



UNIVERSITE ABBES LAGHROURKHENCHELA  
Faculté des sciences de la nature et de la vie  
Département de biologie moléculaire et cellulaire



Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de

*Master Académique*

Filière : Sciences Biologiques

Option : *Biochimie appliquée*

*Thème*

*Etude des activités biologiques des plantes  
médicinales*

Présenté Par :

*Bouziane Nour- El -Houda*

*Ben Bouzid Dalia*

Soutenu le : 02/ 07/2017

Jury de soutenance :

Président : M.Bouazza Lyas                      MCB Université Abbes Laghrou-Khenchela

Encadreur : M.Habibatni Sofiane            MAA Université Abbes Laghrou-Khenchela

Examineur : Mme.Bouakkaz Amel        MCB Université Abbes Laghrou-Khenchela

*2016 /2017*

# Remerciements



*Au nom d'Allah le plus grand, merci lui revient de nous avoir guidées vers le droit chemin, de nous avoir aidées tout au long de nos années d'étude. Beaucoup de gens ont soutenu nos efforts, nous tenons à les remercier pour leurs aides, leurs soutiens et participations.*

*Nous remercions Dr. BOUAZZA Lyas d'avoir accepté de Juger mon travail en tant que président*

*Nous remercions Mme. BOUAKKAZ Amel d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail. Nous tenons à remercier aussi vivement notre encadreur, M. HABIBATNI Sofiane pour les orientations et les encouragements précisément quand nous en avions le plus besoin et sans lui il n'aurait été presque impossible de produire le présent travail.*

*Nous ne saurions remercier ici les personnes dont la collaboration a été essentielle pour la réalisation de certaines étapes de ce travail nous citons spécialement : Mr. BOUSSAA. A, Mizane Sara, Himer Lamia.*

*Enfin, nos plus sincères remerciements vont spécialement à nos très chers parents, ainsi qu'à tous nos proches et amis, qui nous ont toujours soutenus et encouragés au cours de la réalisation de ce mémoire.*

*Merci à toute personne qui nous a aidées de loin ou de près.*

*Bonheur et Stabilité à notre chère patrie  
L'ALGERIE*

## Dédicace

♥ Avant tout, je remercie « Allah » le tout grand et le tout puissant

Pour avoir guidé mes pas vers un avenir inchaallah prometteur et me donné la volonté, la patience et le courage ♥

♥ Pour terminer mes études universitaires et réaliser ce travail qui est le fruit de plusieurs années ♥

♥ Je dédie ce mémoire à ma chère famille :

À mes très chers parents qui m'ont donnée un magnifique modèle de labeur et de persévérance ♥

♥ L'espoir de ma vie et la lumière de minuits: ma mère Nouara et bien sûr ma source de courage et de générosité aussi pour ses conseils et son sacrifice mon père Ammar ♥

♥ À mon cher frère : Salah

À mes chères sœurs : Hamama, Iman, Fahima, Silina

À toute ma grande famille "Ben Bouzid" ♥

♥ À mon encadreur Mr. *HABIBATNI Sofiane* pour son aide jusqu' au dernier moment à fin de préparer ce mémoire ♥

À la promotion de Master II Biochimie 2016-2017

À mes chères amies : Nassima, Sabah, Khaoula, Abir, Houda, Rofayda, Wahiba, Sonia, Loubna, Rafika.....♥

♥ À tous qui me connaisse de près ou de loin ♥

♥ BEN BOUZID DALIA ♥

## Dédicace

♥ Avant tout, je remercie « ALLAH » le tout grand et le tout puissant

Pour avoir guidé mes pas vers un avenir inchaallah prometteur et Ce  
donné la volonté, la patience et le courage ♥

♥ Pour terminer mes études universitaires et réaliser ce travail qui est le fruit  
plusieurs années ♥

♥ Je dédie ce mémoire à ma chère famille :

À mes très chers parents qui m'ont donné un magnifique modèle de labeur et  
persévérance ♥

♥ L'espoir de ma vie et la lumière de minuits: ma mère Saïda et bien sur  
ma source de courage et de générosité aussi pour ses conseils et son sacrifice  
mon père Belkacem ♥

♥ À mes chers frères : Mohamed Hayethem , Ihab Alaadine ,

Abed elghani

A ma chère sœur : Amina.

À toute ma grande famille "Bouziane" ♥

♥ À mon encadreur Mr. *HABIBATNI Sofiane* pour son aide jusqu' au dernier  
moment à fin de préparer ce mémoire ♥

♥ À ma promotion de Master II Biochimie 2016-2017

À mes chères amies : Soumia , Houda, Sara, Wissam, Rofayeda, Wana  
Loubna Sonia Nassima, Sabah, Khaoula, Abir, Radja, Abla ,Rafika.....♥

♥ À tous qui me connaisse de près ou de loin ♥

♥ **BOUZIANE NOUR EL HOUDA**

<b><i>SOMMAIRE</i></b>	
Liste des figures.....	<b>i</b>
Liste des tableaux.....	<b>ii</b>
Liste des abréviations.....	<b>iii</b>
Résumé.....	<b>iv</b>
Introduction générale.....	<b>v</b>
<b>CHAPITRE 1 : Généralités sur les plantes étudiées</b>	<b>01</b>
<i>La plante : Onopordum acanthuim</i>	<b>03</b>
<b>I.1.Définition</b>	<b>03</b>
<b>I.2. Habitation</b>	<b>03</b>
<b>I. 2. 2. Systématique de la plante</b>	<b>04</b>
<b>I.2.4.Description botanique</b>	<b>04</b>
<b>I.2.5. Utilisations en médecine traditionnelle</b>	<b>05</b>
<i>La plante Juniperus phoenicea</i>	<b>06</b>
<b>II.1.Définition</b>	<b>06</b>
<b>II.6. Habitation</b>	<b>07</b>
<b>II .5. Systématique de la plante</b>	<b>07</b>
<b>II.2. Caractères etdescription botanique</b>	<b>07</b>
<b>II.3. Utilisation traditionnelle</b>	<b>08</b>
<i>La plante badiane</i>	<b>09</b>
<b>III.1. Définition de la plante</b>	<b>09</b>
<b>III.3. Habitation</b>	<b>09</b>
<b>III.4. Systématique de la plante</b>	<b>09</b>
<b>III.2. Description botanique</b>	<b>09</b>
<b>III.5. Utilisation traditionnelle</b>	<b>10</b>
<i>La plante Elettaria cardamomum(Zingibéracées)</i>	<b>10</b>
<b>IV.1. Définition</b>	<b>10</b>
<b>IV.2. Habitation</b>	<b>11</b>

<b>IV.3. Systématique de la plante</b>	<b>11</b>
<b>IV.4 .Description botanique</b>	<b>11</b>
<b>IV.5 .Utilisation traditionnelle</b>	<b>11</b>
<b>CHAPITRE 2 : Les métabolites secondaires</b>	<b>12</b>
<b>1-Définition</b>	<b>12</b>
<b>2- Classification des métabolites secondaires</b>	<b>12</b>
<b>2-1- Les composés phénoliques</b>	<b>12</b>
<b>2-1-1 -Définition</b>	<b>12</b>
<b>2-1-2- Structure chimique</b>	<b>12</b>
<b>2-1-3- Propriétés biologiques des polyphénols</b>	<b>13</b>
<b>2-1-3-1- Activité antioxydant</b>	<b>13</b>
<b>2-1-3-2- Effets anti-trombotique et vasodilatatoires</b>	<b>13</b>
<b>2-1-3-3- Effet antiallergique</b>	<b>13</b>
<b>2-1-3-4- Effet anti-inflammatoire</b>	<b>14</b>
<b>2-1-3-5-Effet anticancéreux</b>	<b>14</b>
<b>2-1-4- Classification des polyphénols</b>	<b>14</b>
<b>2-1-4-1- Les acides phénoliques</b>	<b>14</b>
<b>2-1-4-2- Les flavonoïdes</b>	<b>14</b>
<b>2-1-4-2-1- Définition</b>	<b>14</b>
<b>2-1-4-2-2- Structure des flavonoïdes</b>	<b>15</b>
<b>2-1-4-2-3- Classification des flavonoïdes</b>	<b>15</b>
<b>2-1-4-3-Les lignanes</b>	<b>16</b>
<b>2-1-4-3-1-Définition</b>	<b>16</b>
<b>2-1-4-4- Les stilbènes</b>	<b>16</b>
<b>2-1-4-4-1-Définition</b>	<b>16</b>
<b>2-1-4-5- Les coumarines</b>	<b>16</b>

<b>2-1-4-5-1- Définition</b>	<b>16</b>
<b>2-1-4-5-2-Activités biologiques et intérêts pharmacologiques des coumarines</b>	<b>17</b>
<b>2-1-4-6- Les tannins</b>	<b>17</b>
<b>2-1-4-6-1- Définition</b>	<b>17</b>
<b>2-1-4- 6-2-Classification</b>	<b>17</b>
<b>2-1-4-6.2.1 Les tannins hydrolysables</b>	<b>18</b>
<b>2-1-4-6.2.2 Les tannins condensés</b>	<b>18</b>
<b>2-1-4-6-2- Rôle des tannins dans les plantes</b>	<b>18</b>
<b>2-2-Les alcaloïdes</b>	<b>18</b>
<b>2-2-1- Définition</b>	<b>18</b>
<b>2-2-2- Effet des alcaloïdes sur la plante</b>	<b>19</b>
<b>2-3-Les terpenoïdes</b>	<b>19</b>
<b>2-3-1 -Définition</b>	<b>19</b>
<b>2-3-2- Structure des terpenoïdes</b>	<b>19</b>
<b>2-3-3- Les huiles essentielles et leur relation avec les terpenoïdes</b>	<b>20</b>
<b>2-3-3-1- Définition</b>	<b>20</b>
<b>2-3-3-2- La structure des composées des huiles essentielles</b>	<b>20</b>
<b>2-3-3-3- Propriétés physico-chimiques</b>	<b>20</b>
<b>2-3-3-4- Activités biologiques des huiles essentielles</b>	<b>21</b>
<b>2-3-3-4-1-Activités antioxydante</b>	<b>21</b>
<b>2-3-3-4-2- Activité antimicrobienne</b>	<b>21</b>
<b>CHAPITRE 3 : Matériel et méthodes</b>	<b>22</b>
<b>I – Matériel</b>	<b>22</b>
<b>I -1-Materiel végétal</b>	<b>22</b>
<b>I- 2-Les souches bactériennes</b>	<b>22</b>
<b>I -3-Produits utilisées</b>	<b>23</b>

<b>I -4-Appareillage</b>	<b>23</b>
<b>II –Méthodes</b>	<b>23</b>
<b>II -1-Extraction</b>	<b>23</b>
<b>II -1-1-extraction par macération</b>	<b>23</b>
<b>II -1-2-extraction par soxhlet de <i>Juniperus phoenicea</i></b>	<b>23</b>
<b>II -1-3-extraction des huiles essentielles par hydrodistillation</b>	<b>25</b>
<b>II -2-Calcul du rendement</b>	<b>26</b>
<b>II -3-Screening chimique</b>	<b>26</b>
<b>II -3-1 Les flavonoïdes : test de Shinoda</b>	<b>27</b>
<b>II -3-2 Les alcaloïdes : test de Mayer</b>	<b>27</b>
<b>II -3-3 Les triterpènes et les stéroïdes : test de Liebermann-Burchard</b>	<b>27</b>
<b>II -3-4 Test des composés phénoliques</b>	<b>27</b>
<b>II -3-5 Test des saponines</b>	<b>27</b>
<b>II -3-6 Test des tannins</b>	<b>27</b>
<b>II -3-7 Test des anthocyanines</b>	<b>28</b>
<b>II -3-8 Test des coumarines</b>	<b>28</b>
<b>II -4- Dosage des polyphénols totaux</b>	<b>28</b>
<b>II -5-Dosage des flavonoïdes</b>	<b>28</b>
<b>II -6-Etude des activités biologiques des extraits</b>	<b>29</b>
<b>II -6-1-Activité antioxydante totale (TAC)</b>	<b>29</b>
<b>II -6- 1-1-Principe</b>	<b>29</b>
<b>II -6-1-2- Dosage</b>	<b>29</b>
<b>II -6-2-Activité antibactérienne par diffusion en milieux gélosés</b>	<b>29</b>
<b>II -6-2-1-Protocole de l'activité antibactérienne</b>	<b>30</b>
<b>II -7- Etude statistique</b>	<b>32</b>
<b>Chapitre 4 : Résultats et Discussion</b>	<b>33</b>

<b>I –Etude phytochimique et dosage</b>	<b>33</b>
<b>I-1- Détermination de rendement d’extraction</b>	<b>33</b>
<b>I-2-Tests phytochimiques</b>	<b>35</b>
<b>I -3-Dosage des polyphénols</b>	<b>36</b>
<b>I -4-Dosage des flavonoïdes</b>	<b>38</b>
<b>II-les activités biologiques des extraits</b>	<b>39</b>
<b>II-1- Activité antioxydante totale (TAC)</b>	<b>39</b>
<b>II-2- Activité antibactérienne</b>	<b>41</b>
<b>Conclusion</b>	<b>45</b>
<b>Perspectives</b>	<b>46</b>
<b>Références bibliographiques</b>	<b>47</b>
<b>Annexe .....</b>	

## *Liste des figures*

<b>Figure 1</b> : La plante <i>Onopordum acanthium</i> « Elhadheban Elmahmel Khenchela »	<b>04</b>
<b>Figure 2</b> : les feuilles et les fleurs d' <i>Onopordumacanthium</i> .	<b>05</b>
<b>Figure 3</b> : <i>Juniperus phoenicea</i> (Genévrier rouge) Les fruits (baies) et feuilles.	<b>06</b>
<b>Figure 4</b> :La plante <i>Juniperus phoenicea</i>	<b>07</b>
<b>Figure 5</b> : La plante l'anis étoile.	<b>09</b>
<b>Figure 6</b> :Graines et cosses écrasées Cosses fraîches sur tige.	<b>10</b>
<b>Figure 7</b> : Groupe phénol	<b>12</b>
<b>Figure 8</b> : Structure de base des flavonoïdes	<b>15</b>
<b>Figure 9</b> : Structure d'un stilbène	<b>16</b>
<b>Figure 10</b> : Squelette de base des coumarines	<b>17</b>
<b>Figure 11</b> : structure de base de l'isoprène	<b>19</b>
<b>Figure 12</b> :Préparation de l'extrait Acétone.	<b>23</b>
<b>Figure 13</b> : Schéma de l'extracteur Soxhlet.	<b>24</b>
<b>Figure 14</b> : Les principales étapes d'extraction(Soxhlet) solide – liquide par l'éther de pétrole, Chloroforme, Acétate d'éthyle et méthanol.	<b>25</b>
<b>Figure 15</b> : hydro distillation	<b>26</b>
<b>Figure 16</b> : Principales étapes adoptée pour l'évaluation de l'activité antibactérienne	<b>31</b>
<b>Figure 17</b> :Rendement de l'extraction	<b>34</b>
<b>Figure 18</b> :Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	<b>37</b>
<b>Figure 19</b> : Teneur en polyphénols totaux (mg EAG/g)	<b>37</b>
<b>Figure 20</b> : Courbe d'étalonnage de la quercétine	<b>38</b>
<b>Figure 21</b> :Teneur en flavonoïdes totaux (µg EQ/gE)	<b>39</b>
<b>Figure 22</b> : L'activité antioxydante totale en mg EAA/g MS.	<b>40</b>

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau 01</b> : Souches utilisées dans la présente expérimentation.	22
<b>Tableau 2</b> : Tableau récapitulatif regroupant les rendements des différents extraits	33
<b>Tableau 3</b> : Résultats des tests phytochimiques de différents extraits <i>Juniperus phoenicea</i>	35
<b>Tableau 4</b> : résultats de la capacité antioxydante en mg EAA/g MS	40
<b>Tableau 5</b> : Moyen et écart types des Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne obtenus par les différents extraits	42
<b>Tableau 6</b> : les résultats de test d'ANOVA	44

## Liste des abréviations

- A. b** : *Acinetobacter baumannii*  
**AE** : Acétate d'éthyle  
**AlCl<sub>3</sub>**: trichlorure d'aluminium  
**AMP** : Adénosine monophosphate  
**ARN** : acide ribonucléique  
**ATP** : Adénosine triphosphate  
**Ca<sup>2+</sup>** : ions calcium  
**CHCl<sub>3</sub>** : chloroforme  
**DNA** : désoxyribonucléique acid  
**E.coli** : *Escherichia coli*  
**Eb** : Extrait brut  
**EP** : Ether de pétrole  
**FeCl<sub>3</sub>** : chlorure de fer  
**HE b**: les huiles essentielles de *badiane*  
**HE c**: les huiles essentielles de *cardamome*  
**HE JP** : les huiles essentielles de *Juniperus phoenicea*  
**HE** : Huiles essentielles  
**J. phoenicea** : *Juniperus phoenicea*  
**K. o** : *Klebsiella oxytoca*  
**L. m** : *Listeria monocytogenes*  
**Me-OH** : Méthanol  
**mgEAG/g** : milligrammes équivalents d'acide gallique par gramme du poids d'extrait  
**mM** : millimolaire  
**MS** : matière sèche  
**MV** : Matériel végétal  
**Na Cl** : chlorure de sodium  
**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>** : carbonate de sodium  
**NaCl** : chlorure de sodium  
**O. acanthium** : *Onopordumacanthium*  
**P. a** : *pseudomonas aeruginosa*  
**PM** : poids moléculaire  
**PP** : polyphénols  
**S. a** : *Staphylococcus aureus*  
**S. sp** : *Salmonella sp*  
**SD** : standard déviation.  
**TAC** : Activité antioxydante totale  
**TCs** : Les tannins condensés  
**THs** : Les tannins hydrolysables  
**ZI** : Zones d'inhibition  
**µg EQ / g E** : microgrammes équivalents de la quercétine par grammes du poids d'extrait

## Résumé

L'objectif de ce travail est l'étude des activités biologiques : activité antioxydante et l'activité antibactérienne de des extraits obtenus par extraction au soxhlet des feuilles de *Juniperus phoenicea*, extrait acétone par macération de fleurs *Onopordum acanthium* et des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea*, graines de *cardamome* et les fruits de *Badiane chinoise*.

D'abord on a réalisé un screening phytochimique sur les extraits obtenue par extraction au soxhlet, qui montre que l'extrait méthanolique est plus riche en métabolites secondaires, l'étude quantitative d'extrait méthanolique et acétate d'éthyle montre que l'extrait acétate d'éthyle est plus riche en polyphénols ( $29.28 \pm 1,73$ ) par contre l'extrait méthanolique est plus riche en flavonoïdes ( $0.341 \pm 0.023$ ).

L'étude de l'activité antioxydante totale a montré que un pouvoir antioxydant maximal de  $16.7 \pm 0.19$  mg EAA/g MS est exercé par les huiles essentielles de *Juniperus phoenicea*, L'analyse statistique, par le test ANOVA a montré une différence très hautement significative entre les extraits avec ( $p > 0,001$ ).

Par ailleurs, l'activité antibactérienne contre sept souches « *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii*, *pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella oxydase* et *Salmonella sp.* » se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier préalablement imprégné de l'extrait, les zones d'inhibition se différent d'une extrait à autre, vis-à-vis des Gram positifs que les Gram négatifs.

**Mots clés :** Plantes médicinales, antioxydants, métabolites secondaires, huiles essentielles, activité antibactérienne.

## Summary :

The objective of this work is to study the biological activities: antioxidant activity and antibacterial activity of extracts obtained by extracting Soxhlet leaves of *Juniperus phoenicea*, extract acetone by maceration of *Onopordum acanthium* flowers and essential oils of *Juniperus phoenicea*, *Cardamom seeds* and fruits of *Chinese Badiane*.

First, a phytochemical screening was carried out on the extracts obtained by extraction with Soxhlet, which shows that the methanol extract is richer in secondary metabolites, the quantitative study of methanol extract and ethyl acetate shows that the extract Ethyl acetate is more rich in polyphenols ( $29.28 \pm 1.73$ ), whereas the methanolic extract is richer in flavonoids ( $0.341 \pm 0.023$ ).

The study of total antioxidant activity showed that a maximum antioxidant power of  $16.7 \pm 0.19$  mg EAA / g MS is exerted by the essential oils of *Juniperus phoenicea*, Statistical analysis, by the ANOVA test showed a very highly differential Between the extracts with ( $p > 0.001$ ).

In addition, the antibacterial activity against seven strains "*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella oxidase* and *Salmonella sp.*" Results in the appearance of a zone of inhibition around the paper disk previously impregnated with the extract, the zones of inhibition differ from one extract to another, with respect to the Gram-positive Gram negative.

**Keywords:** Medicinal plants, antioxidants, essential oils, antibacterial activity, secondary metabolites.

## ملخص

والهدف من هذا العمل هو دراسة الأنشطة البيولوجية: النشاط المضاد للأكسدة ومضاد للجراثيم النشاط لمقتطفات حصلت عليها استخراج سوكليت من أوراق عرعر فينيقي، واستخراج الأستون التي تقع الزهور *Onopordum acaanthium* والزيت الأساسية من عرعر فينيقي وبذور الهيل والصينية ستار ثمرة اليانسون.

أولا تم إجراء الفحص الكيميائي النباتي على مقتطفات حصلت عليها استخراج سوكليت، مما يدل على أن المستخلص المثلي غنية في المركبات الثانوية، والتحليل الكمي من استخراج الميثانول واستخراج خلاص الإيثيل تبين أن خلاص الإيثيل هي جيش التحرير الشعبى الصينى غنية في مادة البوليفينول ( $1.73 \pm 29.28$ ) ضد من استخراج الميثانول غنية في مركبات الفلافونويد ( $0.023 \pm 0.341$ ).

وأظهرت الدراسة من إجمالي نشاط مضادات الأكسدة أن أعلى قوة مضادة للأكسدة من  $0.19 \pm 16.7$  ملغ / EAA ز MS يمارسها الزيوت الأساسية من عرعر فينيقي، وأظهر التحليل الإحصائي من قبل ANOVA فرق عالية جدا كبيرة بين مقتطفات مع ( $0.001 < \text{ص}$ ).

وبالإضافة إلى ذلك، فإن النشاط المضاد للبكتيريا ضد سبعة سلالات " المكورات العنقودية الذهبية، المستوحدة الليستيريا، كولاي، الراكدة *baumani* ، الزائفة الزنجارية، الكلبسيلا وأوكسيدز السالمونيلا. " النتائج في مظهر من منطقة تثبيط حول القرص ورقة مشربة سابقا لاستخراج، ومناطق تثبيط تختلف عن عينة واحدة إلى أخرى، وجها لوجه في ذلك موجبة الجرام غرام سلبي

**كلمات البحث:** النباتات الطبية، ومضادات الأكسدة والزيوت الأساسية والنشاط المضاد للبكتيريا، المركبات الثانوي

## **Introduction générale**

Les plantes sont utilisées depuis longtemps et leur utilisation s'inspire d'expériences des populations ainsi que de la médecine arabe classique. Cependant, cette utilisation ne suit pas des règles précises et ne tient pas compte des nouvelles nécessités de la thérapeutique actuelle. Beaucoup d'études se sont intéressées à l'étude des plantes utilisées en médecine traditionnelle.

Les plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments. Elles sont considérées comme source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments (**Maurice, 1997**). Dans notre travail le matériel végétal comprend huit extraits de plantes dont deux récoltés de la région de Khenchela à savoir: *Juniperus phoenicea* « quatre phases organiques + HE » *Onopordum acanthuim* « phase acétone », les huiles essentielles de *badiane* et *cardamome* des graines et fruits respectivement.

L'étude a porté un criblage phytochimique de mise en évidence des principaux phytoconstituants du métabolisme secondaire de la plante *Juniperus phoenicea*, ainsi que sur l'extrait acétone d'*Onopordum acanthuim* et les huiles essentielles de *Juniperus phoenicea*, des graines et de fruits de *badiane* et *cardamome* achetés chez un épicier, pour leurs activité antioxydante totale TAC évaluée *in-vitro* et l'activité antibactérienne contre sept souches « *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella oxydase* et *Salmonella sp.* ». Parallèlement à cette étude, une quantification des polyphénols totaux et des flavonoïdes de l'extrait méthanoïque et acétate d'éthyle de *Juniperus phoenicea* sont menés.

Ces matières végétales contiennent un grand nombre de molécules qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie alimentaire, en cosmétologie et en pharmacie. Parmi ces composés on retrouve, les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tannins, les terpènes, les flavonoïde et des huiles essentielles (**Bahorun et al.,1996**)

Ces substances contenues dans les plantes sont de nature chimique variée ; certaines sont solubles dans l'eau, d'autres dans l'alcool éthylique, d'autres encore dans l'huile.

A partir des plantes médicinales, on peut obtenir différentes voies de préparations : infusions, décoction, macération dans l'alcool (teinture) ou dans l'huile (extraction huileuse, plus rare), etc. Les plantes peuvent aussi être consommées entières, fraîches ou sèches, réduites en débris plus ou moins fins. Les sèves et sécrétions sont également utilisées dans certains cas. Il est en finpossible d'en extraire chimiquement des principes actifs en vue de leur utilisation thérapeutique (**Benarous, 2009**).

Pour répondre aux objectifs fixés dans ce travail, nous avons mené comme suit :

La première partie comprend deux chapitres dont :

- Le premier chapitre est consacré pour des généralités sur les plantes médicinales et la description (les caractères botaniques et la systématique) des différentes espèces végétales de notre étude, l'intérêt biologique et quelques travaux précédant réalisés sur ces plantes.
- Dans le deuxième chapitre, nous rappelons sur des métabolites secondaires et quelques activités biologiques attribuées aux différentes familles de ces métabolites.

La deuxième partie est une partie expérimentale traitant deux axes : d'une part dans le premier axe, on trouve les différents matériels du travail expérimental ainsi que les matériels végétal et les souches bactériennes utilisés.

D'autre part, le deuxième axe, on s'intéresse à l'extraction et à évaluer le pouvoir antibactérien et la capacité antioxydant des extraits de ces quatre plantes.

Enfin, on a rapporté les résultats obtenus, l'étude de l'activité antibactérienne et antioxydant des extraits des plantes, suivi par une discussion et on termine avec une conclusion générale et perspective.

**Chapitre I**  
**Généralités sur les plantes**  
**Médicinales**

## I -Généralités sur les plantes médicinales

### I -1-Définition

Les plantes médicinales sont une source tant moderne qu'ancienne de produits Pharmaceutiques et médicaux, y compris pour la médecine vétérinaire. En général, les substances actives d'origine naturelle sont bien acceptées par le corps humain grâce à son action douce et peu d'effets allergisants. Ils sont utilisés dans de nombreux suppléments naturels, tels que des composées phytochimiques et provitamines (**Boveris et Puntarulo, 1998**) ; **Moure et al .,2001** ; **Leong et Shui ,2002** ; **Dizhbite et al .,2004** ; **Bucićet al .,2007**).

### I-2-Principes actifs des plantes médicinales

Le métabolisme de la plante verte produit avant tous des glucides (sucres) et des protides. Une fraction des glucides est ensuite transformée en composés divers dont les lipides sont les plus importants pour la plante, mais le métabolisme fournit aussi plusieurs corps secondaires que l'homme utilise dans son arsenal thérapeutique, il s'agit des alcaloïdes, des hétérosides, des huiles essentielles et des tanins, les végétaux nous fournissent également des vitamines, des oligoéléments, et des antibiotiques (**Bruneton,1999**).

## II-La plante : *Onopordum acanthuim*

### II-1-Définition

Le chardon aux ânes, ou onopordon fausse-acanthe (*Onopordum acanthium*) ; est une grande plante épineuse, de la famille des Astéracées (**Hyde-Wyatt,1968**). *Onopordum* est dérivé du grec «fardeau de la preuve» (cul) et « porde » (flatulences),en raison de la croyance que la plante produit des flatulences chez les ânes ; *acanthium* est d'origine « acanos » (des champs), qui a été dérivé de «acantho» grec (épineux). Le nom commun est accepté chardon aux ânes si l'espèce est connue par un grand nombre d'autres noms (**Gonzalez et al .,1992**).

### II-2- Habitation

En Algérie le chardon aux ânes est particulièrement répandue dans les hauts plateaux, la steppe, le sud de l'atlas saharien, les pâturages sablonneux et les lieux un peu humides (**Quizelet,1963**). L'onopordon fausse acanthe (*Onopordum acanthium L*) fait partie de la famille des astéracées (asteraceae). On l'appelle également chardon aux ânes, ou artichaut

sauvage, originaire du sud et centrale Europe, naturalisé ou occasionnel dans le nord (Tutin *etal.*,1976). Les espèces contiennent différentes classes de substances biologiquement actives telles que les saponines, les alcaloïdes, des lactones et sesquiterpènes inuline (Petkov,1982).



**Figure 01 :** Vue générale de la plante d'*Onopordum acanthuim* prise à partir du site d'étude« Elhadheban Elmahmel Khenchela »

### II-3- Systématique de la plante

- **Règne :** Planta
- **Classe :** Asteridae
- **Ordre :** Asteraceae
- **Famille :** Asteraceae
- **Genre :** *Onopordum*
- **Espèce :** *Onopordum acanthuim* (Hyde-Wyatt,1968).

### II-4-Description botanique

C'est une grande plante à cycle de végétation bisannuel, herbacée, à tige élevée, grosse, robuste, épineuse, vert blanchâtre, les feuilles moins de 2,5 fois plus longues que larges,

sinuées, anguleuses, très-épineuses, vert blanchâtre, à odeur musquée, elles forment sur la tige des ailes dentées et très épineuses (**Georges,2009**), elles ont quelque ressemblance avec celles de *l'acanthé*. Fleurs grosses, de couleur violet claire, portées sur des pédoncules ailés, La floraison d'*Onopordum acanthium* a lieu de juillet à septembre (**Antonin,2013**).

Les feuilles sont grandes, oblongues, profondément divisées. Leur bordure épineuse se prolonge à la base le long de la tige. Elles sont vert blanchâtre, très cotonneuses surtout sur la face inférieure. Les fleurs, pourpres, sont réunies en capitules globuleux de 3,5 à 5,5 cm de diamètre, à réceptacle charnu, à involucre cotonneux, qui s'épanouissent de juin à septembre. Les fruits, des akènes, sont surmontés d'une aigrette de poils plumeux de couleur roussâtre (**Danin,1975**).



**Figure 02** : les feuilles et les fleurs d'*Onopordumacanthium*(**Antonin,2013**).

### II-5- Utilisations en médecine traditionnelle

Traditionnellement, le jus de chardon a été utilisé pour traiter la gale, une éruption cutanée, les cancers, les spasmes musculaires, les ulcères, le rachitisme chez les enfants, (**Grieve,1975**). *O. acanthium* est considérée comme une plante médicinale utilisée pour traiter les maladies cardiovasculaires et génito-urinaires, comme diurétique et comme un activateur de la sécrétion gastrique (**Kiselova et al .,2006**). Cependant, cette espèce possède une activité anti-inflammatoire, antipyrétique et analgésique (**Habibatni et al.,2017**). En Russie, *O. acanthium* est utilisée comme bactéricide et comme un cardiotonique, hémostatique antihypertenseur (**Khalilova et al.,2004**). La médecine traditionnelle bulgare utilise l'extrait de chardon pour tonifier et rafraîchir le corps et en petites quantités l'extrait stimule le système nerveux central (**Diankov et al .,2013**).

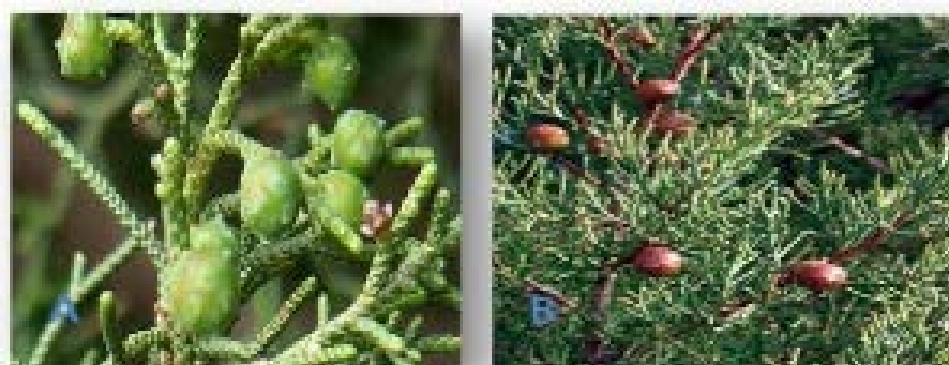
### III -La plante : *Juniperus phoenicea*

#### III-1-Définition

*Juniperus phoenicea* est une espèce qui se produit dans le nord-africain , il est plus fréquent dans la partie Ouest des régions méditerranéennes ; en Algérie , (Cet arbre constitue au côté du cèdre, la principale couverture végétale dans les montagnes des Aurès (Maatooq *et al.*,1998 ; Mazur *et al.* ,2003 ; El-Sawi et Motawe,2008 ; Achak *et al.*, 2009 ; Derwich *et al.* ,2010).

*J.phoenicea* est une espèce qui appartient à la section Sabina, du genre *Juniperus*, c'est une espèce très variable, caractérisée par la présence de variations morphologiques, biochimiques et moléculaires (Adams *et al.* ,2002) (Mazur *et al.* ,2003) .

Le genévrier (*juniperus*) appartient à la famille des cupressacées où il avoisine les *cupressus* (Seigue,1985). Il comprend approximativement 60 espèces réparties dans l'hémisphère nord (Rezzi *et al.*,1999). Le genre *Juniperus* est divisé en trois sections : *Caryocedrus* (une espèce : *J. drupacea* Labille) ; *Juniperus oxycedrus* (neuf ou dix espèces) ; et *Sabine* (environs 50 espèces) (Adams,1998). *J.phoenicea* est un arbre ou arbrisseau qui peut avoir cinq à dix mètre de hauteur (Huguette,2008) à feuilles persistantes, étroites, linéaires, épineuses ressemblant à des aiguilles. (Figure 3) Ses fleurs donnent des fruits improprement qualifiés de baies, globuleux et charnus (Huguette,2008) (Bruneton,2009) .



**Figure 03 :** *Juniperus phoenicea* (Genévrier rouge) Les fruits (baies) et feuilles de *Juniperus phoenicea* A : fruits immatures (Saule,2002). B : Fruits matures (Ghrabi,2001)

### III-2-Habitation

Cette espèce est caractérisée par sa grande résistance au vent, elle est indifférente au sol, supporte l'argile, les sables, les sols calcaires ou dolomitiques, les marnes et les sols volcaniques. En Afrique du nord elle peut vivre avec 250 mm d'eau par an, à la limite du Sahara et de la végétation de l'Alfa. En Espagne, dans la « Sierra del Cabo de Gata », station la plus aride, elle se contente de 200mm de précipitation compensés, par une grande humidité de l'atmosphère (Seigue,1985) (Ghrabi,2001) (Adams,2004) (Rameau *et al* .,2008) (Escolà et Askew,2009).



Figure 04 : La plante *Juniperus phoenicea*(Ghrabi,2001)

### III -3-Systématique de la plante

- Règne : **Planta**
- Classe : **Pinophyta**
- Ordre : **Pinopsida**
- Famille : **Pinale**
- Genre : ***Curpressaceae***
- Espèce : ***Juniperus phoenicea*** (Adams,2004)

### III-4- Caractères et description botaniques

**Substances bioactives :** Il contient huile essentielle : junipérine qui contient des camphènes, terpinéols cadinène, substance amère dans les baies, acides organiques, sucres (Hallard,1988).

**Propriétés :** Apéritif carminatif, stomachique et stimulant de la sécrétion gastrique, diurétique et rubéfiant. Un autre effet secondaire lui est reconnu : Antiseptique, traitement adjuvant des infections urinaires (cystite) et broncho-pulmonaires (**Hallard,1988**). *Juniperus phoenicea* Genévrier de Phénicie, «Arâar». C'est un arbre branchu pouvant atteindre 8 mètres de hauteur, possédant un tronc court qui peut atteindre 2 mètres de circonférence, l'écorce a de couleur brun rougeâtre ,bourgeons nus, feuilles toutes ou presque toutes en forme d'écailles très petites, étroitement imbriquées sur 4-6 rangs, ovales rhomboïdales, non articulées, décurrentes, glanduleuses, bombées et sillonnées sur le dos. Cette espèce est monoïque, la floraison a lieu pendant l'hiver et la fructification a la fin de l'été de l'année suivante. A maturité, les fruits sont bruns-rouges et luisants. Elle devient de plus en plus rare sous l'effet de son exploitation abusive (son bois est très recherché comme combustible et fournit du charbon très apprécié) (**Botanica,2009**).**Autres noms :** Genévrier rouge, Genévrier de la Phénicie, Genévrier de Lycie, Appelé également « zimba » (en Chaouiâ) ou "arar" en Algérie.Les provençaux l'appellent « mourven » ou genévrier à fruits rouges. Ces fausses baies comme celles des autres genévriers sont en fait des cônes globuleux à écailles charnues appelée globules, elles sont bien rondes, marquées de petits blafards et prennent la deuxième année une couleur brun mordorée attrayante. L'étiquette *phoenicea* viendrait plus de la couleur que du pays lui-même le «rouge phénicien » étant un brun rouge puissant (**Seigue,1985**).

### III-5-Utilisation traditionnelle

Les feuilles et les fruits de plusieurs espèces du genre *Juniperus* sont utilisés en médecine traditionnelle et leurs composés chimiques sont incorporés dans des préparations pharmaceutiques d'usage particulièrement antiseptique attribué à la présence d'huiles essentielles (**Medini et al .,2007**). C'est un remède efficace contre les cystites, il facilite le drainage. Il est pris en décoction des feuilles, fortifie le système digestif, soulage les coliques et stimule l'activité de l'estomac. Par voie interne ou externe, il se révèle efficace dans les traitements des arthrites chroniques et les rhumatismes. Il est prescrit également pour traiter le diabète (**Flock ,1983**). Cette plante est réputée anti-diarrhéique et la poudre des feuilles séchées est utilisée pour ses propriétés cicatrisantes notamment après la circoncision. Les fruits sont utilisés pour traiter les cas des vomissements. Séchés et réduits en poudre soignant les ulcérations de la peau et des abcès. Le goudron végétal « le Goutran » du genévrier est conseillé en usage externe comme vulnéraire et par voie orale pour

traiter les angines, comme il est recommandé avec un peu d'eau dans le cas d'asthénie, pour traiter certains cas d'eczéma et utilisé en inhalation contre l'asthme, les maux de tête et les étourdissements (Aouadhi,2010).

### IV -La plante : Badiane chinoise

#### IV-1-Définition de la plante

**Nom vernaculaire :** *Silicium verum*, *Nejmet essaâd*, *Badiane chinoise* ou *Anis étoilé*, *Star anise*.

La badiane chinoise est composée d'un poly follicule ligneux à huit carpelles contenant chacun une graine brillante. Il forme ainsi une étoile à huit branches très caractéristique, d'où le nom vernaculaire d'anis étoilé. Les fruits sont cueillis verts, avant d'être séchés au soleil, où ils prennent une couleur marron rouge (Morigane,2007).



Figure 05 : l'anis étoile (Paul,2001).

#### IV-2-Habitation

Le badanier de Chine est originaire de Chine, de l'Inde et du Viêt Nam. Il pousse dans les régions tropicales et subtropicales, y compris dans certaines régions d'Amérique du Nord.

#### IV-3-Systématique de la plante

- Classe : Magnoliopsida
- Ordre : Illiciales (Austrobaileyales)
- Famille : Illiciaceae (Schisandraceae)
- Genre : *Illicium*
- Espèce : *Verum Hook* : *Badiane de Chine* (Abdelhaï,1991)

### **IV-4-Description botanique**

Arbre à feuilles persistantes effilées, à fleurs jaune-vert pâle et à fruits en forme d'étoile (18 m de haut). La partie utilisée Fruit : anis étoile.

Substances bioactives d'Anis Etoilé, enferme des huiles essentielles : trans-anéthole (E-anéthole) 90 à 95%, monoterpènes (limonène, ápinène, linalol), sesquiterpènes, estragole (= méthyl chavicol), foeniculine. Autres constituants : huile grasse, flavonoïdes (rutoside), acides phénols, depsines, gallocatéchines (**Aouadhi ,2010**).

### **IV-5-Utilisation traditionnelle**

En Chine, L'Anis étoilé est principalement utilisé en usage interne, est un remède digestif, stimulant et les spasmes, et détendre les muscles. Elle soigne les maux de dents et on utilise principalement le fruit et la semence. Il est utilisé sur de courtes périodes (pas plus de quelques jours) pour soigner les dyspepsies, les ballonnements et les vomissements nerveux. Pour tout cela il peut être utilisé sous forme d'une infusion de 30 g de fruits par litre d'eau, à prendre à raison d'une tasse après chaque repas. Vous pouvez aussi prendre une infusion d'une cuillerée à café de semences par tasse d'eau bouillante, à raison d'une tasse après les repas, ou de la poudre d'Anis étoilé à raison d'1 à 4 g par jour sous forme de cachets, ou enfin sous forme de teinture à raison de 5 à 20 g par jour.

Enfin contre les ballonnements, et les digestions difficiles vous pouvez prendre de la liqueur d'Anis, constituée de 40 g de semences d'Anis étoilé concassées, 1 g de Cannelle, 500 g de sucre, et 1 litre d'eau de vie. Laissez macérer les toutes 6 semaines et filtrez. Cette liqueur est à prendre à raison d'un verre à liqueur après les repas (**Morigane,2007**).

### V -La plante *Elettaria cardamomum* (Zingibéracées)

#### V-1-Définition

La cardamome est une plante herbacée à rhizome appartenant au genre *Elettaria* de la famille des zingibéracées originaire de la côte de Malabar, région d'Inde d'où provient également le poivre (Paul,2001).



Figure 06 : Graines et cosses écrasées Cosses fraîches sur tige (Paul ,2001).

#### V-2-Habitation

La cardamome est originaire de l' Inde du Sud et de Ceylan, ou elle pousse dans les forêts entre 800 et 1 500 m d'altitude.

Elle est cultivée dans toute l' Asie du Sud-est et en Amérique centrale. On l'a multiplié par semis en automne ou par division de la racine au printemps et en été, elle apprécie les sols riches et humides, mais Les cosses sont récoltées juste avant leur éclosion par temps sec, en automne, et laissées au soleil pour sécher (Abdelhaï,1991).

#### V-3-Systématique de la plante

Nom binominal : *Elettaria cardamomum*

Règne : Plantae

Classe : Liliopsida

Ordre : Zingiberales

Famille : Zingiberaceae

Genre : *Elettaria* (Abdelhaï,1991)

### **V-4 -Description botanique**

Les Cardamomes émettent des hampes florales, longues de 40 à 70 cm. Il s'agit de panicules lâches, prostrées ou retombantes dont les fleurs donnent naissance à des capsules. Leurs dimensions varient légèrement. Les plus commerciales sont celles dont la longueur est de 20 mm et leur plus grand diamètre de 10 mm environ (**Perrot,1943**).

### **V-5 -Utilisation traditionnelle**

Cardamome est une des plus anciennes épices. En Egypte, on en faisait un grand usage dans l'Antiquité pour fabriquer des parfums mais ses vertus médicinales sont moins bien connues. Cette plante est utilisée depuis des millénaires par la médecine ayurvédique pour soigner de nombreux troubles digestifs (indigestions, flatulences), aromatique et piquante, elle s'associe bien avec d'autres plantes.

- Depuis les années 1960, les recherches ont démontré que l'huile essentielle des graines de cardamome était un antispasmodique puissant, confirmant l'action de cette plante contre les diarrhées et les flatulences,
- Favorise l'expulsion des gaz,
- Soulage les douleurs de l'estomac,
- Aromatique,
- Stimule la digestion,
- Antispasmodique (**Paul,2001**).

# **Chapitre II**

## **Les métabolites secondaires**

### Chapitre II : Les métabolites secondaires

#### 1-Définition

Le terme «métabolite secondaire», qui a probablement été introduit par Albrecht Kossel en 1891, est utilisé pour décrire une vaste gamme de composés chimiques dans les plantes, qui sont responsables des fonctions périphériques indirectement essentielles à la vie des plantes. Comme la communication intercellulaire, la défense, la régulation des cycles catalytiques (Yezza,2014).

#### 2-classification des métabolites secondaires

##### 2-1- Les composés phénoliques

###### 2-1-1-Définition

Les composés phénoliques ou les polyphénols (PP) constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal. (Fleuriet,1982) (Yusuf,2006).Les polyphénols sont des produits de la condensation de molécules d'acétyl-coenzyme A et de phénylalanine. Cette biosynthèse a permis la formation d'une grande diversité de molécules qui sont spécifiques d'une espèce de plante, d'un organe ou d'un tissu particulière (Nkhili,2009).

###### 2-1-2- Structure chimique

La structure chimique des polyphénols est comparable à tous les polyphénols. Ils sont caractérisés par un ou plusieurs noyaux aromatiques hydroxylés. Les polyphénols sont classés en différents groupes en fonction du nombre de noyaux aromatiques qui les composent et des substitutions qui les relient (Manallah,2012).

Groupe hydroxyle

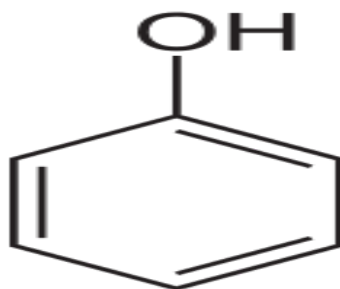


Figure 7 : Groupephénol (Manallah,2012).

### 2-1-3- Propriétés biologiques des polyphénols

Les recherches récentes sur les composés phénoliques en générale et les flavonoïdes en particulier sont très poussées, en raison de leurs divers propriétés physiologiques, comme les activités antiallergique, anti-atherogénique, anti-inflammatoire, hépato-protective, antimicrobienne, antivirale, antibactérienne, anticarcinogénique, anti-thrombotique, cardio-protective et vasodilatatoire (**Middleton *et al.*,2000**).

Les effets bénéfiques des polyphénols intéressent particulièrement deux domaines : la phytothérapie et l'hygiène alimentaire (**Leong et Shui,2002**).

#### 2-1-3-1- Activité antioxydant

L'activité antioxydante des polyphénols 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, même si certaines indications sont communes à plusieurs classes (les propriétés vasculoprotectrices, 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 (**Hennebelle *et al.*,2004**).

#### 2-1-3-2- Effets anti-trombotique et vasodilatatoires

Les polyphénols agiraient aussi en inhibant l'agrégation plaquettaire impliquée dans le phénomène de thrombose qui peut conduire à l'occlusion des artères (**Manach *et al.*,2005**). Ils sont regroupés dans la catégorie de veinotoniques et des vasculo-protecteurs (**Ghosh *et al.*,2009**). Un certain nombre de molécules polyphénoliques sont également en cours des études cliniques, comme des hypotenseurs (**Martin et Andriantsitohaina,2002**).

#### 2-1-3-3- Effet antiallergique

Ces effets sont attribués à l'influence des flavonoïdes sur la production de l'histamine. En effet, les flavonoïdes inhibent les enzymes, telles que l'AMP cyclique phosphodiesterase et l'ATPase  $Ca^{2+}$  dépendante, responsables de la libération de l'histamine à partir des mastocytes et des basophiles (**Nkhili,2009**).

### **2-1-3-4- Effet anti-inflammatoire**

Sous l'action de la cycloxygénase et la lipoxygénase, l'acide arachidonique est métabolisé respectivement en prostaglandines et leucotriènes induisant ainsi des phénomènes inflammatoires. Une étude de Landolfi et son groupe a montré que certains polyphénols sont capables de modifier le métabolisme de l'acide arachidonique dans les plaquettes. Les effets de la quercétine et de la myricétine sont dose-dépendants. A de fortes concentrations, ils inhibent la cycloxygénase et la lipoxygénase. Cependant, à de faibles concentrations, seule la lipoxygénase est affectée (Nkhili,2009).

### **2-1-3-5-Effet anticancéreux**

La catéchine qui est présenté dans tous les types de thé et en particulier dans le thé vert, a montré une activité anti-tumorale. Une telle activité est attribuée à la capacité de ce flavonoïde à inactiver l'action de la P-glycoprotéine qui est impliquée dans la résistance phénotypique des cellules cancéreuses.

Les flavonoïdes ont montré des effets protecteurs contre les cancers de la prostate, du côlon et du poumon (Nkhili,2009).

### **2-1-4- Classification des polyphénols**

On distingue les acides phénoliques (phénols simples), les flavonoïdes, Leslignanes, les stilbènes, les coumarines et les tannins ( Harborne,1980) (Glombitza,1985).

#### **2-1-4-1- Les acides phénoliques**

Ces composés sont dérivés de deux sous- groupes distingués : Les acides hydroxycinnamiques, dont les plus abondants sont l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide chlorogénique, et les acides hydroxybenzoïque, mais les plus répandus sont l'acide salicylique et l'acide gallique. Ils sont considérés comme substances phytochimiques avec des effets prebiotiques, antioxydant, de chélation et anti-inflammatoire. Leur toxicité est très faible car ils sont considérés non toxiques (Laraoui,2007).

#### **2-1-4-2- Les flavonoïdes :**

##### **2-1-4-2-1- Définition :**

Le terme flavonoïde (de flavus, «jaune» en latin) désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (Bouakaz,2006). Ils

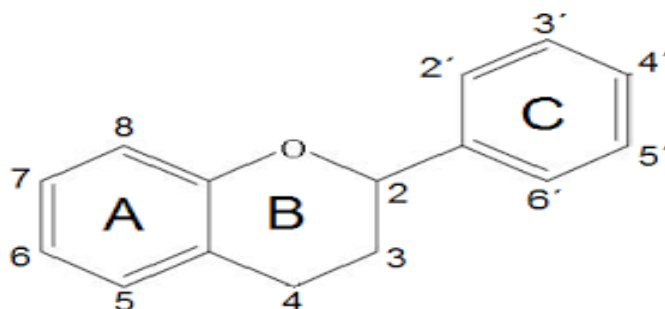
constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux (**Havsteen,2002**).

Ces diverses substances se rencontrent à la fois sous forme libre (aglycone) ou sous forme de glycosides. On les trouve, d'une manière générale, dans toutes les plantes vasculaires (**Erlund,2004**), où ils peuvent être localisés dans divers organe : racine, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits. Et jouent un rôle important dans la protection des plantes (**Bruneton,1993**).

### 2-1-4-2-2- Structure des flavonoïdes

Flavonoïde, est un terme générique pour des composés basés sur un squelette à 15 atomes de carbone qui fait de deux cycles phényles C6, les cycles A et B, connectés par un pont à trois carbones (structure en C6-C3-C6). Ce dernier est situé entre les cycles A et B est communément cyclisé pour former le cycle C (cycle centrale). Les atomes de carbone dans les cycles C et A sont numérotés de 2 à 8, et dans le cycle B de 2' à 6' (Figure ci-dessous) (**Bruneton,1999**).

La distinction des sous-classes se fait sur la conformation de la structure centrale (cycle C).



**Figure 8** : Structure de base des flavonoïdes (**Bruneton,1999**).

### 2-1-4-2-3- Classification des flavonoïdes

La nature chimique des flavonoïdes dépend de leur classe structurale, de degré d'hydroxylation et de méthylation, de degré de polymérisation, des substitutions et des conjugaisons sur le cycle C, c'est-à-dire, la présence de double liaison C2-C3, du groupe 3-O et la fonction 4-oxo (**Yao et al.,2004**) . En basant sur leur squelette, les flavonoïdes peuvent être divisés en différentes classes : anthocyanidines, flavonoles, isoflavonoles, flavones, isoflavones, flavanes, isoflavanes, flavanols, isoflavanols, flavanones, isoflavanones et auronnes (**Havsteen,2002**) ( **Edenharder et Grünhage,2003**) .

### 2-1-4-3-Les lignanes

#### 2-1-4-3-1-Définition

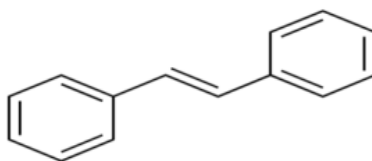
Le terme lignane à l'origine présenté par Haworth en 1936. Les lignanes sont les dimères des unités de phenylpropane (C6 C4) (**Benarous,2009**).

Les lignanes sont très répandus dans le règne végétal et ont été isolés dans environ soixante-dix familles. Chez les gymnospermes, Ils sont surtout rencontrés dans les bois alors que chez les Angiospermes, ils ont été identifiés dans tous les tissus, Ils ont été découvert dans toutes les parties des plantes à savoir les racines, les feuilles, les fruites et les graines (**Midoun,2011**).

### 2-1-4-4- Les stilbènes

#### 2-1-4-4-1-Définition

Les Stilbènes sont des composés phénoliques contenant au minimum deux noyaux aromatiques reliés par un double liaison, dont la structure est C6-C2-C6 comme les flavonoïdes, formant un système conjugué. Cette particularité leur confère une grande réactivité due à la résonance des électrons sur la totalité de la molécule.



**Figure 9** : Structure d'un stilbène (**Midoun, 2011**).

Les stilbènes sont des phytoalexines, composés produits par les plantes en réponse à l'attaque par les microbes pathogènes fongiques, bactériens et viraux. Ils sont rencontrés dans le raisin, le soja et les arachides (**Crozier et al ., 2006**).

### 2-1-4-5- Les coumarines :

#### 2-1-4-5-1- Définition :

Les coumarines tirent leur nom de « coumarou », nom vernaculaire de fève tonka (*Dipterix odorata* Wild., Fabaceae) dont les fèves contiennent 1 à 3% de coumarine, d'où fut isolée en 1982 (**Bruneton,1993**). Le squelette de base des coumarines est constitué de deux cycles accolés avec neuf atomes de carbone (**Ford et al .,2001**). Les coumarines constituent une classe importante de produits naturels, elles donnent une odeur caractéristique semblable à celle du foin fraîchement fauché. A l'exception des algues, ces composés sont les constituants caractéristiques du règne végétal chlorophyllien. Les

familles les plus riches en coumarines sont : *Légumineuse*, *Rutacées*, *Apiécées* et *Thymeleacées*. Elles se trouvent dans toutes les parties de la plante et notamment dans les fruits et les huiles essentielles des graines (Guignard,1998) ( Deina et al.,2003) .

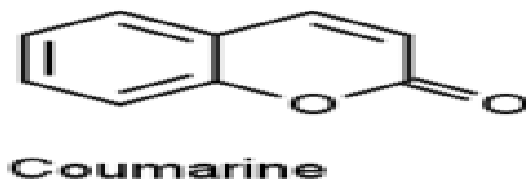


Figure 10 : Squelette de base des coumarines (Djemoui,2012).

### 2-1-4-5-2-Activités biologiques et intérêts pharmacologiques des coumarines

Les coumarines sont des molécules biologiquement actives, elles manifestent diverses activités : anti-agrégation plaquettaire, anti-inflammatoire, anticoagulante, antitumorale, Diurétiques, antimicrobienne, antivirale et analgésique (Ochockda et al .,1995) (Taguchi,2000)

### 2-1-4-6- Les tannins

#### 2-1-4-6-1- Définition

Les tannins sont des substances d'origine végétale qui ont la propriété de transformer la peau fraîche en un matériau imputrescible Cette propriété de tannage provient de la création de liaisons entre les molécules de tannins et les fibres de collagène de la peau.

D'un point de vue biochimique, une première définition a été proposée par Bate-Smith, (1973) c'est que les tanins sont des composés phénoliques hydrosolubles ayant un poids moléculaire (PM) compris entre 500 et 3000 Da (Bruneton,1999). .

#### 2-1-4-6-2-Classification

Les tannins sont des macromolécules qui se divisent selon leur structure en deux groupes distincts. Les tannins hydrolysables et les tannins condensés (Mueller-Harvey et Mc Allan,1992 ; Bruneton,1999 ; Hagerman,2002).

### 2-1-4-6-2-1 Les tannins hydrolysables

Les tannins hydrolysables (THs) sont des oligo- ou poly-esters d'un sucre, en général le glucose, associés à des molécules d'acide-phénol (**Mueller-Harvey et Mc Allan,1992 ; Bruneton,1999**). Ils sont classés selon la nature de l'acide-phénol :

- **les tannins galliques** possèdent un acide gallique.
- **les tannins éllagiques** sont un acide hexahydroxyphénique(**Hagerman, 2002**).

### 2-1-4-6-2-2 Les tannins condensés

Les tannins condensés (TCs), ou proanthocyanidols, sont des polyphénols appartenant à la famille des flavonoïdes (**Mueller-Harvey et Mc Allan,1992**) (**Bruneton,1999**). Ils sont chimiquement définis comme étant des oligomères ou des polymères d'unités de flavanoïdes. L'unité de base (ou monomère) des TCs est un flavan-3-ol (catéchine) (**Mueller-Harvey et Mc Allan,1992 ; Jean-Blain,1998**).

### 2-1-4-6-2- Rôle des tannins dans les plantes

Les tannins jouent un rôle dans la défense des plantes face aux agressions des prédateurs tels les insectes et les mammifères herbivores (**Mueller-Harvey et Mc Allan,1992**). La synthèse des tannins est l'un des mécanismes de défense des plantes contre les attaques des phytopathogènes. Par exemple, une accumulation de tannins a été observée dans les zones d'invasion de la plante par des bactéries, des champignons ou par des nématodes, ce qui inhibe leurs développement (**Feucht et Treutter,1997**) (**Collingborn et al .,2000**).

## 2-2-Les alcaloïdes

### 2-2-1- Définition

En général, ces composés possèdent au moins un atome d'azote **hétérocyclique**. Actuellement, la structure chimique d'environ 16 000 alcaloïdes est connue. Environ 20 % des espèces de plantes produisent des alcaloïdes. Ils ont une nature basique, présentant généralement de puissants effets physiologiques. Ce sont pour la plupart des poisons végétaux très actifs, dotés d'une action spécifique. Les plantes les utilisent pour la plupart d'entre eux dans leur système de défense contre les herbivores et les pathogènes car ces composés sont toxiques.

Selon leur composition chimique et surtout leur structure moléculaire, les alcaloïdes peuvent être divisés en plusieurs groupes tels que des phénylalanines, des alcaloïdes isoquinoléiques, des alcaloïdes quinoléiques, des alcaloïdes pyridiques et pipéridiques, des alcaloïdes dérivés du tropane et des alcaloïdes stéroïdes (**Mauro,2006**).

### 2-2-2- Effet des alcaloïdes sur la plante

Les alcaloïdes tout d'abord, ont des effets bénéfiques sur la plante synthétisante, parmi ces effets, selon DA CONCEICAO en (2010) : Ils régulent la croissance et le métabolisme interne végétaux, ils désintoxiquent et transforment les substances nocives au végétal, ils Protègent la plante contre les rayons ultraviolets comme ils ont des effets contre les herbivores (Mauro,2006).

### 2-3-Les terpenoïdes

#### 2-3-1 -Définition

Les terpènes forment un groupe de produits naturels largement représenté et d'un intérêt chimique considérable, très diversifiés. Ils constituent le principe odoriférant des végétaux. Cette odeur est due à la libération des molécules très volatiles contenant 10, 15, 20 atomes de carbones. Ils ont un caractère commun, sont formés de l'assemblage d'un nombre entier d'unités penta carbonées ramifiées dérivées du 2-méthyl butadiène, appelées unités isopréniques (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>)<sub>n</sub>(Cram et al .,1968 ; Qureshi et al .,1981) .

#### 2-3-2- Structure des terpenoïdes

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure soit cyclique soit à chaîne ouverte : leur formule brute est (C<sub>5</sub>H<sub>x</sub>)<sub>n</sub> dont le x est variable en fonction du degré d'insaturation de la molécule et n peut prendre des valeurs (1-8) sauf dans les polyterpènes qui peut atteindre plus de 100 (le caoutchouc). La molécule de base est l'isoprène de formule C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>. Le terme terpenoïde désigne un ensemble de substances présentant le squelette des terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone, etc.) (Malecky,2005) (Benaissa,2011).

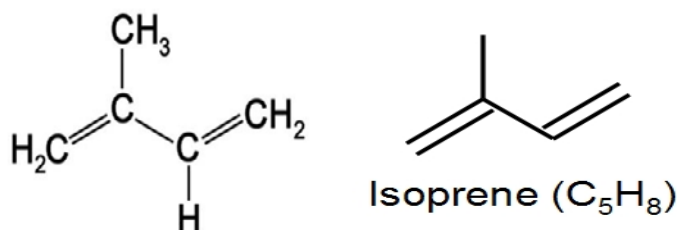


Figure 11 : structure de base de l'isoprène(Khenaka,2011).

### 2-3-3- Les huiles essentielles et leur relation avec les terpenoïdes

#### 2-3-3-1- Définition

Le terme huiles essentielles (HE) dérive de « quintaessentia », un nom donné par le médecin suisse Paracelsus aux extraits de plantes obtenues par distillation, il signifie la fragrance et la quintessence de la plante (**Khenaka,2011**). L'huile essentielle est définie comme un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, grâce à des procédés physiques tels que l'hydrodistillation, l'entraînement à la vapeur d'eau ou expression à froid pour les huiles essentielles d'agrumes. Ces composés lipophiles, volatils et souvent liquides extraits des plantes sont stockés dans des tissus végétaux spécialisés (**Hernandez,2005**).

#### 2-3-3-2- La structure des composées des huiles essentielles

La structure des composées des HE est constituée d'un squelette hydrocarboné, constituant une chaîne plus au moins longue. La majorité des sites fonctionnels présents sur ce squelette sont des sites oxygènes avec un ou plusieurs atomes d'oxygènes, pour quelques groupes fonctionnels azotés ou soufrés. Cette structure selon Franchome, (1981) et Pibiri, (2005), varie en fonction:

- Du nombre d'atome de carbone qui la constitue :
  - Les monoterpènes C<sub>10</sub>
  - Les sesquiterpènes C<sub>15</sub>
  - Et plus rarement diterpènes C<sub>20</sub>
    - du caractère saturé ou insaturé des liaisons
    - De leurs agencement : linéaire ou cyclique
    - De la configuration spatiale (forme de chaîne, de bateau, de trièdre...)
    - De la nature des groupes fonctionnels :
- Terpène R<sub>1</sub>-HC=CH-R<sub>2</sub>
- Cétones R<sub>1</sub>-CO-R<sub>2</sub>
- Phénols R<sub>1</sub>-COOR<sub>2</sub>
- Alcools terpéniques R-OH
- Ethers R-O-R<sub>2</sub>

#### 2-3-3-3- Propriétés physico-chimiques

Liquides à température ambiante, les huiles essentielles sont volatiles, ce qui les différencie des huiles fixes. Très rarement colorées, ce sont des « liquides d'odeur et de saveur

généralement fortes» (Witchtl et Anton,1999). Elles sont peu miscibles a l'eau, voire non miscible. En revanche, elles sont généralement assez solubles dans les solvants organiques (Bruneton,1993).

### **2-3-3-4- Activités biologiques des huiles essentielles**

#### **2-3-3-4-1-Activités antioxydante**

Le pouvoir antioxydant de ces huiles est développé comme substitut dans la conservation alimentaire : ils ont été montré que l'incorporation des huiles essentielles directement dans les aliments (viandes hachées, légumes hachés, purées de fruit, yaourts...) où l'application par vaporisation en surface de l'aliment (pièce de viande, charcuterie, poulet, fruits et légumes entiers...) contribuent à préserver l'aliment des phénomènes d'oxydation (Laib,2011).

#### **2-3-3-4-2- Activité antimicrobienne**

Le mode d'action des HES dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane. Les bactéries à Gram positif sont plus sensibles à l'action des HES, par rapport aux bactéries à Gram négatif (Khenaka,2011).

Les HES peuvent aussi inhiber la synthèse de DNA, ARN, des protéines et des polysaccharides des bactéries (Laib,2011).

# **Chapitre III**

## **Matériel et Méthodes**

## Chapitre III : Matériel et Méthodes

Notre travail expérimental a été effectué au sein du laboratoire de **Biochimie** et **microbiologie**, Université Abbés Laghrour - Khenchela.

### Les objectifs :

1-Détermination et comparaison des activités biologiques de différents extraits de 4 plantes médicinales à savoir : *Juniperus phoenicea*, *Onopordum acanthium*, *cardamome*, *Badiane chinoise* dont deux appartenant à la wilaya de khenchela .

2- Identifier les différents groupes chimiques présents dans les feuilles de *Juniperus phoenicea* (criblage phytochimique),

3-Déterminer l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits obtenus par extraction au Soxhlet des feuilles de *Juniperus phoenicea*, extrait acétone par macération de fleurs *Onopordum acanthium* et des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea*, graines de *cardamome* et les fruits de *Badiane chinoise*.

### I – Matériel :

#### I -1-Matériel végétal :

Il est constitué de la plante *Juniperus phoenicea* fraîche, les tubes d'anthères soudée d'*Onopordum acanthium*, *cardamome*, *Badiane chinoise*.

#### I- 2-Les souches bactériennes :

Afin de tester le potentiel antibactérien des extraits, sept souches ont été utilisées

**Tableau 01** : Souches utilisées dans la présente expérimentation :

Bactéries	Microorganismes testés	Références
Gram positif	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923
	<i>Listeria monocytogenes</i>	ATCC 25922
Gram négatif	<i>Acinetobacterbaumannii</i>	ATCC 19606
	<i>pseudomonasaeruginosa</i>	ATCC 27853
	<i>Klebsiellaoxytoca</i>	ATCC 25922
	<i>Salmonella sp</i>	
	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922

### I -3-Produits utilisées :

Les réactifs chimiques et solvants utilisés dans notre travail : Ether pétrole , Chloroforme( $\text{CHCl}_3$ ) [CARLO ERBA], Acétate d'éthyle[CHROMANORM], Anhydride acétique [GPR RECTAPUR]; Acétone ,Ethanol , Méthanol ( $\text{CH}_3\text{-OH}$ )[BIOCHEM] , Acide sulfurique,  $\text{FeCl}_3$  , Réactif de Mayer , Agar[LIOFILCHEM] , Miller Hinton[CONDA] ,Gel de silice [FLUKA] Dimethylsufoxyde [ BIOCHEM] et Hexane [SIGMA ALDRICH].

### I -4-Appareillage :

Parmi l'appareillage utilisé : Balance analytique, Rotavapeur [Hahnvapor (KIT LAB)], Balance électriques, Autoclave [VAPOUR LINE], Etuve [MEMMERT], Soxhlet [GERHARDT], Clevenger, Plaque chauffante [SCI LOGEX], Réfrigérateur [LIEBHERR], vortex, bain Maré [ MEMMERT ], spectrophotomètre UV-Vis [UNICO]

## II –Méthodes :

### II -1-Extraction :

#### II -1-1-extrait par macération :

Les tubes d'anthères soudées d'*Onopordum acanthium*(partie mauve de la fleur d'*Onopordum acanthium*) de poids 65,938 g récoltés au mois Mai 2016 conservées dans le congélateur sont mis à macérer dans l'acétone, après filtration l'extrait acétone est éliminé du filtrat par évaporation sous pression réduite dans un rotavapor à une température de 40°C. La macération est répétée deux fois jusqu'à épuisement de la matière végétale. L'extrait obtenu a été conservé au congélateur jusqu'à son utilisation.



**Figure 12** : Préparation de l'extrait Acétone : (A-Macération 24 h, B-Filtration, C –  
Evaporation au Rotavapeur (40°C))

### II -1-2- Extraction par soxhlet de *Juniperus phoenicea* :

L'extraction avec le Soxhlet est une méthode classique pour l'extraction solide-liquide. Les avantages du Soxhlet sont les suivants : l'échantillon entre rapidement en contact avec une portion fraîche de solvant, ce qui aide à déplacer l'équilibre de transfert vers le solvant. Cette méthode ne nécessite pas de filtration après extraction.

Le Soxhlet est indépendant de la matrice végétale. Les inconvénients les plus significatifs de cette méthode, par comparaison avec les autres techniques conventionnelles sont : la durée importante d'extraction et la grande quantité de solvant consommée, ce qui conduit non seulement à des pertes économiques mais pose aussi des problèmes sur le plan environnemental. Les échantillons étant portés à haute température pendant une période relativement longue, le risque de thermodestruction de certains composés n'est pas à négliger si la matière végétale contient des composés thermolabiles. Etant donné la grande quantité de solvant utilisée, l'étape postérieure d'évaporation/concentration devient limitant. Des échauffements locaux sont également possibles (Grigonis et Venskutonis., 2005).

Cette technique est limitée d'un point de vue de la sélectivité du solvant et n'est pas facilement automatisable (Grigonis et al .,2005) (L. Wang et Waller ., 2006) .

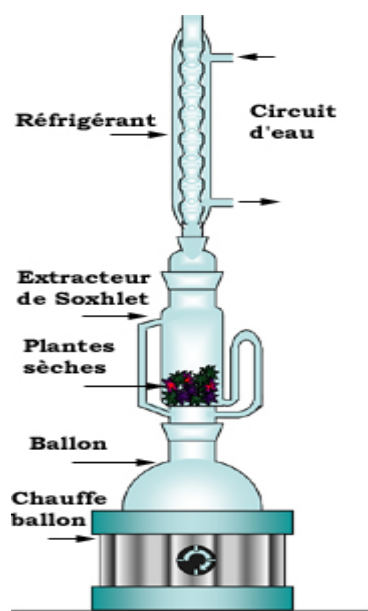
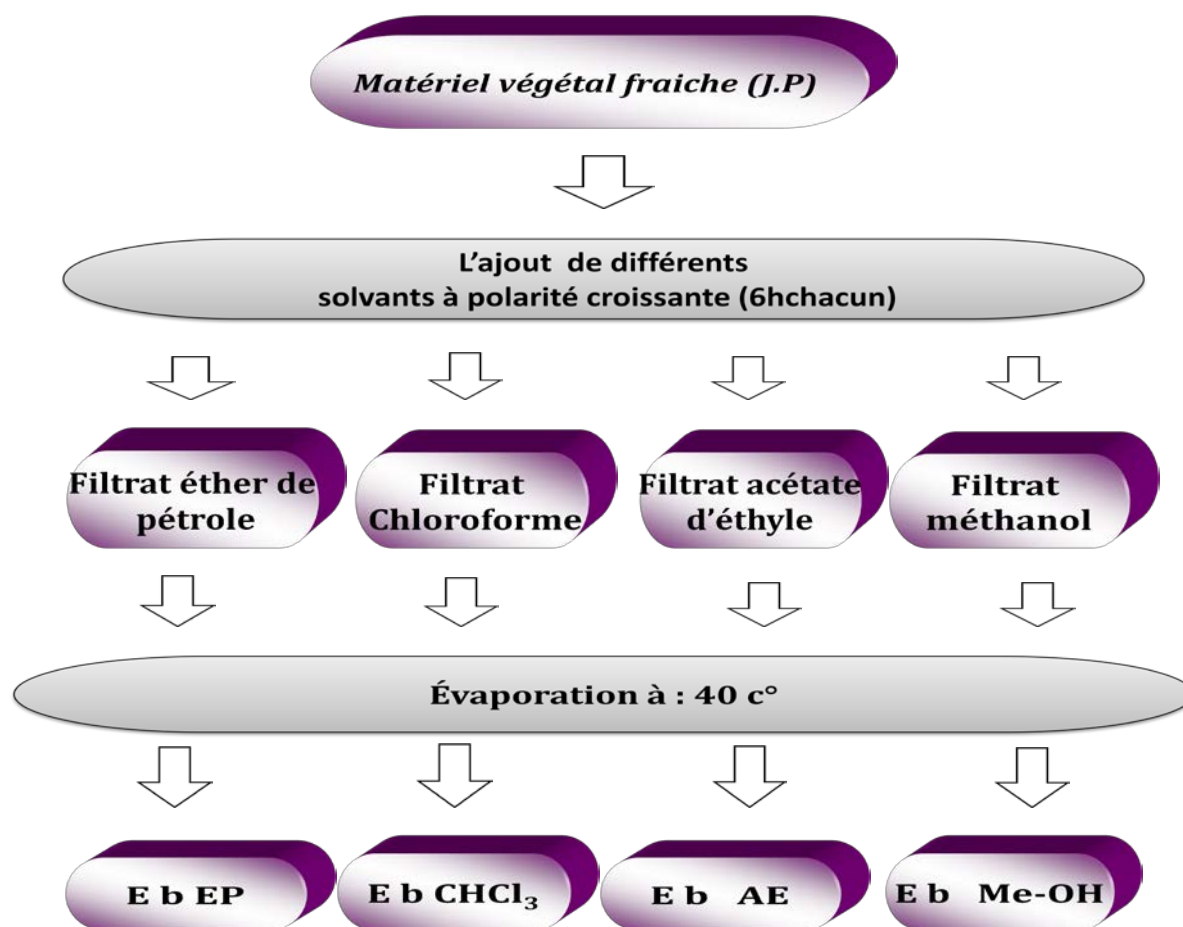


Figure 13 : Schéma de l'extracteur Soxhlet.

La matière végétale de *Juniperus phoenicea* (266,16 g) fraîchement déposée dans les cartouches en cellulose et placées au bon endroit dans l'appareil soxhlet. L'extraction a été réalisée graduellement avec l'éther de pétrole, chloroforme, acétate d'éthyle et on termine avec le méthanol successivement de manière à augmenter la polarité. Chaque solvant est ajouté après la récupération de l'extrait précédent, l'extraction est arrêtée lorsque le solvant d'extraction qui s'écoule devient de plus en plus clair (après 5 à 6 cycles). Le ballon étant chauffé, le liquide est amené à l'ébullition, les vapeurs du solvant passent par le tube de distillation et rentrent dans le réfrigérant pour être liquéfiées. Ensuite, le condensat retombe dans le corps de l'extracteur sur la cartouche, faisant ainsi macérer le solide dans le solvant. Le solvant condensé s'accumule dans l'extracteur jusqu'au niveau du sommet du tube-siphon, suivi par le retour dans le ballon du liquide de l'extracteur accompagné de substances extraites. La séparation du solvant de l'extrait est faite à l'aide de la rotavapor, pendant l'extraction veillé à ce que le système de refroidissement empêche l'évaporation du solvant d'extraction.



**Figure 14 :** Les principales étapes d'extraction (Soxhlet) solide – liquide par

L'Ether de pétrole, Chloroforme, Acétate d'éthyle et Méthanol.

### II -1-3-Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation :

Une hydrodistillation est assurée grâce à un appareil de type Clevenger, où une quantité de matière végétale *cardamome* (52.976g), *Badiane chinoise* (82.831g) et *Juniperus phonicea* (190g) est introduite avec 700 ml d'eau dans un ballon de 1 litre. Après installation et fermeture du montage, la mise en marche de la chauffe ballon est effectuée avec un réglage optimum du chauffage pour permettre une stabilité de l'extraction à une vitesse constante et bien maîtrisée. La durée totale de l'extraction est estimée à 6 heures. L'huile essentielle se distingue de l'hydrolat (eau aromatique) par sa différence de densité et de couleur. On la sépare de celui-ci par décantation puis récupérée et conservée dans l'obscurité.

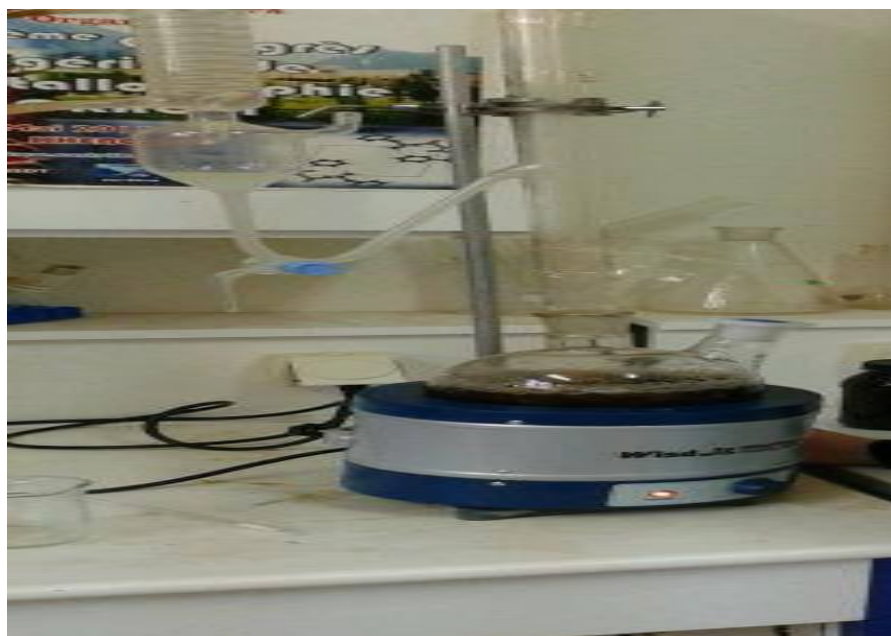


Figure 15 : Hydrodistillation .

### II -2-Calcul du rendement :

Le rendement de l'extrait est le rapport entre le poids de l'extrait et le poids de la plante sèche. Le rendement, exprimé en pourcentage, est calculé par la formule suivante :

$$R = 100m/m_0 \text{ Où :}$$

R : est le rendement en %.

m : est la masse de l'extrait.

$m_0$  : est la masse de la plante.

### II -3-Screening chimique :

Le screening chimique est un ensemble de réactions chimiques qui permettent d'identifier la présence des principales catégories des substances chimiques naturelles contenues dans une plante et qui pourraient être responsables de propriétés pharmacologiques. Les tests phytochimiques sont réalisés sur les quatre phases de *Juniperus phonicea* à savoir l'extrait méthanolique, acétate d'éthyle, chloroforme et éther de pétrole

Les résultats obtenus ont été évalués comme suit :

**(+++)** : Présence plus forte **(++)** : présence forte, **(+)** : présence faible, **(-)** : absence,

#### II -3-1 Les flavonoïdes : test de Shinoda

L'extrait (0,1 g) a été dissout dans 3 ml de méthanol. 0,05 g de copeau de magnésium et 4 gouttes d'acide sulfurique y ont ensuite été ajoutés. Le développement de la couleur orange a indiqué la présence des flavonoïdes (**Bruneton, 1999**).

#### II -3-2 Les alcaloïdes : test de Mayer

Cent milligrammes d'extrait ont été introduits dans un tube à essai contenant 3 ml d'acide sulfurique 1%. L'ensemble a été porté à ébullition au bain-marie (100°C) pendant 5 min. Après refroidissement et filtration, 5 gouttes de réactif de Meyer ont été ajoutées. La formation d'un précipité blanc a indiqué la présence des alcaloïdes (**Bruneton, 1999**).

#### II -3-3 Les triterpènes et les stéroïdes : test de Liebermann-Burchard

Cent milligrammes d'extrait ont été dissouts dans 3 ml de chloroforme et 4 gouttes d'anhydride acétique et d'acide sulfurique concentré y ont été ajoutées. La formation d'une phase supérieure rouge-violacé a indiqué la présence des triterpènes, alors que le développement d'une coloration bleue à l'interface a indiqué la présence des stéroïdes (**Bruneton, 1999**).

#### II -3-4 Test des composés phénoliques :

L'extrait (0,1 g) a été dissout dans 3 ml d'éthanol et 5 gouttes de FeCl<sub>3</sub> y ont été ajoutées. Le développement de la coloration verdâtre a indiqué la présence des phénols. La présence des composés phénoliques a été marquée par l'apparition de la coloration bleue verdâtre (**Bruneton, 1999**).

#### II -3-5 Test des saponines :

Cent milligrammes d'extrait ont été introduit dans un tube à essai contenant 5 ml d'eau et l'ensemble a été chauffé pendant 5 min. Après refroidissement et filtration, 10 ml de filtrat ont été introduits dans un second tube à essai et agités pendant 1 min. Après 15min de

repos l'épaisseur de la mousse a été mesurée à l'aide d'une règle graduée. Une hauteur de mousse d'au moins un centimètre a indiqué la présence des saponines (**Bruneton,1999**).

### II -3-6 Test des tannins :

Cent milligrammes d'extrait ont été dissouts dans 5 ml d'eau distillée et la solution a été chauffée pendant 5 min. Après refroidissement et filtration, 4 gouttes de chlorure de fer 0,5% ont été ajoutés à 2 ml de filtrat. La présence des tannins a été indiquée par la formation d'un précipité bleu (**Bruneton,1999**).

### II -3-7 Test des anthocyanines :

L'extrait (0,1 g) a été ajouté à 5 ml d'une solution d'acide sulfurique 1%. L'apparition d'une coloration orange a montré la présence des anthocyanines (**Bruneton,1999**).

### II -3-8 Test des coumarines

Cent milligrammes d'extrait ont été dissouts dans 3 ml de méthanol contenu dans un tube à essais, puis le tube a été recouvert d'un morceau de papier imbibé d'une solution de soude 10%. L'absence de la fluorescence jaune-vert à l'UV (254 nm) a révélé l'absence des coumarines (**Bruneton, 1999**).

## II -4- Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué avec le réactif colorimétrique Folin Ciocalteu selon la méthode cité par Wong C et al (2006) (**Wong et al .,2006**).

### Principe

La teneur phénolique totale est habituellement déterminée colorimétriquement avec le spectrophotomètre UV-Vis en utilisant l'essai de Folin-Denis ou généralement Folin-Ciocalteu .Ces essais sont basés principalement sur la réduction du réactif acide phosphotungstique phosphomolybdique (réactif Folin) dans une solution alcaline. Brièvement 100µl de chaque extrait (méthanol et acétate d'éthyle dissous dans le méthanol à différente concentration : 125-200-250 et 350µg / ml) ont été ajoutés à 200µl de réactif de Folin-Ciocalteu , 2 ml eau distillé , 1ml de la solution de carbonate de sodium  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ (15%) . Le mélange final a été agité à l'aide d'un vortex puis incubé pendant 2 heures dans l'obscurité et température ambiante. L'absorbance des extraits a été mesurée par un spectrophotomètre à 765 nm (**Vuorela et al .,2005**).

La concentration des polyphénols totaux a été calculée à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (125-200-250 et 350µg / ml) et exprimée en microgrammes équivalents d'acide gallique par gramme du poids d'extrait (µg EAG/g).

### II -5-Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes des extraits méthanolique et acétate d'éthyle de *Juniperus phoenicea* ont été quantifiés par la méthode du trichlorure d'aluminium (Vuorela et al.,2005) .

#### Principe :

1 ml de chaque extrait (préparés dans le méthanol pour avoir des concentrations convenables) a été ajouté à 1 ml de la solution d' $\text{AlCl}_3$  (2 %, dans le méthanol). Après 10 minutes d'incubation, l'absorbance a été lue à 430 nm. La concentration des flavonoïdes dans les extraits a été calculée à partir d'une courbe d'étalonnage  $y = ax + b$  établie avec la quercétine à différentes concentrations (1.75-40 $\mu\text{g/ml}$ ), chacune a été préparée dans le méthanol et pratiquée dans les mêmes conditions opératoires que les extraits servira à la quantification des flavonoïdes. La teneur en flavonoïdes a été exprimé en microgrammes équivalents de la quercétine par grammes du poids d'extrait ( $\mu\text{g EQ} / \text{g E}$ ).

### II -6-Etude des activités biologiques des extraits

#### II -6-1-Activité antioxydante totale (TAC)

##### II -6- 1-1-Principe

La capacité antioxydant totale (TAC) des extraits des plantes est évaluée par la méthode de Phosphomolybdène. Cette technique est basée sur la réduction de molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate  $\text{MoO}_4^{2-}$  à molybdène Mo (V)  $\text{MoO}^{2+}$  en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate/ Mo(V) à PH acide ( Prieto et al .,1999).

##### II -6-1-2- Dosage

Un volume de 0.3 ml de chaque extrait méthanolique est mélangé avec 3 ml de solution du réactif (0.6 M acide sulfurique, 28mM de phosphate de sodium et 4mM de molybdate d'ammonium). Les tubes sont vissés et incubés à 95C° pendant 90 min. Après refroidissement, l'absorbance des solutions est mesurée à 695 nm contre le blanc qui contient 3 ml de la solution du réactif et 0.3 ml du méthanol et il est incubé dans les mêmes conditions que l'échantillon. La capacité antioxydante totale est exprimée en milligramme équivalents d'acide ascorbique par gramme de la matière sèche (mg EAA/ g MS) (Prieto et al .,1999).

### **II -6-2-Activité antibactérienne par diffusion en milieux gélosés**

L'étude du pouvoir antibactérien par cette technique a été identique à celui de L'antibiogramme, nous avons utilisé la technique de diffusion en milieux gélosés sur boîtes de pétri en adaptant la méthode de disques décrite par Bauer (**Bauer .AW et al ., 1996**).

#### **II -6-2-1-Protocole de l'activité antibactérienne**

- **Préparation de milieu de culture**

A 15 g de Miller Hinton est ajouté progressivement 1 litre d'eau distillée, sur la plaque chauffante le mélange est portée à ébullition puis on rajoute 20 g d'agar, agiter régulièrement pour solubiliser, la dissolution complète est obtenue lorsque la solution ne contient plus aucune particule d'agar s'accrochant aux parois du récipient, ensuite le milieu est autoclavé.

- **Préparation de l'eau physiologique**

Peser une masse de 8.5 g de chlorure de sodium (Na Cl) dans un litre d'eau distillée, mettre le mélange dans l'autoclave 120 C° pendant 20 minutes.

- **Revivification**

À partir d'une culture pure sur milieu gélosé des bactéries à tester (ayant au maximum 24h), racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques, décharger l'anse dans 5ml de bouillon nutritive stérile. Bien homogénéiser la suspension bactérienne est incubée à 37 c° pendant 24 heures, cette opération est effectuée pour chaque type des bactéries.

- **Repiquage**

Couler 20 ml de la gélose Muller-Hinton dans chaque boîte de pétri et laisser solidifier. Prendre une goutte de la suspension bactérienne étaler la goutte de suspension à la surface du milieu de culture sur boîte de pétri à l'aide d'une anse de platine stérile et incubé à 37 c° pendant 24 heures.

- **Préparation de la suspension bactérienne**

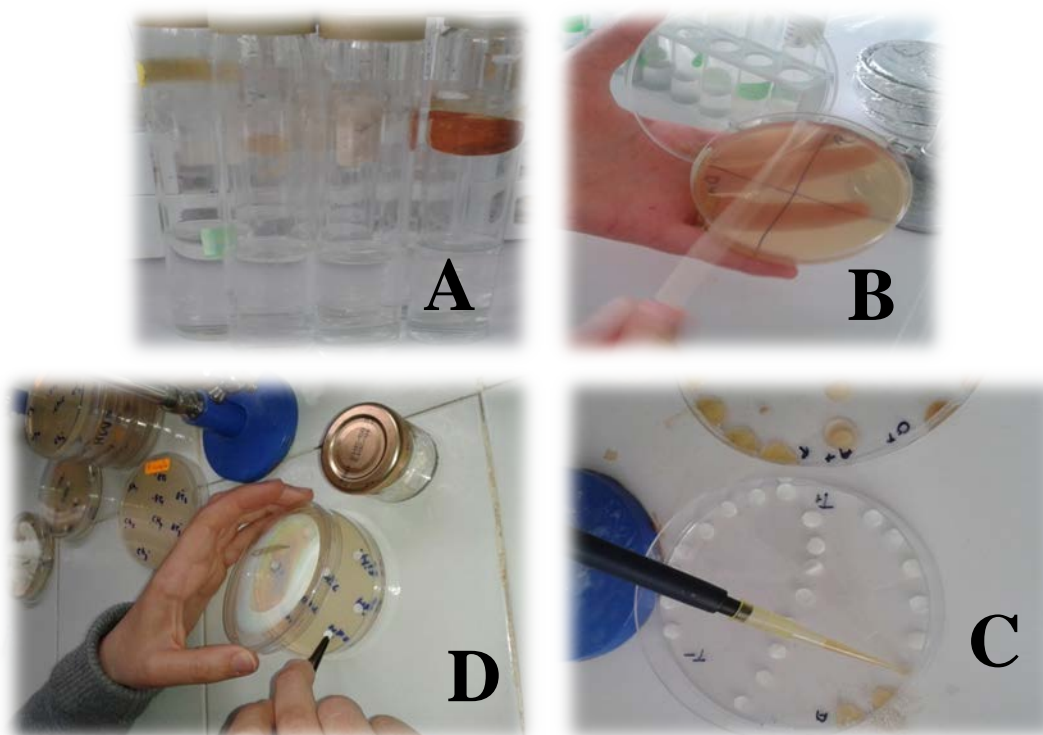
Après le repiquage racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies, décharger l'anse dans 10 ml d'eau physiologique, prendre avec une pipette 1ml de la suspension bactérienne et ajouter 9 ml d'eau physiologique stérile, cette dilution est effectuée pour chaque type de la suspension bactérienne.

- **L'écouvillonnage**

Le milieu de culture utilisé est Muller-Hinton, milieu le plus employé pour les tests de sensibilité aux agents antibactériens. Couler 20ml de la gélose Muller-Hinton dans chaque boîte de pétri et laisser solidifier. Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne, l'essorer en le pressant fermement, en tournant sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum. Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées, en tournant la boîte de pétri 60° à chaque fois.

- **Dépôt des disques et des extraits**

- Stériliser du papier Wattman n°3 coupé en disques de 6mm de diamètre dans l'autoclave à 120°C pendant 20 minutes,
- Imprégner les disques avec 10µl de différents extraits repris dans le méthanol pour l'obtention d'une concentration de 1mg/ml, Finalement on prépare des disques imprégnés de méthanol (le contrôle négatif) pour déterminer la sensibilité de chaque souche bactérienne testée,
- Les disques imprégnés des différents extraits sont ensuite délicatement déposés à la surface de la gélose. Il en est de même pour les disques de contrôle (témoin).



**Figure 16** : Principales étapes adoptée pour l'évaluation de l'activité antibactérienne (A -Préparation de l'inoculum, B-L'ensemencement, C-Préparation des disques, D -Le dépôt des disques)

- **Incubation et lecture**

-Les diamètres des zones d'inhibition(ZI) sont mesurés autour des disques après une incubation à l'étuve à 37°C pendant 24 heures ;

-Les expériences sont réalisées en trois répétitions et les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  SD (standard déviation). La souche ayant un diamètre  $D < 8\text{mm}$ ,  $9 \leq D \leq 14\text{mm}$ ,  $15 \leq D \leq 19\text{mm}$ ,  $D > 20\text{mm}$  est considérée respectivement comme souche résistante (-), sensible (+), très sensible (++) , extrêmement sensibles (+++).

### II -7- Etude statistique

Les analyses statistiques ont été réalisées par le logiciel statistique XLSTAT. Les expériences in vitro ont été faites en triple et d'autres en double. Les résultats des différentes évaluations réalisées sont exprimés en moyenne  $\pm$  écart type. Ces résultats sont traités statistiquement par le test d'ANOVA. Le seuil de signification est supérieur à 95% ( $p < 0.05$ ), tel que :

- ( $p > 0.05$ ) désigne un effet non significatif
- ( $p \leq 0.05$ ) désigne un effet significatif
- ( $p \leq 0.01$ ) désigne un effet très significatif
- ( $p \leq 0.001$ ) désigne un effet très hautement significatif.

*Chapitre IV*

*Résultats et Discussion*

## **Chapitre IV : Résultats et Discussion**

Notre travail porte sur l'étude phytochimique et l'évaluation de l'activité anti-oxydante et antibactérienne, des extraits de 4 plantes médicinales : *Juniperus phoenicea* , *Onopordum acanthium* , *cardamome* , *Badiane chinoise*.

### **I –Étude phytochimique et dosage**

#### **I-1- Détermination de rendement d'extraction**

Les extractions de notre plantes permettent de calculer le rendement de chaque extrait.

**Tableau 2 :** Tableau récapitulatif regroupant les rendements des différents extraits :

<b>La plante</b>	<b>Le poids MV (g)</b>	<b>Les extraits</b>	<b>Le poids Ext (g)</b>	<b>Le rendement (%)</b>
	<b>266.16</b>	<b>Ether</b>	<b>4.693</b>	<b>1.76</b>
<b><i>J.phonicea</i></b>	<b>266.16</b>	<b>Chloroforme</b>	<b>23.813</b>	<b>8.94</b>
	<b>266.16</b>	<b>Acétate d'éthyle</b>	<b>23.993</b>	<b>9.01</b>
	<b>266.16</b>	<b>Méthanol</b>	<b>51.074</b>	<b>19.15</b>
	<b>190</b>	<b>HE</b>	<b>0.9</b>	<b>0.47</b>
<b><i>cardamome</i></b>	<b>52.976</b>	<b>HE</b>	<b>8.115</b>	<b>15.318</b>
<b><i>Badiane chinoise</i></b>	<b>82.831</b>	<b>HE</b>	<b>18.432</b>	<b>22.25</b>
<b><i>O.acanthuim</i></b>	<b>65.938</b>	<b>Acétone</b>	<b>5.771</b>	<b>8.75</b>

Devant la richesse des résultats, une figure récapitulative sous forme d'un graphique à secteurs traduit la proportion de chaque extrait dosé,

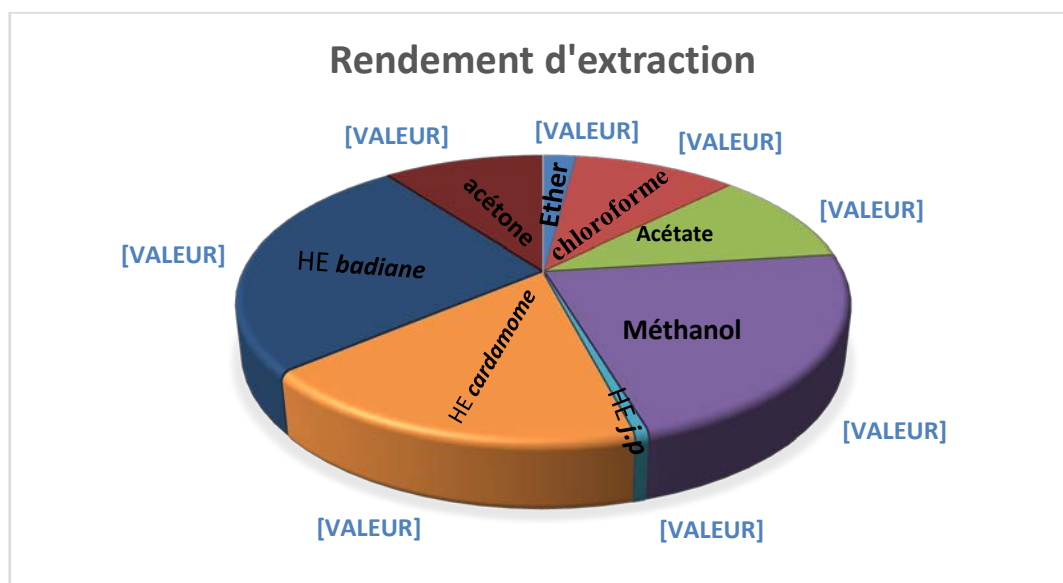


Figure 17: Rendement de l'extraction.

Le calcul des rendements par rapport au poids de la matière végétale pour la plante *Juniperus phoenicea*, a permis d'avoir des valeurs qui s'étendent de 19.15% pour l'extrait méthanolique, de 9.01 % pour l'extrait acétate d'éthyle, de 8.94 % pour l'extrait chloroforme, à 1.76 % pour l'extrait éther de pétrole qui représente le rendement le plus faible, L'extrait acétone d'*Onopordum acanthium* a un rendement de 8.75 %.

Les huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* avec un rendement le plus faible (0.47%), alors que les huiles essentielles de *Badiane chinoise* ont un rendement le plus élevé (22.25 %) et celles de cardamome (15.31 %).

Dans notre étude où l'extraction est réalisée par trois méthodes différentes : à froid par simple macération (Su Y.C et al.,2006) qui est une méthode discontinue dont le solvant devrait être remplacé jusqu'à ce que la matière végétale soit épuisée (Gazi et al .,2004 ), extraction par soxhlet qui est une méthode classique pour l'extraction solide-liquide et indépendant de la matrice végétale (Grigonis et Venskutonis,2005) et l'extraction par hydrodistillation pour les huiles essentielles , donc il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie de manière générale .En outre, le rendement n'est pas relatif ; il varie en fonction de l'espèce végétale, l'organe utilisé dans l'extraction, les conditions de séchage, le contenu de chaque espèce en métabolites (de son métabolisme) et de la nature

du solvant utilisé dans l'extraction ou fractionnement et de sa polarité (Mohammedi,2006).

### I-2- Tests phytochimiques

Les tests phytochimiques permettent de déterminer les différentes familles de composés qui existent dans les extraits : éther de pétrole, chloroforme, acétate d'éthyle et méthanol de *Juniperus phoenicea* par des réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque famille de composés, les résultats obtenus sont consignés dans le tableau ;

**Tableau 3** : Résultats des tests phytochimiques de différents extraits *Juniperus phoenicea* :

Extraits	Ether de pétrole	chloroforme	Acétate d'éthyle	Méthanol
<b>Phytoconstituants</b>				
<b>Flavonoïdes</b>	-	-	++	++
<b>Tri terpènes</b>	++	-	++	+
<b>Stéroïdes</b>	+	+	+	+
<b>Phénols</b>	-	+	++	++
<b>Composés phénoliques</b>	-	++	++	++
<b>Saponines</b>	-	-	-	-
<b>Tanins</b>	-	-	-	++
<b>anthocyanines</b>	-	-	-	-
<b>Alcaloïdes</b>	-	-	-	-
<b>Coumarines</b>	+	++	++	+

Les résultats sont interprétés comme suit:

(+++): Présence plus forte, (++) : présence forte, (+) : présence faible, (-) : absence,

L'étude phytochimique des extraits : éther de pétrole, chloroforme, acétate d'éthyle et méthanol a montré que les quatre contiennent les Stéroïdes(+), les Coumarines sont

présent en quantité moyenne (++) dans l'extrait chloroformique et acétate d'éthyle par contre dans l'extrait méthanolique et éthérique sont présents en faible quantité.

L'étude montre que les extraits ne contiennent pas des anthocyanines, alcaloïdes, saponines et les tanins sauf l'extrait méthanolique qui contient les tanins en quantité modérée,

La phase méthanolique, chloroformique et acétate d'éthyle est riche en composés phénoliques ces derniers sont absents dans l'extrait éthérique, tandis que les phénols sont présents en faible quantité dans la phase chloroformique, absents dans l'extrait éthérique, alors qu'ils sont présents en quantité moyenne dans la phase méthanolique et acétate d'éthyle,

L'extrait acétate d'éthyle est riche en flavonoïdes et tri terpènes par contre la phase chloroformique est pauvre en flavonoïdes et tri terpènes, alors que ces derniers sont présents en quantité moyenne (++) dans l'extrait méthanolique, tandis que les flavonoïdes sont absents dans l'extrait éthérique, alors que les tri terpènes sont présents en quantité modérée dans l'extrait éthérique,

Selon la littérature, il est difficile de comparer nos résultats avec ceux de la bibliographie de manière générale à cause de différence du solvant de l'extraction par soxhlet. La richesse de ces extraits en composés chimiques actifs pourrait expliquer son utilisation traditionnelle pour soigner de nombreuses maladies donc ; l'extrait méthanolique est plus riche en métabolites secondaires, ce qui explique les diverses activités biologiques attribuées à ces derniers.

### **I -3-Dosage des polyphénols**

La teneur en polyphénols totaux de l'extrait : méthanolique et acétate d'éthyle de *Juniperus phoenicea* a été déterminée à partir de la méthode de Folin Ciocalteu.

L'acide gallique est le standard le plus souvent employé dans la méthode de Folin-Ciocalteu.

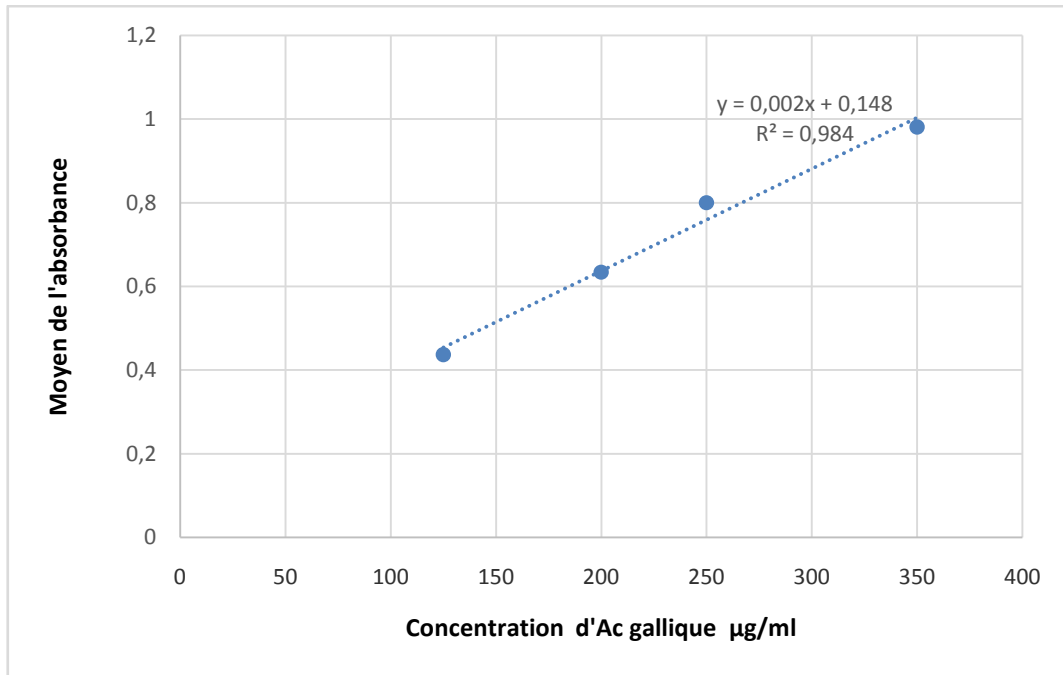


Figure 18 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

La teneur en composés phénoliques de chaque extrait a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (Figure 18) et exprimé en microgrammes équivalents d'acide gallique par gramme du poids d'extrait ( $\mu\text{g EAG/g}$ ).

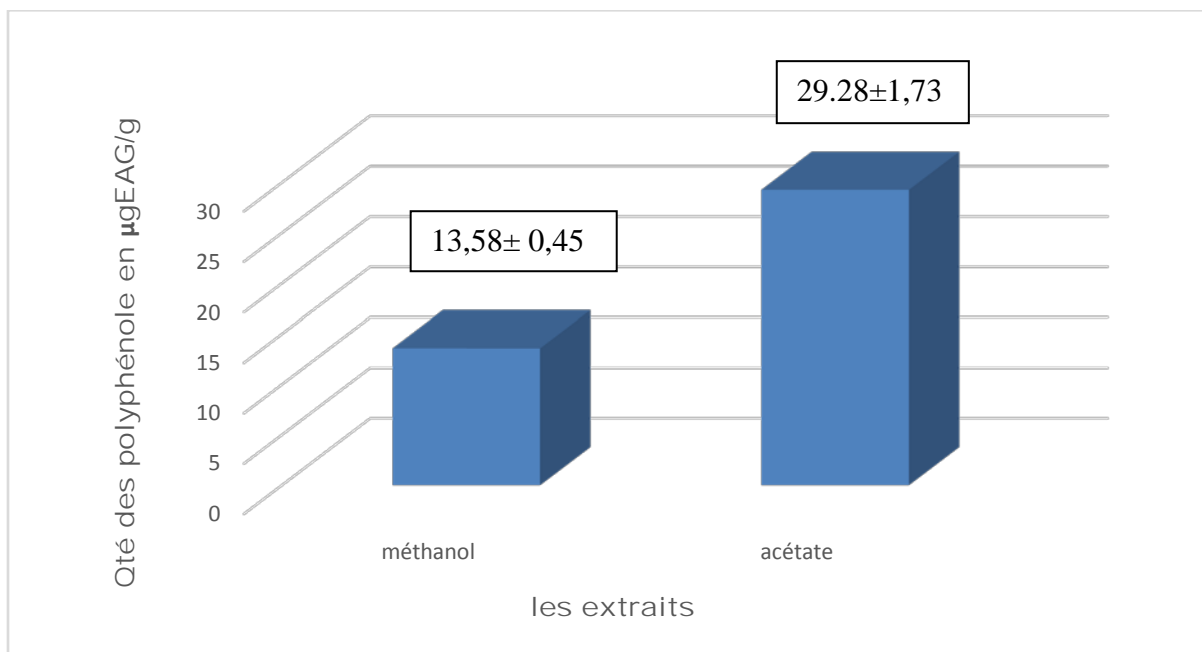


Figure 19 : Teneur en polyphénols totaux ( $\mu\text{g EAG/g}$ ).

Les résultats du dosage des polyphénols montrent que l'extrait brut acétate d'éthyle est plus riche en polyphénols que l'extrait méthanolique avec des valeurs de  $29,28 \pm 1,73$  et

13,58± 0,45µg EAG /g d'extrait respectivement. De plus une différence significative ( $p \leq 0.05$ ) a été détectée par l'analyse statistique des résultats (ANOVA). La variabilité des teneurs en polyphénols chez ces espèces végétales est du probablement à la composition phénoliques des extraits (Hayouni et al.,2007) .

Malgré la sensibilité et la simplicité de la méthode de Folin-Ciocalteu, elle n'est pas spécifique des polyphénols. En effet, le réactif peut réagir avec des protéines, des sucres réducteurs, l'acide gallique et des composés soufrés (Singleton et al.,1999).

En général le contenu polyphénolique varie qualitativement et quantitativement d'une plante à une autre, cela peut être attribué à plusieurs facteurs : Facteurs climatiques et environnementaux, la zone géographique, sécheresse, sol, agressions et maladies...etc. (Ebrahimi et al.,2008),

Le patrimoine génétique, la période de la récolte et le stade de développement de la plante (Miliauskas et al.,2004),La méthode d'extraction et la méthode de quantification peuvent également influencer l'estimation de la teneur des phénols totaux. (Lee et al.,2003).

### I -4-Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes de l'extrait méthanolique et acétate d'éthyle de *Juniperus phoenicea* a été déterminée en utilisant de trichlorure d'aluminium.

La quercétine est le standard le plus souvent employé dans la méthode de trichlorure d'aluminium.

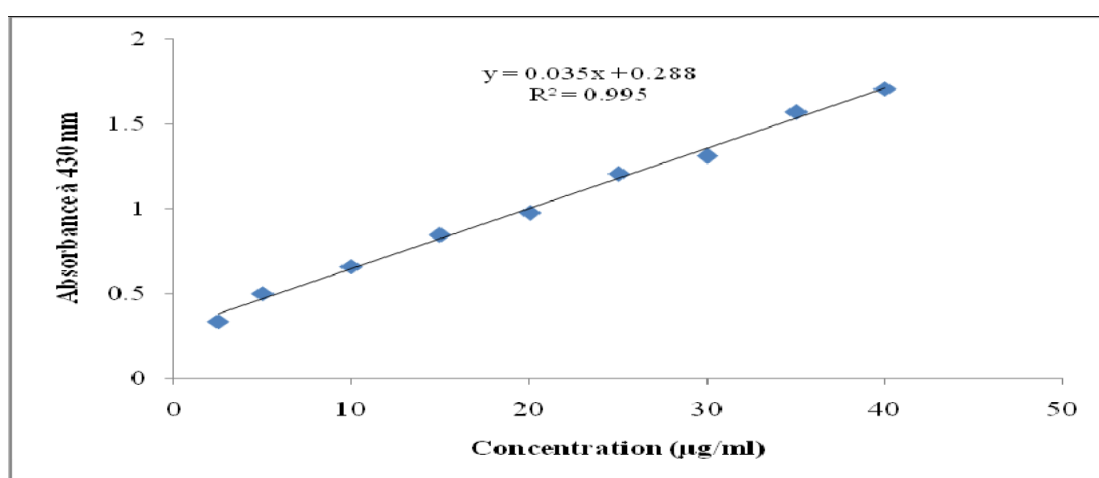
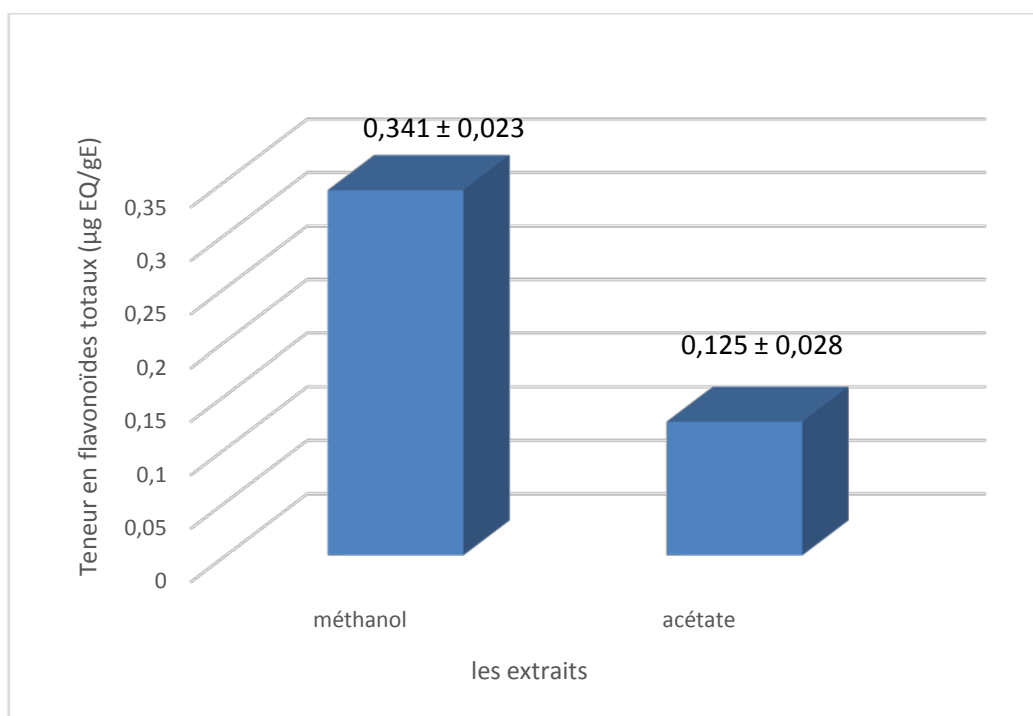


Figure 20: Courbe d'étalonnage de la quercétine.



**Figure 21** :Teneur en flavonoïdes totaux (µg EQ/gE)

La détermination quantitative des flavonoïdes par la méthode du trichlorure, elle se base sur la formation d'un complexe flavonoïde-ion d'aluminium ayant une absorbance maximale à 430 nm, cette méthode révèle que l'extrait méthanolique a fourni un taux d'environ ( $0,341 \pm 0,023 \mu\text{g EQ/ mg extract}$ ) plus élevé que celui obtenu à partir de l'extrait acétate d'éthyle qui est de ( $0,125 \pm 0,028 \mu\text{g EQ/mg extract}$ ). De plus une différence significative ( $p \leq 0,05$ ) a été détectée par l'analyse statistique des résultats (ANOVA).

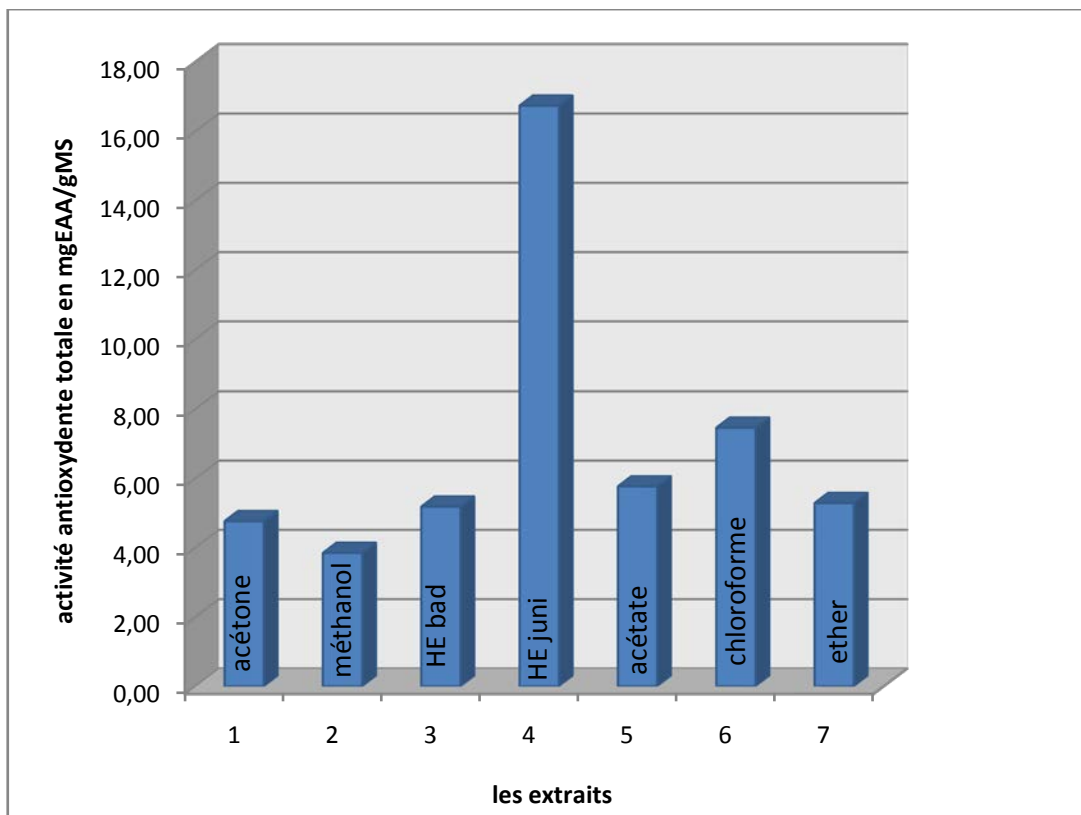
## II-les activités biologiques des extraits

### II-1- Activité antioxydante totale (TAC)

L'activité antioxydante totale a été déterminée pour sept extraits et exprimée en milligrammes équivalents d'acide ascorbique par gramme de la matière sèche (mgEAA/gMS). Les résultats sont montrés dans le tableau suivant ;

**Tableau 4 :** Résultats de la capacité antioxydante en mg EAA/gMS :

Extrait	Moyen	SD (écart type)
Acétone	4.77	0.46
Méthanol	3.85	0.11
HE <i>badiane</i>	5.19	0.16
HE <i>j. phonicea</i>	16.74	0.19
Acétate d'éthyle	5.77	0.04
Chloroforme	7.46	0.08
Ether de pétrole	5.29	0.63



**Figure 22:** L'activité antioxydante totale en mg EAA/g MS.

Notre résultats ont montré que un pouvoir antioxydant maximal de  $16.7 \pm 0.19$  mg EAA/g MS est exercé par les huiles essentielles de *Juniperus phoenicea*, et que les feuilles de *Juniperus phoenicea* peuvent être une source non négligeable des substances à activité antioxydante, la phase chloroformique a un pouvoir antioxydant de  $7.46 \pm 0.08$  mg EAA/g MS, l'extrait acétate d'éthyle a une capacité antioxydante de  $5.77 \pm 0.04$  mg EAA/g MS, l'extrait éthérique a un pouvoir antioxydant de  $5.29 \pm 0.63$  mg EAA/g MS alors que les extraits qui ont le plus faible pouvoir antioxydant sont les huiles de *badiane*, acétone, méthanol avec des valeurs de  $5.19 \pm 0.16$  mg EAA/g MS,  $4.77 \pm 0.46$  mg EAA/g MS et  $3.85 \pm 0.11$  mg EAA/g MS respectivement, L'analyse statistique, par le test ANOVA a montré une différence très hautement significative entre les extraits avec ( $p > 0,001$ ).

L'activité antioxydante totale des extraits est relativement dépendante avec les résultats des dosages et screening phytochimique, par exemple la teneur en polyphénols d'extrait acétate d'éthyle est plus élevée que l'extrait méthanolique donc la capacité antioxydante d'extrait acétate d'éthyle est supérieure à celle de l'extrait méthanolique, cette activité est probablement rattachée à la présence de ces derniers, par contre dans la littérature, est très accepté que ce n'est pas nécessairement la forte teneur en polyphénols exhibe une activité antioxydante puissante (Moure et al., 2001),

Miliauskas et al (2004) qui ont montré qu'un antioxydant efficace dans un test n'est pas forcément efficace dans un autre d'une part. Aussi les composants de chaque extrait en métabolites secondaires tel que ; les flavonoïdes, coumarines, tannins assure leur activité antioxydante, qui est variée en fonction de la plante, les conditions climatiques, l'âge de la plante, ...etc.

### II-2- Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des différents extraits a été évaluée par la méthode de diffusion en milieu gélosé, La méthode de disque a permis de déterminer l'action des extraits des plantes sur les différentes souches, celle-ci se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier préalablement imprégné de l'extrait, comme témoin de l'absence de la croissance bactérienne dans cette zone, les résultats obtenus sont consignés dans le tableau :

## Chapitre IV : Résultats et Discussion

**Tableau 5 :** Moyenne et écart types des Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne obtenus par les différents extraits :

Plantes	Souches	<i>S.a</i>	<i>K.o</i>	<i>S.sp</i>	<i>P.a</i>	<i>E.coli</i>	<i>L.m</i>	<i>A.b</i>
	Extraits							
	CH-cl <sub>3</sub>	7.33 ± 0.57	11.33 ± 1.52	10 ± 2	11.33 ± 0.57	9 ± 1	10 ± 1	8.66 ± 0.57
	AE	10 ± 1	12 ± 2	11 ± 1	10 ± 1	9.66 ± 0.57	11 ± 1	9.33 ± 1.52
<i>Juniperus Phonicaea</i>	EP	8.66 ± 0.57	10.33 ± 0.57	7.33 ± 0.57	9.33 ± 0.57	6 ± 5.29	-	9.33 ± 0.57
	Me-OH	10 ± 1	10.33 ± 1.15	10.33 ± 0.57	9.33 ± 0.57	11.33 ± 0.57	11 ± 0	9.66 ± 1.15
	HE JP	11.5 ± 0.70	11 ± 1.41	11 ± 0	10 ± 1.41	12.5 ± 0.70	11 ± 0	8.5 ± 0.70
<i>Badiane</i>	HE b	9.5 ± 0.70	12 ± 0	12.5 ± 0.70	12 ± 0	12.5 ± 0.70	13 ± 0	10 ± 0
<i>Cardamome</i>	HE c	12.33 ± 0.57	13 ± 1	14.66 ± 0.57	15 ± 1	14 ± 1	14 ± 1	13.66 ± 1.52
<i>Onopordum acanthium</i>	Acétone	12.33 ± 1.52	11.33 ± 0.57	9.66 ± 0.57	13 ± 1	19.66 ± 0.57	14.66 ± 0.57	11.33 ± 0.57

Diamètres des zones d'inhibitions exprimées en mm, (-) absence d'inhibition.

## Chapitre IV : Résultats et Discussion

---

*Staphylococcus aureus* n'est pas sensible pour la phase chloroformique, cette bactérie possède un potentiel de résistance élevée  $D < 8\text{mm}$ , cette résistance est due à plusieurs mécanismes tel que la production des enzymes modifiées ou détruisent les composants actifs dans l'extrait ou naturellement résistantes à quelque composants actifs dans l'extrait (relatif à leur patrimoine génétique), aussi elle possède une sensibilité moyenne pour l'extraits : acétate d'éthyle, méthanol, acétone, étheré de pétrole et les différentes types des huiles essentielles ; cette sensibilité est peut être due à la présence des terpènes et leurs dérivés qui participent à la défense des huiles essentielles contre les bactéries.

*Klebsiella oxytoca* testée sensible pour toute les extraits cette sensibilité est peut être due à la présence des coumarines et des stéroïdes d'après les résultats de screening phytochimique pour les extraits de l'extraction solide – liquide.

*Salmonella sp* résiste l'extrait éther de pétrole, alors que cette bactérie possède une sensibilité moyenne pour l'extrait : chloroformique, acétate d'éthyle, méthanol, les huiles essentielles de *Juniperus phoenicea*, *badiane* et l'extrait acétone, tandis que cette souche très sensible pour les huiles essentielles de *Cardamome*.

*Pseudomonas aeruginosa* très sensible pour les huiles essentielles de *Cardamome* et possède une sensibilité moyenne pour les extraits de *Juniperus phoenicea*, l'extrait acétone et les huiles essentielles de *badiane*.

*Escherichia coli* extrêmement sensible pour l'extrait acétone, résiste l'extrait étherique et sensible aux différents type des huiles essentielles (HE JP, HE b, HE c), l'extrait acétate d'éthyle chloroformique et méthanolique.

Aucune zone d'inhibitions n'a été observée autours des disques après fin d'incubation de *Listeria monocytogenes* testées par l'extrait étherique, par contre cette souche représente extrême sensibilité au l'extrait acétone et sensible pour l'extrait chloroformique, acétate d'éthyle, méthanolique et les huiles essentielles de *Juniperus phoenicea*, *badiane*, *Cardamome*, alors que *Acinetobacter baumannii* possède une sensibilité moyenne pour toute les extraits.

Cette variabilité des résultats est dépendante des extraits utilisés, la taille de l'inoculum : un inoculum trop dense peut conduire à des résultats faussement négatifs, Un inoculum trop faible peut conduire à des résultats faussement positifs, Ces résultats montrent une activité vis-à-vis des Gram positifs que les Gram négatifs. D'après (Nikaido, 2003), ces résultats

## Chapitre IV : Résultats et Discussion

pourraient être dus à la composition de la membrane des bactéries Gram négatifs. En effet, ces dernières possèdent une membrane qui présente une perméabilité sélective ; la surface des lipopolysaccharides contient des charges négatives, qui empêchent la diffusion des molécules hydrophobes, et des porines qui bloquent le passage des molécules à haut poids moléculaire (Garrett et Grisham,2000).

Bien que les activités antimicrobiennes des huiles essentielles soient bien établies, leur mode d'action est encore mal compris (Baser et al.,2006)

Nous remarquons que les germes testés qui ont manifesté une sensibilité aux huiles essentielles de badiane, cardamome et extrait acétone de *O.acanthium* sont des germes souvent rencontrés dans les toxi-infections 'grand public' qui s'accompagnent souvent de manifestations diarrhéiques. Ainsi l'utilité thérapeutique que lui reconnaît la médecine populaire est, en grande partie justifiée.

De plus une analyse statistique par l'ANOVA est effectuée pour chaque extrait pour évaluer la différence d'effet de chaque souche pour un seul extrait, les résultats dans le tableau.

Tableau 6 :les résultats de test d'ANOVA

La différence d'effet	L'extrait
Très hautement significatif	Chloroforme
	Ether de pétrole
	Les HE de <i>badiane</i>
	Acétone
Non significatif	Acétate d'éthyle
	Méthanol
	Les HE de <i>cardamome</i>
	Les HE de <i>j. phonicea</i>

## *Conclusion et perspectives*

## Conclusion

Il est important de souligner que dans ce travail et, pour des raisons pragmatiques, nous n'avons envisagé ni l'optimisation de l'extraction, ni l'optimisation de l'activité.

La présente étude contribue à l'évaluation de l'activité antioxydante totale et l'activité antibactérienne de différents extraits de quatre plantes médicinales tel que *Juniperus phoenicea*, *Onopordum acanthium*, cardamome et la Badiane chinoise.

Différents aspects ont été étudiés : quelques propriétés phytochimique, dosage des polyphénols et flavonoïdes, activité antioxydante totale et activité antibactérienne des extraits.

L'estimation de l'activité antioxydante *in vitro* montre que une différence très hautement significative entre les extraits, mais le plus actif comparé aux différents extraits c'est les huiles essentielles de *Juniperus phoenicea*, l'étude de l'activité antibactérienne montre que nos extraits ont un effet important contre les bactéries varié en fonction de plusieurs facteurs tel que les extraits, les souches utilisées et la taille de l'inoculum.

Selon les résultats obtenus dans cette étude, nous pouvons dire que chaque plante possède des activités biologiques importantes dues aux métabolites secondaires présents.

Ceci montre que la flore Algérienne (*O.acanthuim* et *J.phpnicea*) peut constituer une réserve importante d'espèces végétales intéressantes, dont les principes actifs peuvent être employés dans plusieurs domaines tels que les industries pharmaceutiques et agroalimentaires.

## Perspectives

Cette démonstration indiscutable, obtenue avec un protocole simple (pour ne pas dire simpliste) et des moyens dérisoires laissent voir à quel point il serait complètement irresponsable de négliger la phytochimie sur le plan recherche et sur le plan exploitation, surtout pour les pays émergents.

- L'ensemble de ces résultats obtenus *in vitro* ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances d'origine naturelle biologiquement active, une étude *in vivo* est souhaitable, pour obtenir une vue plus approfondie sur les activités biologiques des extraits des plantes.
- Notre perspective d'avenir est d'étudier chaque extrait séparément puis isoler et identifier les différents composés qui sont responsables des différentes activités biologiques de ces plantes.
- L'utilisation de divers techniques chromatographiques notamment la chromatographie liquide à Haute performance (HPLC), chromatographie en phase gaz (CPG) et des méthodes spectrales pour l'élucidation structurale des métabolites qui sont responsables de ces activités biologiques.

*Références*  
*Bibliographiques*

## Références bibliographiques

- Abdelhaï S ;(1991)** .Les plantes médicinales du Maroc. Le Fennec, Casablanca, p : 574-578 .
- Achak N ; Romane A ; Alifriouie M ; Adams R.P ; (2009)**. Chemical Studies of Leaf Essential Oil of Three Species of *Juniperus* From Tensift Al-Haouz - Marrakech Region (Morocco). *Journal of EssentoilRes*, vol : 21,p : 337-341.
- Adams R.P ; (1998)**. The Leaf Essential Oils And Chemotaxonomy Of *Juniperus* Sect. *Juniperus* .*Biochemical systematicsan d Ecology*, vol : 26, p : 637- 645.
- Adams R.P ; (2004)**.The circumscription and phylogeneticrelation ships of *Callitropsis* and the new lydescribedgenus *Xanthocyparis* (Cupressaceae). *American Journal of Botany*, vol : 91(11),p : 1872-1881.
- Adams R.P ; Pandey N ; Rezzi S ; Casanova J ; (2002)**. Geographic variation in the Random Amplified Polymorphic DNAs (RAPDs) of *Juniperus phoenicea*, *J. p. var. canariensis*, *J. p. subsp. eumediterranea*, and *J. p. var. turbinata*. *Biochemical Systematic Ecology*, vol : 30, p : 223-229 .
- Antonin B ; (2013)**. *Traité des plantes médicinales indigènes précédé d'un cours de botanique*
- Aouadhi S ; (2010)**. Atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle étude de57plantes recommandées par les herboristes .p : 15-166.
- Bahorun T ; Gressier B ; Trotin F ; Brunet C ; DineT ; Luyckx M ; Vasseur J ; Cazin M ; Cazin J. C. et Pinkas M ; (1996)**. Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arznei Forschung*, vol :46(11),p : 1086-1089.
- Baser H. C ; Demirci K ; Iscan B ; Hashimoto G ; Demirci T ; Noma F ; Asakawa Y ; (2006)**.The essential oil constituents and antimicrobial activity of *Anthemisaciphylla* BOISS.var. *discoidea* BOISS,*Chem. Pharm. Bull*, vol : 54,p : 222-225.
- Bauer A.W ; Kirby W.M ; Sherris T.C ; Truck M ; (1966)**. Antibiotic susceptibilitytesting by a standardized single disc method, *AmericanJournal of clinicalpathology*, p : 45, 493-496.
- Benaïssa H ; (2011)**. Biosorption of copper (II) ions from syntheticaqueous solutions by dryingbedactivatedsludge. *Journal of hazardousmaterials*, vol : 194, p : 69-78.

- Benarous K ; (2009).** Effets des extraits de quelques plantes médicinales locales sur les enzymes : amylase, trypsine et lipase. Université Amar Telidji Laghouat, Mémoire de fin d'étude d'Ingénieur d'état en génie biologique.
- Bouakaz I; (2006).** Etude phytochimique de la plante *Genista Microcephala*. Mémoire de magister, Batna
- Botanica T ; (2009).** Observons la nature, des réseaux et des sciences pour préserver la biodiversité.
- Boveris A.D & Puntarulo S ; (1998).**Free-radical scavenging actions of natural antioxidants. Nutritionre search, vol :18(9), p : 1545-1557.
- Bruneton J ; (2009).** Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. 4<sup>e</sup> Ed : Lavoisier , Paris, P :1269.
- Bruneton J; (1993).** Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales, 2<sup>ème</sup> Ed. Lavoisier, Paris, P: 41-54.
- Bruneton J; (1999).** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 3<sup>ème</sup> Ed. médicales internationales and Tec & Doc Lavoisier, Paris, p: 1120 .
- Bucić-Kojić A ; Planinić M ; Tomas S ; Bilić M ; Velić D ; (2007).**Study of solid–liquid extraction kinetics of total polyphenols from grape seeds. Journal of Food Engineering, vol :81(1), p : 236-242.
- Collingborn F.M.B; Gowen S.R; Mueller-Harvey I; (2000).**Investigations into the biochemical basis for nematode resistance in roots of three *Musa* cultivars in response to *Radopholussimilis*infection.J. Agric. FoodChem, P: 48, 5297-5301.
- Cram D. G & Mahmoud G. S; (1968).** Chimieorganique.2<sup>ème</sup> edition. Quattheir-villars, p: 918-930.
- Crozier A ; Clifford M.N ; Ashihara H ; (2006).** Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet. EdtBlack well Publishing Ltd. Thèse Présentée Par Mme Belyagoubi Née Benhammou Nabila, vol : 1.
- Danin A ; (1975) .**Onopordum. In: Davis PH, ed. Flora of Turkey and the east Aegean Islands,. Edinburgh, UK: UniversityPress Vol : 5, p : 356-369.
- Deina M; Rosa A; Casu V; Cottiglia F; Bonsignore L; (2003).** Natural product: their chemistry and biological significance. Journal of the American Oil Chemistry Society, vol: 80 , p: 65-70.

**Derwich E ; Benziane Z ; Taouil R ; Senhadji O ; Touzani M ; (2010).** A Comparative Study of The Chemical Composition of The Leaves Volatil Oil of *Juniperus phoenicea* and *Juniperus oxycedrus* .*Midd-East J.Res* ,vol : 5(5), p : 416-424.

**Diankov S ; Parlapanska K ; Hinkov I ; Karsheva M ; (2013).** Cinétique d'extraction de substances actives de chardon aux ânes (*Onopordum acanthium*). Capacité antioxydant des extraits, Récents Progrès en Génie des Procédés, p : 104,2-3.

**Dizhbite T; Telysheva G; Jurkjane V; Viesturs U; (2004).** Characterization of the radical scavenging activity of lignins—natural antioxidants. *Bioresource Technology*, vol:95(3), p: 309-317.

**Djemoui D; (2012).** Contribution à l'étude de l'activité antioxydante et antibactérienne de quelques coumarines synthétisées. Mémoire Master Académique, Spécialité : Chimie Appliquée, p : 53.

**Edenharder R & Grünhage D; (2003).** Free radical scavenging abilities of flavonoids as mechanism of protection against mutagenicity induced by tert-butyl hydroperoxide or cumene hydroperoxide in *Salmonella typhimurium* TA102. *Mutat.Res.* P:540 , 1–18.

**El- Sawi S.A & Motawe H.M; (2008)** .Labdane, Pimarane And Abietane Diterpenes From The Fruits Of *Juniperus Phoenicea* L. Grown In Egypt And Their Activities Against Human liver Carcinoma, *Canadian Journal Of Pure And Applied Sciences*, vol : 2(1), p : 115-122.

**Erlund I; (2004).** Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. *Nutrition research*, vol: 24(10), p: 851-874.

**Escola A.R. & Askew R. R ; (2009).** Chalcidoidea (Hymenoptera) Reared From Fruits Of *Juniperus Phoenicea*, With Descriptions Of Three New Species. *Boletín Sociedad Entomológica Aragonesa*, vol : 45, p : 109-121.

**Feucht W; Treutter D; Christ E; (1997).** Role of flavanols in yellowing beech trees of the Black forest. *Tree Physiol.* P: 17, 335-340.

**Fleuriet A ; (1982).** Aspects histochimiques et biochimiques de la cicatrisation des fruits de Tomate blessés. *Zeitschrift für Pflanzen physiologie*, vol : 107, p : 259-268.

**Flock D ; (1983).** The rheology of heavy crude oils and their emulsions. *Journal of Canadian Petroleum Technology*, vol : 22(5), p : 38-52.

**Ford R.A; Hawkins D.R; Mayo B.C; Api A.M; (2001).**The invitrodermal absorption and metabolism of coumarin by rats and by human volunteers under simulated conditions of use in fragrances. *Food and Chemical Toxicology*, p: 39, 153-162.

**Garrett R. H ; Grisham ; Charles M ; (2000).** Les transports membranaires. In *Biochimie*. Ed DeBoeck, P : 314.

**Gazi M. R ; Kanda K ; Kato F ; (2004).** Optimisation of Various Cultural Conditions on Growth and Antioxydant Activity Generation by *Saccharomyces cerevisiae* IFO2373 .*Journal of Biological Sciences*, vol : 4(2), p : 224-28.

**Georges L ; (2009).** le botaniste cultivateur : description, culture et usages de la plus grande Sofi, p : 513..

**Ghosh D & Scheepens A ; (2009).**Vascular action of polyphenols. *Molecular Nutrition & Food Research*, p53, 322 – 331.

**Ghrabi Z ; (2001)** .La végétation de la zone littorale de Zouarâa. *APAL*, p : 25 .

**Glombitza K. W & Gerstberger G; (1985).** *Phytochemistry* (Elsevier), p:24, 543-551.

**Goodwin T. W & Editor ; (1988).**Chlorophylls. *Plant pigments*, p: 1-59.

**Gonzalez-Sierra G ; Perez-Morales C ; Penas-Merino A ; Rivas-Martinez S ; (1992).**Taxonomical revision of species of *Onopordum* genus from Spain. *Candollea*.vol : 47,p :181-213.

**Grieve B.J ; Blackall W.E ; (1975).**How to Know Western Australian Wildflowers. Nedlands, Western Australia, University of Western Australia Press, p : 523-534.

**Grigonis D ; Venskutonis P.R. ; Sivik B ; Sandahl M ; Eskilsson C.S ;(2005) .** Comparison of different extraction techniques for isolation of antioxidants from sweet grass (*Hierochloë odorata*). *The Journal of supercritical fluids*, vol : 33(3), p : 223-233.

**Guignard J.L; (1998).** Abrégé de botanique. Masson (Ed). Paris, p: 212.

**Habibatni S ; ABDESSALAM F; HANIK; Anwar S; Mansi I; Ali N. A. A; (2017).**In-vitro antioxidant, Xanthine oxidase-inhibitory and in-vivo Anti-inflammatory, analgesic, antipyretic activity of *Onopordum acanthium*. *International Journal of Phytomedicine* ,vol: 9(1),p: 92-100. :

- Hagerman, A.E; (2002).** Tannin Chemistry (www.users.muohio.edu/hagermae). Institute of Animal Nutrition, University of Hohenheim (Germany), p: 1-5.
- Hallard F ; (1988).** Phytothérapie Paris Milan Barcelone Mexico. p : 17, 54, 88, 93,107, 142,154.
- Harborne J.B ; (1980).** Plant Phenolics.Encyclopedia of Plant Physiology. New series, p : 8, 329-402.
- Havsteen B.H ; (2002).** The biochemistry and medical significance of the flavonoids .Pharmacol. Therapeut, P : 96, 67– 202.
- Havsteen B.H ; (2002).** The biochemistry and medical significance of the flavonoids.Pharmacol. Therapeut, p : 96, 67– 202.
- Hennebelle T; Sahpaz S; Bailleul F; (2004).** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. Phytothérapie, p: 1, 3-6.
- Hernandez O. L. R ; (2005).** Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combine « solvant / actif » d'origine végétale. Thèse de l'Institut National Polytechnique de Toulouse, P : 209.
- Huguette M ; (2008).** La route des épices, aromats, condiments et mélange d'épices. Ed : sang de la terre, Paris, p : 190.
- Hyde-Wyatt BH ; (1968).** Cotton thistle. Tasmania Journal of Agriculture, vol : 39,p :43-46.
- Jean-Blain C; (1998).** Aspects nutritionnels et toxicologiques des tanins, P: 149, 911 920.
- Khalilova A. Z ; Litvinov I. A ; Beskrovnyi D. V ; Gubaidullin A. T ; Shakurova E ; Nuriev R. I. R ; Khalilov L. M. ; Dzhemilev U. M ; (2004).** Isolation and crystal structure of taraxasteryl acetate from Onopordum acanthium. Chem, Nat, Comp, vol : 40, p : 254 \_257.
- Khenaka S. S ; (2011).**Effect of integral yoga on psychological and health variables and their correlations. Internationaljournalofyoga, vol : 4(2),p : 93.
- Kiselova Y ; Ivanova D ; Chervenkov T ; Gerova D ;Galunska B ; Yankova T ; (2006).** Correlationbetween the in vitro antioxidantactivity and polyphenol content ofaqueousextractsfromBulgarianherbs. Phytotherapy research, vol: 20(11), p: 961-965.
- Ksouri R; Megdiche W; Debez A; Falleh H; Grignon C; Abdely C;(2007).** Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte Cakilemaritima. Plant Physiology and Biochemistry, vol: 45, p: 244-249.

- Laib L ; (2011).** Etude de la stabilité à l'oxydation des huiles lubrifiantes algériennes .pour moteurs à essence, Doctoral dissertation, Université M'hamed Bougara de Boumerdès .
- Laraoui H; (2007).** Etude Phytochimique L'Extrait Chloroformique de Bupleurum Atlanticum. Docteur de l'université Louis pasteur, Chimie Organique, UV El HadjLakhdarBatna, p: 69-81.
- Leong L. P &Shui G; (2002).**An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. Food chemistry, vol: 76(1), p: 69-75.
- MaatooqG.T ; El-Sharkawy S .H ; Afifi M.S ; RisazzaJ.Pn ; (1998).** Flavonoid From Cupressaceae Plants. Natural ProductSciences,vol : 4(2) ,p: 9-14.
- Malecky M ; (2005).** Métabolisme des terpenoïdes chez les caprins. Thèse Pour obtenir le grade de docteur de l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Agro Paris Tech, p : 9, 13-19, 20, 27.
- Manach C; Mazur A; Scalbert A; (2005).** Polyphenols and prevention of cardiovascular diseases.Current Opinion in Lipidology, p:16 , 1–8.
- Martin S & Andriantsitohaina R; (2002).** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. Annales de cardiologie et d'angéiologie, P:51 , 304–315.
- Maurice N ; (1997).** L'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXIe siècle.Ed. Lavoisier. Paris, p : 523-534.
- Mauro N. M; (2006).** Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs : la (+)-anatoxine-a et la (±)-camptothécine. thèsedoctorat, l'université Joseph Fourier Grenoble, p: 13, 16-28.
- Mazur M ; Boratynska K ; Marcysiak K ; Gomez D ; Tomaszewski D ; Didukh J ;Boratynski A ; (2003).** Morphological variability of Juniperus phoenicea (Cupressacea) fromthree distant localities on Iberianpeninsula .Acta Asocietatis Botanicorum Poloniae, vol : 72 (1) , p : 71-78.
- Medini H ; Elaissi A ; Chraief I ; Bannour F ; Farhat F ; Ben Salah M ; Khoudja M ; Chemli R ; (2007).** Composition and variability of the essential oils of the leaves from Juniperus phoenicea L. from Tunisia, Revue des region arides, vol : 1, p: 185-189.
- Meloni M ; Perini D ; Filegheddu R ; Binelli G ; (2006).**Genetic Variation in Five Mediterranean Populations of Juniperus phoenicea as Revealed by Inter-Simple SequenceRepeat (ISSR) Markers .AnnalsofBotany, vol : .97,p : 299-304.

- Middleton E; Kandaswami C; Theoharides T. C; (2000).** The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological reviews*, vol : 2, p : 673-751.
- Midoun T; (2011).** Extraction Des Composés Phenoliques et Etude Leurs Activités Antioxydante Par La Voltamétrie Cyclique. Mémoire Présenté pour l'obtention du diplôme de Master, Spécialité chimie appliquée . Université Kasdi Merbah Ouargla, p: 53.
- Mohammedi Z ; (2006).** Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Mémoire de magister Tlemcen, p : 49-50.
- Morigane ; (2007).** Grimoire des plantes. P : 20 – 116.
- Moure A ; Cruz J. M ; Franco D ; Domínguez J. M ; Sineiro J ; Domínguez H ; Parajó, J. C ; (2001).** Natural antioxidants from residual sources. *Food chemistry*, vol : 72(2), p : 145-171.
- Mueller-Harvey I & Mc Allan A.B; (1992).** Tannins: their biochemistry and nutritional properties. *Adv. Plant Cell Biochem. Biotechnol*, P: 1, 151-217.
- Nikaido H ; (2003).** Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiology and molecular biology reviews*, vol : 67(4), p : 593-656.
- Nkhili Ez-zohra; (2009).** Polyphénols de l'Alimentation , Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. Diplôme de Doctorat, Spécialité: Sciences des Aliments, Université Cadi Ayyad, Marrakech Université D'avignon Et Des Pays De Vaucluse Ecole Doctorale 306 – SPSA, Montpellier, p: 378.
- Ochocka R.J; Rajzer D; Kowalski ; Lamparczyk H; (1995).** Determination of coumarins from *Chrysanthemum segetum* L. By capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A*, p: 709, 197-202.
- Paul Iserin ; (2001).** Larousse des plantes médicinales. Encyclopedia of Medicinal Plants Copyright p : 95 .
- Petkov V ; (1982).** Modern phytotherapy. State Publishing House "Medicina i kultura", The Journal of Supercritical Fluids, vol : 33 (3), p : 223-233.
- Prieto P ; Pineda M ; Aguilar M ; (1999).** Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical biochemistry*, vol : 269(2), p : 337-341.
- Perrot E ; Masson T ; (1943).** Matières premières du règne végétal. p : 662-666., 826.

**Quezel P ; Santa S ;(1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II, Ed. CNRS, Paris, vol : 2(1).

**Qureshi N ; Porter J. W ; (1981).** Conversion of acetyl-coenzyme A to isopentenyl pyrophosphate. *Biosynthesis of isoprenoid Compounds*, vol : 1, p : 47-94.

**Rameau J.C ; Mansion D ; Dumé G ; (2008).** Flore forestière française : Région méditerranéenne. Institut pour le développement forestier, P : 24.

**Rezzi S ; cavaleiro C ; Salgueiro L ; Bighelli A ; Casanova J ; Proença da Cunha A ; (1999).** Intraspecific Chemical Variability of The Leaf Essential Oil of *Juniperus phoenicea* subsp. *turbinata* from Corsica , *Biochemical systematics and Ecology* , vol : 29 ,p: 179- 188.

**Saule S ; Galy A ; Néron B ; Planque N ; Eychène A ; (2002).** Activated MAPK/ERK kinase (MEK-1) induces trans differentiation of pigmented epithelium into neural retina. *Developmental biology*, vol : 248(2), p : 251-264.

**Seigue A ; (1985).** La forêt circumméditerranéenne et ses problèmes. Ed : G.P Maisonneuve et Larose, P : 216.

**Su Y.C ; Ho C.L ; Wang E.I.C ; (2006).** Analysis of leaf essential oils from the indigenous five conifers of Taiwan. *Journal of Flavour Fragr*, vol : 21(3), p : 447-52.

**Taguchi G ; Fujikawa S ; Yazawa T ; Kodaira R ; Hayashida N ; Shimosaka M ; Okazaki M ; (2000).** Scopoletin uptake from culture medium and accumulation in the vacuoles after conversion to scopolin in 2,4-D-treated tobacco cells. *Plant Science*, p : 151, 153-161.

**Tutin T. G ; Heywood V. H ; Burges N. A ; Moore D. M ; Valentine D. H ; Walters S. M ; Varlet E ; (1976).** Description des espèces. In *découvrez les fruits sauvages*. Ed : Ellebore sang de la terre, Paris ,p : 254.

**Vuorela S ; Kreander K ; Karonen M ; Nieminen R ; Hamalainen M ; Gal kin A ; Laitinen L ; Salminen J.P ; Moilanen E ; Pihlaja K ; Vuorela H ; Vuorela P ; Heinonen M ; (2005).** Preclinical evaluation of raspberry and pine bark phenolics for health related effects. *Journal. Agric. Food Chem.*, New York and London, P : 5922-5931.

**Wang L & Waller C. L ; (2006).** Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology*, vol : 17(6), p : 300-312.

- Webb D. A ; (1976).** *Flora europaea, Plantaginaceae to Compositae and Rubiaceae.* Cambridge university Press, Cambridge, p : 505.
- Wichtl M & Anton R ; (1999).** *Plantes thérapeutiques. Technique et Documentation,* Paris.
- Wong C.C; Li H.B ; Cheng K.W; Chen F ;(2006).** *.A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay*12 . Ed Academic Press, New York, P : 120-130.
- Yao L.H; Jiang Y.M; SHI J; Tomas-Barberan F.A; Datta N; Singanusong R; Chen S.S; (2004).** *Flavonoids in Food and their health benefits.* *Plant, Food Hum. Nutr,* p: 59, 113-122.
- Yezza -Bouchama ; (2014).** *Index des métabolites secondaires végétaux. Projet de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de licence, spécialité Biochimie fondamentale et appliquée,* P : 3.
- Yusuf Y ; (2006).** *Implementation of enterpriseresource planning in China.* *Technovation,* vol : 26, p : 17,64-71.

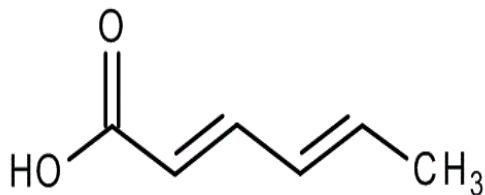
# ***ANNEXES***

## Annexe1 :

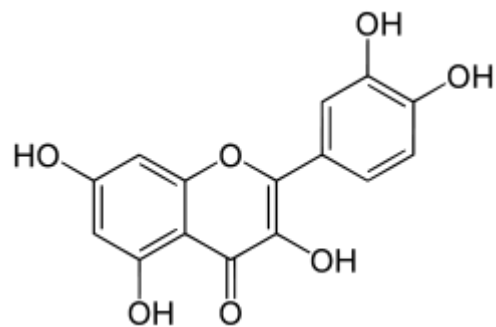
### Réactif de MAYER :

Chlorure de mercure.....1,36 g  
Iodure de potassium.....5 g  
Eau distillée.....qsp 100 ml

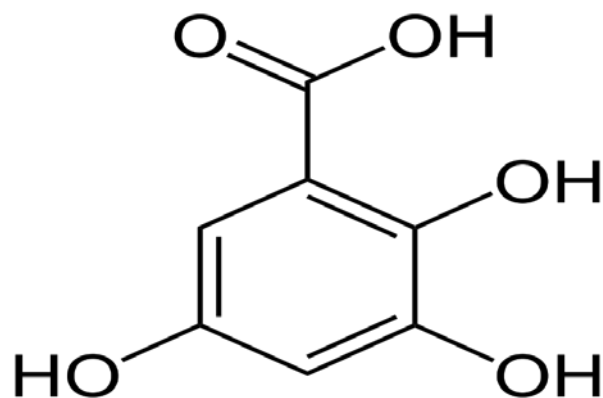
### Annexe 2 : structures chimiques :



Structure chimique de l'acide ascorbique



Structure chimique de Quercétine



Structure chimique de l'acide gallique

### Annexe 3 : Appareillage



**Spectrophotomètre**



**Vortex**



**Bec benzène et boîtes de pétris**



**Balance analytique**



**L'étuve**



**Rotavapor**