et du témoin est réalisée dans les mêmes conditions opératoires.

Les mesures des densités optiques de chaque solution d'extrait à différentes dilutions nous ont permis de calculer le paramètre inhibition puis de calculer IC50.

$$I \% = ((A0 - A1)/A0) * 100 \dots\dots$$

Avec A0: absorbance du témoin (ne contenant aucun antioxydant) après 30 minutes.

AI: absorbance des extraits mesurés après 30 minutes.

La mesure du pourcentage d'inhibition du DPPH provoquée par la présence des extraits après 30 minutes a permis de déterminer les valeurs de IC50. Les résultats sont consignés dans le Tableau (21).

**Tableau 21: Résultats du test DPPH (mg/ml) :**

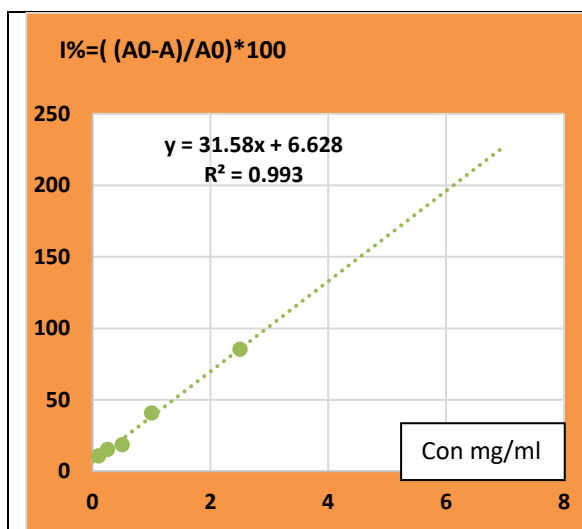
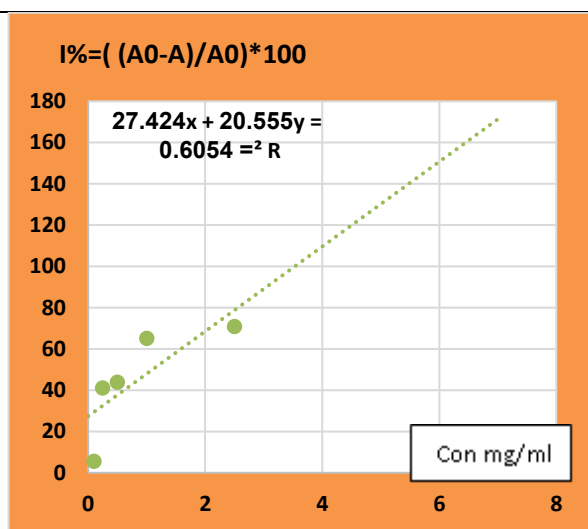
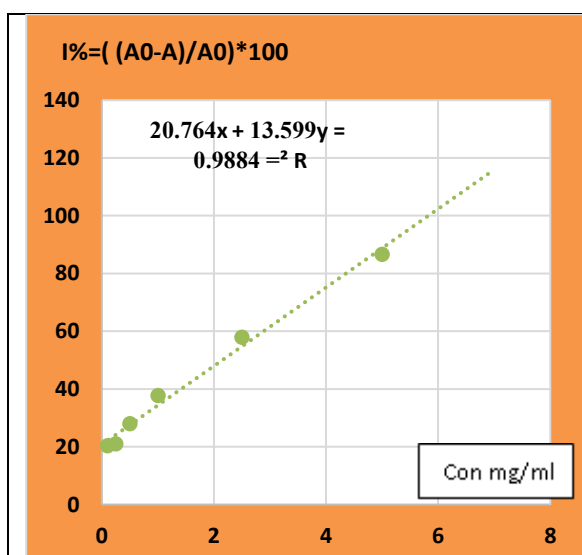
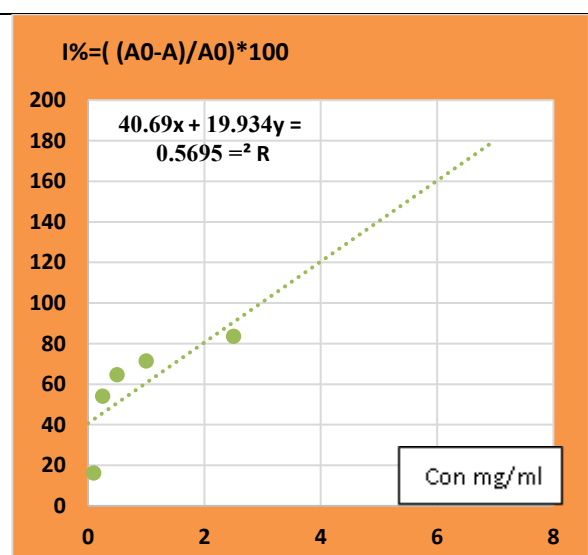
Echantillons	Equation	R2	IC <sub>50</sub>
<b>Brocchia cinerea Vis</b>	19.93x+40.69	0.569	0.467
<b>Matricaria pubescens (desf) Schultz</b>	20.55x+27.42	0.605	1.098
<b>Launaea resedifolia O.K</b>	31.58x+6.628	0.993	1.373
<b>Launaea glomerata (Coss). Hook</b>	13.59x+20.76	0.988	2.149

A la lumière des résultats, on remarque que l'extraits phénolique possèdent une activité antioxydante bien, Les résultats obtenus montrent que l'extrait de *Brocchia cinerea Vis* a une activité antioxydant très élevée (0.467mg/ml) par rapport aux autres échantillons, qui se répartissent comme suit: *Matricaria pubescens (desf) Schultz* (1.098 mg/ml), *Launaea resedifolia O.K* (1.373 mg/ml) alors *Launaea glomerata (Coss). Hook* (2.149 mg/ml).

Ainsi, plus la valeur IC50 est basse, plus la capacité antioxydante est élevée. [114]

Selon les résultats obtenus par rapport au standard (acide ascorbique), l'activité antioxydante la plus élevée

Ainsi, grâce à leur richesse d'acide ascorbique et la valeur la plus élevée est a CSB (6.86mg/g) et aussi l'acide gallique et d'acide chlorogénique (selon HPLC), suivi de GSB alors KSB et ASB.

Figure 31: *Launaea resedifolia* O.KFigure 32: *Matricaria pubescens* (desf)  
SchultzFigure 33: *Launaea glomerata* (Coss.)  
HookFigure 34: *Brocchia cinerea* Vis

#### IV.5.1.3. Test de réduction d'ion fer (FRAP) :

Cette courbe est établie en utilisant l'acide gallique comme référence et les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique par gramme de matière (mgEGa/ gMs).

La courbe d'étalonnage est établie avec un coefficient de corrélation  $R^2 = 0.996$ .

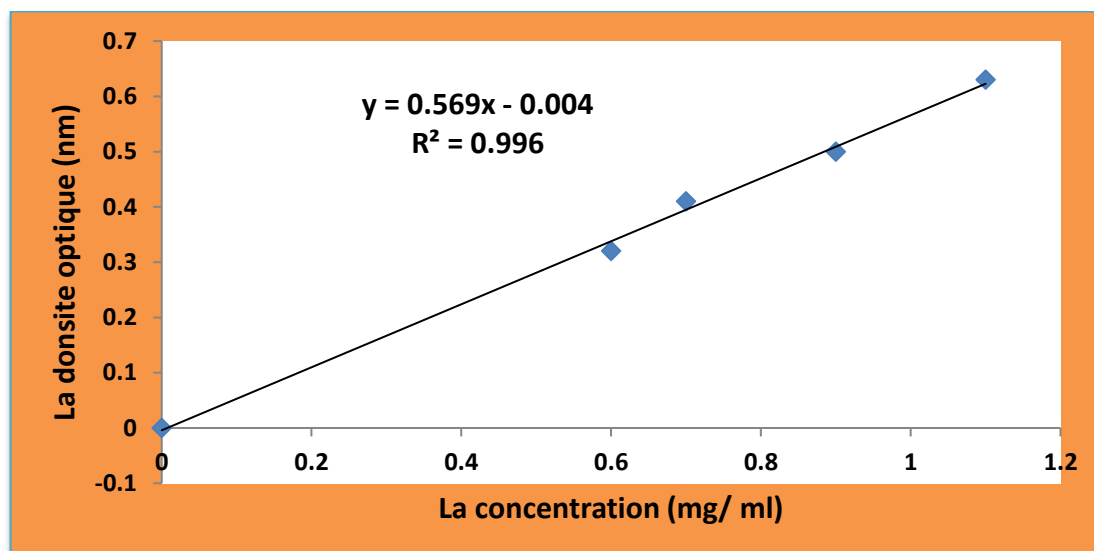


Figure 35: Courbe d'étalonnage d'acide sulfurique.

On Préparer des différents extraits de la même façon de préparation de solution standard d'acide sulfurique pour tracer la courbe d'estimation d'activités antioxydantes.

Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide sulfurique par gramme de la matière végétale (mg /g).

Tableau 22: Résultats du test FRAP (mg/g)

Equation :	R2	Extrait	La capacité d'activité antioxydante totale (mg/g) de
Y=0.569x-0.004	R2=0.996	Brocchia cinerea Vis	0.604 ± 0.18
		Matricaria pubescens (desf) Schultz	1.237 ± 0.028
		Launaea resedifolia O.K	1.571 ± 0.046
		Launaea glomerata (Coss). Hook	1.149 ± 0.03

Comme le montre les résultats illustrés dans le tableau ci-dessus, les capacités antioxydantes sont classées comme suit : Launaea resedifolia O.K (**1.571 mg/g**) > Matricaria pubescens (desf) Schultz (**1.237 mg/g**) > Launaea glomerata (Coss). Hook (**1.149 mg/g**) alors Brocchia cinerea Vis (**0.604 mg/g**).

Nous en concluons que l'échantillon *Launaea resedifolia* O.K a une plus grande capacité à réduire le fer.

Beaucoup de publications ont indiqué qu'il y a une corrélation directe entre les Activités antioxydantes et la puissance de réduction des composants de quelques extraits [113]. [115].

#### IV.6.Evaluation de l'activité antibactérienne

Les résultats des tests antibactériens des extraits préparés à partir des échantillons rassemblés dans le tableau :

**Tableau 23:Diamètres des zones d'inhibition (mm) des extraits des échantillons.**

L'échantillon	Concentration	Zone d'inhibition (mm)		
		Gram-négative	Gram-positive	
		Pseudomonas Aeruginosa	Staphulococcus aureus	Bacillus subtiliis
<b>Brocchia cinerea Vis</b>	0.1mg/ml	8	1	2
	0.2mg/ml	9	3	6
	0.3mg/ml	12	5	8
	0.4mg/ml	1	7	12
<b>Matricaria pubescens (desf). Schultz</b>	0.1mg/ml	0.5	0.75	2
	0.2mg/ml	2	4	3
	0.3mg/ml	3	5	4
	0.4mg/ml	4	6	5
<b>Launaea resedifolia .O. K</b>	0.1mg/ml	2	4	3
	0.2mg/ml	3	5	7
	0.3mg/ml	6	7	9
	0.4mg/ml	8	10	14
<b>Launaea glomerata. (Coss.) Hook</b>	0.1mg/ml	1	1	3
	0.2mg/ml	2	3	5
	0.3mg/ml	4	6	8
	0.4mg/ml	5	8	11

A travers les résultats présentés dans le tableau ci-dessus, nous constatons que tous les extraits sont sensibles aux espèces bactériennes utilisées dans l'étude.

Chez les bactéries Gram négatif, nous constatons que l'extrait de *Brocchia cinerea* Vis est le plus sensible aux bactéries *Pseudomonas Aeruginosa* par rapport aux autres échantillons, puisque le diamètre de la zone d'inhibition bactérienne atteint 12 mm à la concentration de 0,3 mg/ml, suivie de *Launaea resedifolia*.O. K puis de *Launaea glomerata*. (Coss.) Hook et ***Matricaria pubescens* (desf).Schultz**

Quant aux bactéries à Gram positif, on note que l'extrait *Launaea resedifolia*.O. K est plus sensible aux bactéries *Bacillus subtilis*, puisque le diamètre de la zone d'inhibition atteint 14 mm à la concentration de 0,4 mg/ml, suivi de *Launaea glomerata*. (Coss.) Hook, puis de *Brocchia cinerea* Vis et de ***Matricaria pubescens* (desf).Schultz**.

La même observation est observée pour les bactéries *Staphylococcus aureus*.

On peut expliquer les résultats obtenus, qui ont montré que tous les extraits méthanoliques des échantillons étudiés ont une sensibilité significative aux bactéries inhibitrices car ils contiennent des composés phénoliques efficaces qui combattent la croissance des bactéries, .comme l'Acide Gallique, Quercétine, Acide chlorogénique.....etc. [115;116].

# *Conclusion générale*

## Conclusion générale

De nos jours, un grand nombre de plantes médicinales possède des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et en agriculture. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances bioactives, et d'autre part les effets secondaires induits par les médicaments inquiétant les utilisateurs qui se retournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme.

Pour cela, notre contribution à la recherche de composés naturels biologiquement actifs a été réalisée. Elle vise la mise en évidence des activités antioxydante et antibactérienne de certains extraits préparés à partir des quatre plantes *Brocchiacinerea* (Vis.), *Matricariapubescens* (Desf.), *Launaea glomurata* (Coos) Hook et *Launaea resedifolia* O.K.

Ce travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales, notamment les plantes connues dans les milieux populaires du désert de la même famille des Astéracées, en raison de leurs diverses applications traditionnelles, outre les éléments et les matériaux que contiennent ces plantes efficaces et les études réalisées à leur sujet.

Notre contribution à l'étude de ces quatre espèces a ciblé certains composés métaboliques secondaires actifs : les phénols et les flavonoïdes. Le début de ces travaux s'est fait par l'exploitation de l'extrait méthanolique de chaque plante. L'extrait méthanolique de chaque plante a été fractionné par chromatographie liquide à haute performance HPLC. Les résultats de cette analyse ont montré que tous les échantillons sont riches en substances phénoliques actives, notamment en flavonoïdes

L'activité antioxydante des extraits a été étudiée de deux manières : le test FRAP et le test DPPH, Le test DPPH a révélé que *B. cinerea* avec  $IC_{50}=0.467$ mg/ml à piéger les radicaux libres que les autres échantillons, le test FRAP a montré que *Launaea resedifolia* O.K. une capacité à réduire le fer élevée par rapport aux quatre échantillons. où les résultats ont montré que les extraits étudiés contiennent une grande quantité de phénols ainsi que des flavonoïdes qui peuvent jouer un rôle dans la capacité inhibitrice des antioxydants.

L'activité antibactérienne contre les micro-organismes pathogènes, nos travaux appliqués ont abouti à la conclusion de l'efficacité de l'extrait méthanolique sur certaines souches bactériennes épidémiques telles que *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* (Gram+) et

## Conclusion générale

---

*Pseudomonas Aeruginosa* (Gram-) qui sont considérés comme le principal responsable de l'infection. Dans les hôpitaux.

Les résultats obtenus dans cette note sont considérés comme un maillon important et prometteur dans la série de travaux menés au laboratoire de recherche sur la biochimie des milieux désertiques sur les quatre espèces végétales étudiées appartenant à la même famille des Astéracées, que ce soit dans le domaine chimique ou biologique domaine, et la poursuite des travaux sur ces espèces et d'autres espèces similaires de notre région.

Il est considéré comme un vaste domaine de recherche future sur des alternatives .naturelles bénéfiques

# *Références*

## Références

- [1]. M. Bouziane,. « Caractérisation structurale de quelques molécules organiques dans la plante : *Cotula cinerea* de la région de Ouargla », 2002, thèse de Magister, Univ. Kasdi Marbeh, Ouargla.
- [2]. C. Zdero, F. Bohlmann., 1990, *Plant Syst. Evol.*, 171, 1-14.
- [3]. P. Christensen., 1992, *Phytochem.*, 31(1), 7-49.
- [4]. P. Christensen, J. Lam., 1991, *Phytochem.*, 30(8), 2453-2476.
- [5]. C. A. Williams, J. Greenham, J. B. Harborne., 2001, *Biochem. Syst. Ecol.*, 29(9), 929-945.
- [6]. V.P. Emerenciano, J.S.L.T. Milit, C.C. Campos, P. Romoff, M.A.C. Kapland, M. Zambond, A.J.C. Branta., 2001, *Biochem. Syst. Ecol.*, 29, 947-957.
- [7]. F. C. Seaman., 1982, *The Botanical Review*, 48(2), 121-594.
- [8]. J. D. Staneva, M. N. Todorova, L. N. Evstatieva., 2008, *Phytochem.*, 69(3), 607-618.
- [9]. J. Bruneton., « Pharmacognosie. Phytochimie. Plantes médicinales », 2 ème éd., Lavoisier, Paris, 1993
- [10]. Quezel S. et Santa S., 1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertique méridionales. CNRS, Paris, 1168 p.
- [11]. Ozenda P, 2004. Flore et végétation du Sahara. 3ème Ed. CNRS édition.750005 Paris, 92, 438,662
- [12]. M. Bouziane,. « Caractérisation structurale de quelques molécules organiques dans la plante : *Cotula cinerea* de la région de Ouargla », 2002, thèse de Magister, Univ. Kasdi Marbeh, Ouargla.
- [13]. <http://www.ville-ge.ch/musinfo/bd/cjb/africa>. Consulté 2014.
- [14]. P. Christensen., 1992, *Phytochem.*, 31(1), 7-49.
- [15]. C. Oberprieler, S. Himmelreich, R. Vogt., 2007, *Willdenowia*, 37: 89-114.
- [16]. G. Fournier., *Planta Med*, 1989, 55(6), 580.
- [17]. L. El Bouzidi, L. Abbad, K. Fattarsi, L. Hassani, D. N. Leach, M. Markouk., 2011, *Nat. Prod. Com.*, 6(10), 1491-1494.
- [18]. G.H. Mahran, M. Ahmed, S. M. Ansary., 1976, *Bull.Fac.Pharm. (Cairo Univ.)*, 14, 237.
- [19]. A. A. Ahmed., 1987, *J.Nat.Prod.*, 50(3), 519-20.
- [20]. H. Dendougui., « Etude des produits du métabolisme secondaire flavonoïdique et terpénique de quelques plantes des dayas du Sahara Algérien», 2002, thèse de Doctorat, Univ. Mentouri, Constantine

- [21]. H. Dendougui.H., S. Seghir, M. Jay, F. Benayache, S. Benayache., 2012, Int. J. Med. Arom. Plants., 2(4), 589-595.
- [22]. H. Greger, O. Hofer., 1985, phytochem., 24(1), 85-88.
- [23]. J. Jakupovic, M. Abdel Aal, F. Eid, F. Bohlmann, S. El-Dahmy, T. Sarg., 1988, Phytochem., 27(7), 2219-2224.
- [24]. M.A. Metwally, S. El-Dahmy, J. Jakupovic, F. Bohlmann, A.M. Dawidar, S.A. Metwally., 1985, phytochem., 25(1), 255-257.
- [25]. Belyagoubi N. (2012). Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de doctorat. Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen.
- [26]. M. D. Ould El Hadj, Hadj-Mahammed M., H. Zabeirou., 2004, Revue Rivista, Italiana Eppos., 37, 17-25.
- [27]. S. Benhouhou., « A guide to medicinal plants In North Africa » 2005, éd. IUCN Centre for Mediterranean Cooperation. Malaga, Spain. 7-
- [28]. K. Maiza., Pharmacopée traditionnelle saharienne Sahara Algérien », thèse de Doctorat en sciences médicales, Univ. Ben Youcef Benkhedda, Alger
- [29]. K. Maiza, V. Hammiche., Pharmacopée traditionnelle Saharienne : Sahara septentrional, 24-27 mars 1993, Actes du 2ème Colloque Européen d'Ethnopharmacologie de la 11ème Conférence internationale d'Ethnomédecine, Heidelberg, 169-171
- [30]. O. Gherboudj, N. Benkiki, E. Seguin, F. Tillequin, et Z. Kabouche., 2012, Chem. Nat. Comp., 48 (3), 470-471
- [31]. K. Maiza, A. Longeon, V. Hammiche, M. Guyot, F. Benabdesselam-Maiza., 2014, Life Sci. Leaflets, 52, 52-56.
- [32]. MESAI AHMED Iman, La contribution à l'étude phytochimique de deux plantes de la zone aride d'El-Oued, Mémoire de projet de fin d'études en vue de l'obtention du Diplôme de Master, Université M'hamed Bougara de Boumerdès.
- [33]. MAAROUF Bakhta, La flore de succession des périmètres agricoles abandonnés dans la région de Ouargla (Cas palmeraie) : Composition et structure, mémoire de fin d'étude en Vue De L'obtention Du Diplôme d'ingénieur d'Etat en science Agronomiques, UNIVERSITE KASDI MERBAH-OUARGLA, 2013.
- [34]. Dandy, 1956, *Launaea capitata* (Spreng), Sudan, Catalogue of life checklist.
- [35]. م. فيروز، "فصل وتحديد منتوجات الأيض الثانوي للنببتين والفاعلية ضد الميكروبية *launaea glomerata* و *resedifolia*" جامعة قسنطينة، 2014.

- [36]. ب كنزة، ن. أحلام، "دراسة استقصائية في الأدب العلمي في الدراسات الكروماتوغرافية والفصل لمستخلصات نبات العصيد، و نمذجة أهم المركبات المفصولة والفعالة بيولوجيا وحساب شروط استقرارها وخصائص QSAR لها" جامعة قاصدي مرباح بورقلة، 2020.
- [37]. بوغزالة ك، بوهني أ، المساهمة في دراسة التحول الكيميائي والنوعي للمحتوى الكيميائي لنبته كرشة الارنبولاية الوادي، مذكرة تخرج لنيل شهادة الماستر الاكاديمي في البيوكيمياء، جامعة الشهيد حمه لخضر -الوادي-، 2019.
- [38]. بوغزالة ك، بوهني أ، المساهمة في دراسة التحول الكيميائي والنوعي للمحتوى الكيميائي لنبته كرشة الارنبولاية الوادي، مذكرة تخرج لنيل شهادة الماستر الاكاديمي في البيوكيمياء، جامعة الشهيد حمه لخضر -الوادي-، 2019.
- [39]. بالطاهر ك، قدام خ، دراسة مقارنة للمحتوى الكلي للفينولات والالفانويدات لمستخلص نبات كرشة الأرنبلاستعمال مذيبيات، مذكرة تخرج لنيل شهادة الماستر اكاديمي، جامعة الشهيد حمه لخضر -الوادي-، 2020
- [40]. Rezaire A, 2012. Activité anti-oxydante, et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien *Oenocarpus bataua* (patawa). Thèse pour le doctorat en Phytochimie. P : 63.
- [41]. Middleton, E., Kandaswami, C., Theoharides, T.C. ,2000. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol Rev*, 52: 673-839.
- [42]. Abedini A, 2013. Evaluation biologique et phytochimique des substances naturelles d'*Hyptis atrorubens* Poit. (Lamiaceae), sélectionnée par un criblage d'extraits de 42 plantes. Thèse de docteur en Pharmacognosie., Université Lille Nord De France. P : 53,54.
- [43] N. Belyagoubi., « Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien », 2012, thèse de Doctorat, Univ. Aboubakr Belkaïd, Tlemcen.
- [44] Les Propriétés Des Plantes Medicinales, site : <http://www.medicinesnaturelles.com/index.php?to=3&so=3&page=3>; Consulté le 05/05/2016.
- [45]. Leong, LP., Shui, G., 2002. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chem*, 76: 69-75.
- [46]. Hennebelle, T., Sahpaz, S., Bailleul, F. , 2004. Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 1: 3-6.
- [47]. El Gharras, H., 2009. "Polyphenols: Food sources, properties and applications - A review." *International Journal of Food Science and Technology* 44 (12): 2512-2518.

- [48].Marine F.R., Frutos M.J., Perez-Alvarez J.A., Martinez-Sanchez. F., Delrio J.A. Flavonoids as nutraceuticals: Structural related Antioxidant properties and their role on ascorbic acid preservation.
- [49] Bruneton j., (2009). Pharmacognosie et phytochimie. Plantes médicinales. Paris, France : Lavoisier. 366.
- [50]Verpoorter R., Alfermannv A.W., (2000). Metabolic Engineering of plant secondary Metabolism, Ed: Kluwer Academic 128
- [51]Malesev D., Kuntic V. Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoid complexing reactions. Journal of the serbian chemical society. 2007. 72. 921-939.
- [52]Hopkins W.G., (2003). Physiologie végétale. Édition de boeck université-Bruxelles p : 267-283.
- [53] Narayana K. R., Reddy M. S., Chaluvadi M. R., et Krishna D. R., (2001). Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. Indian journal of pharmacology., 33: 2-16.
- [54] W –Erdman J., Balentine J. D., Arab L., Beecher G., Dwyer J. T., Folts J., Harnly., Hollman J. P., L–Keen C., Mazza G., Messina M., Scalbert A., Vita J., Williamson G. et Burrowes J., (2007). Flavonoids and heart health: Proceeding of the ILSI North America flavonoids workshop, may 31-june 1, 2005, Washington. Journal of Nutrition., 137 (3 supp 1): 718 s-737 s.
- [55] Pietta P.G., (2000). Flavonoids as antioxidants. Journal of natural products, vol.63, p1035-1042.
- [56] Heim E.K., Tagliaferro A.R et Bobilya D.J., (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. Journal of nutritional Biochemistry., vol.13, p,572-584.
- [57] Julies A., Christin M., (2002). Dietary flavonoids: Bioavailability, metabolic effects and safety, Annule Review of Nutrition, vol.22, p.19-44.
- [58] Das H.C., Wang J. H et Lien E. J., (1994). Carcinogenicity and cancer preventing activities of flavonoids: A structure-system-activity relationship (SSAR) analysis. 133 –136. In: Jucker Eed. Progress in Drug Research. Basel: Birkhauser Verlag. Das H. C. et Weaver G. M. (1972). Cellulose thin-layer chromatography of phenolic substances. J. Chromatogr. 67, 105 – 111.

- [59] Bidet D., Gagnault J. C., Girard P et Trotin F., (1987). Inflammation, allergie, douleur et acide arachidonique : du jardin des Hespérides à la cascade de l'acide arachidonique : Les flavonoïdes. *L'actualité chimique*. 89 - 97.
- [60] Markham K.R., (1982). *Techniques of flavonoids identification*, Academic press, London.
- [61] Ngwendson J.N., Bedir E., Efang S.M.N., Okunji C.O., Iwu M.M., Schuster B.G., and Khan I.A., (2003). *Pharmazie*. 58:587-589.
- [62] Markham K.R., and Geiger H., (1993). *The Flavonoids Advances in research since 1986*. Edited by J.B., Harborne, Chapman & Hall. London.
- [63]. D. Robert, A. M. Catesson., 2000, « caractéristiques et stratégie évolutives des plantes. Organisation végétative », J. Wolters Kluwer, France Edition, 2, p : 320.
- [64]. N. Mezache., « détermination structurale et évaluation biologique de substances naturelles de quelques espèces de la famille asteraceae: *senecio giganteus* (Desf.) et *chrysanthemum myconis* (L.) », 2010, thèse de Doctorat, Univ. Constantine.
- [65]. C.A. Rice-Evans., N.J. Mille., P.G. Bolwell, P.M. Bramley, J.B. Pridham., 1995, « The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids », *J. Free Radical Research*, 22, p: 375-383.
- [66]. M. Gardès-Albert, D. Bonnefont-Rousselot, Z. Abedinzadeh, D. Jore., 2003, « Espèces réactives de l'oxygène Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? », *Journal mécanisme biochimique*, p : 91-96.
- [67]. N. Balasundram, K. Sundram, S. Samman., 2006, « Phenolic compound in plants and agricultural by products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses », *J. Food Chemistry*, 9, p: 191-20.
- [68]. B. Halliwell, J. M. Gutteridge., (1995), « The definition and measurement of antioxidant in biological system », *J. Free Radical Biol Med*, 18 (1), 125-126.
- [69]. Michael. P, Murph.Y., *Biochem. J.*, 2009. How mitochondria produce reactive oxygen species. 417, 1-13.
- [70]. Belyagoubi N, 2012. *Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien*. THÈSE de docteur en Biologie ., Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen. P : 8, 9, 11.
- [71] Y.R.DAI, C.M.GAO, Q.L.LAI, Y.YIN *planta medica* 1987 ,53(3)309-310.
- [72] Abreu, I.A. and D.E. Cabelli. "Superoxide dismutases--a review of the metal associated mechanistic variations." *Biochim Biophys Acta* 1804. (2010).

- [73] C. Poncelet, C. Sifer, *Physiologie, Pathologie et Thérapie De La Reproduction Chez L'humain*, Springer-Verlag France, Paris,(2011), p.84.
- [74] J.F.Lsgards .Contribution à l'étude du statu antioxydant de l'homme. Aspects chimiques et biochimique, thèse de doctorat, université d'Aix-Marseille, septembre 2000.
- [75] Mohammedi Z. 2006. Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse de Magistère de l'universitéAbou BakrBelkaid de Tlemcen.
- [76] Krishnaiah D, sarbatly R, Nithyanandam R., 2011.A review of the antioxidant potential of medicinal plant species, *Food and Bioproducts Processing*, 89 (3), 217-233
- [77] Favier A. Le stress oxydant : intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'Actualité chimique* 2003 ; 108-117.
- [78] EL kalamouni C, 2010.Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. Thèse Pour l'obtention du Docteur en Sciences des Agroressources., Université De Toulouse. P 58, 59, 70.
- [79] Barlow, S.M., 1990. "Toxicological aspects of antioxidants used as food additives." Ed.Hudson,B.J.F, *Food Antioxidants*: 253-307.
- [80]Evans, R.J. et Reynhout, G.S. ,1992. "Alternates to synthetic antioxidants." *Food Science and human Nutrition*, 29: 27-42
- [81] Mates J.M., Pérez-Gomez C., De Castro I.N., (1999). Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin. Biochem.*, 32(8): 595-603.
- [82] Théron P., Bonnefont-Rousselot D., Davit-Spraul A., Conti M., Legrand A., (2000). Biomarkers of oxidative stress: an analytical approach. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*,3(5):373-84.
- [83] Evans J.L., Goldfine I.D., Maddux B.A., Grodsky G.M., (2002). Oxidative stress and stress- activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabets, *Endocr Rev*, 23:599-622.
- [84] Allard J., Royall D., Kurian R., Muggli R., Jeejee bhoy K., (1994). Effects of  $\beta$ -carotenesupplementation on lipid peroxidation in humans, *Am. J. Clin. Nutr.*, 59: 884 – 90.
- [85] Kohen R, and Nyska A. Invited Review: Oxidation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants, Redox Reactions, and Methods for Their Quantification. *Toxicol. Path.* 2002 ; 30 : 620-650.
- [86] Favier A. Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann. Pharm. Fr.* 2006 ; 64 : 390-396.

- [87] Toure D, 2015. Etudes Chimique Et Biologique Des Huiles Essentielles De Quatre Plantes Aromatiques Médicinales De Côte D'ivoire. Thèse pour le Docteur En Biochimie., Université Félix HOUPHOUËT- BOIGNY. P: 20, 21.
- [88] Ionita P. The Chemistry of DPPH Free Radical and Congeners. *Int. J. Mol.Sci.* 2021, 22, 1545. <https://doi.org/10.3390/ijms22041545>.
- [89] Njoya E.M. Medicinal plants, antioxidant potential, and cancer. 2021.p 349-357.
- [90] Popovici C., Saykova I., Tytkowski B., (2009). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH, *Revue de génie industriel*, 4, 25-39.
- [91] Garcia-Ruiz A., Bartolomé B., Martinez-Rodriguez A.J., Pueyo E., Martin-Alvarez P.J., and Moreno-Arribas M.V. ,2008. Potential of phenolic compounds for controlling lactic acid bacteria growth in wine. *Food Control*.19:835–841.
- [92] Kempf S. Zeitouni. ,2009. Coût biologique de la résistance aux antibiotiques: analyse et conséquences *Pathologie Biologie* : article in press.
- [93] Prescott L.M., Harley J.P. & Klein D.A., 1995. *Microbiologie*. De Boeck ed. p 1014.
- [94] Guinoiseau E, 2011. Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action. Thèse de doctorat en Biochimie - Biologie moléculaire. Université De Corse. P: 5
- [95] Boutlelis D. A, 2014. Etude phytochimique et activité antimicrobienne, antioxydante, antihépatotoxique du Marrube blanc ou *Marrubium vulgare* L. Thèse de docteur En Biologie Végétale., Université Badji Mokhtar - Annaba
- [96] EL kalamouni C, 2010. Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. Thèse Pour l'obtention du Docteur en Sciences des Agroressources., Université De Toulouse. P 58, 59, 70.
- [97] Mogode D. J. 2005. Etude phytochimique et pharmacologique de *Cassia nigricans* Vahl (Caesalpinaceae) utilisée dans le traitement des dermatoses au Tchad. Thèse de pharmacie, FMPOS,
- [98] Petko Ivanov PENCHEV, étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions, thèse en vue de l'obtention du doctorat de l'université de Toulouse, 2010
- [99] G. Yakhlef, Etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de *Thymus Vulgaris* L. Et *Laurus Nobilis*, Mémoire présentée pour l'obtention du diplôme de magister en biochimie appliquée (2009).

- [100] Ivana Karabegovi, Milena Nikolova, and Miodrag Lazi, comparison of antioxidant and antimicrobial activities of methanolic extracts of the artemisia sp. recovered by different extraction techniques, biotechnology and bioengineering chinese journal of chemical engineering, 19(3) 504-511 (2011) .
- [101] Zhishen, J; Mengcheng, T; Jianming ,W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals, Food chemistry, (1999),64 (4): 555- 559.
- [102] Selma Dziri, Imed Hassen, Saloua Fatnassi, Yassine Mrabet, Herve´ Casabianca, Belgacem Hanchi, Karim Hosni, Phenolic constituents, antioxidant and antimicrobial activities of rosy garlic (*Allium roseum* var. *odoratissimum*), science direct, 2012, 1-10.
- [103] Stok et Rice , chromatographic methods , third edition by John et sons , inc 1994
- [104] François Nsemi Muanda , identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques, thèse présentée en vue de l'obtention du grade de docteur de l'université paul verlaine-metz, spécialité: chimie organique, 116-118, 2010 .
- [105] Xiang, Y.; Liu Y. and Lee M.L. "Ultra-high pressure liquid chromatography using elevated temperature". Journal of Chromatography (2006).
- [106] Giardi MT, Rea G, Berra B (2010) Bio Farms for Nutraceuticals: Functional Food and Safety Control by Biosensors. Landes Bioscience and Springer Science+Business Media.
- [107] Berche P., Gaillard J.L., Simonet M., 1988. Bactériologie, les bactéries des infections humaines. Ed Flammarion Médecine-Sciences, Paris, 660 p.
- [108] Fallah Hanen, Ksouri Riadh , Oueslati Samia , Guyot Sylvain , Magné Christian , Abdelly Chedly , Interspecific variability of antioxidant activities and phenolic composition in *Mesembryanthemum* genus , food and chemical Toxicology 47 , 2308-2313 , 2009.
- [109] Sanchez Moreno, C , Review, methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods Sci. Tech. I , 8(3) : 121-137.
- [110] P. Molyneux, Song Klana Karin J. sci technol., 26 (2004) 211-219.
- [111] Melle KANOUN KHADIDJA, contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *myrtus communis* l. (rayhane) de la région de Tlemcen (Algérie), mémoire en vue de l'obtention du diplôme de magister en biologie, université aboubekr belkaid Tlemcen, 2011.

[112] C.W.Daniels et al /South African journal of Botany 77, 711-717(2011).

[113] Yildirim, A; Mavi ,A; Kara, A.A. (2001). Determination of antioxidant and antimicrobialactivities of Rumex crispus L. extracts, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49: 4083-4089.

[114] حريف.ه ،رقبيبي.ص، " . بحث فيتوكيميائي و بيولوجي لمستخلصات بيوتانولية متحصل عليها من نباتات برية صحراوية، " . جامعة قاصدي مرباح ورقلة.2017

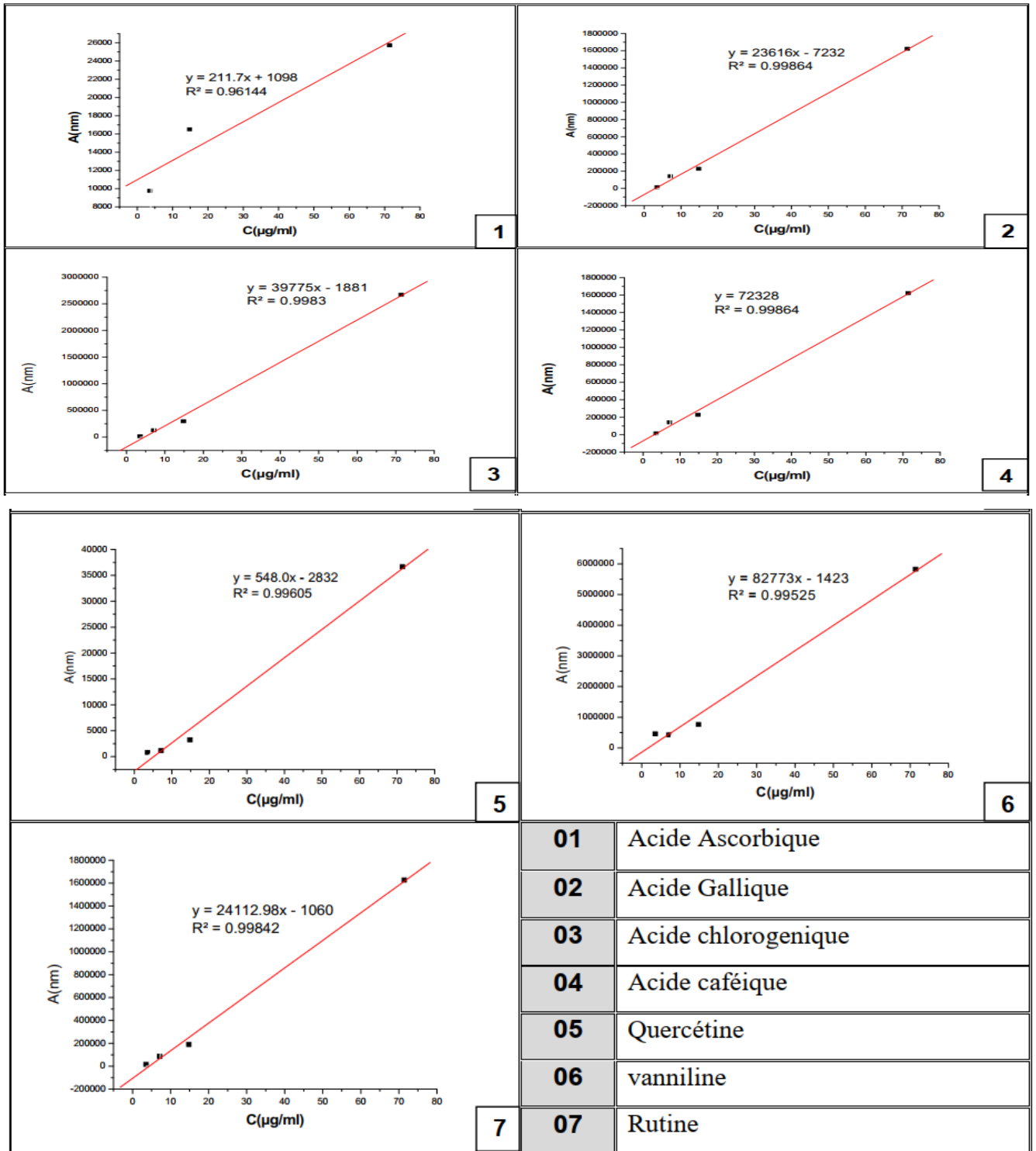
[115]. Perry J.J., Staley J.T., Lory S., Microbiologie. Cours et questions de révision. Ed. Dunod, 2004

[116]. Mohammed Tahar. B, Khaled .K, Hassina. H, Samia L, Youcef HadeF. 2020. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil of Brocchia cinerea VIS. from Algeria.124

# *Annexes*

Annexe

Les courbes standards de HPLC:



- |    |                     |
|----|---------------------|
| 01 | Acide Ascorbique    |
| 02 | Acide Gallique      |
| 03 | Acide chlorogénique |
| 04 | Acide caféique      |
| 05 | Quercétine          |
| 06 | vanniline           |
| 07 | Rutine              |