

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Mohammed Seddik Ben Yahia – Jijel



Faculté des Sciences Exactes et Informatique

Département de Chimie

Mémoire de fin d'études

Présenté pour l'obtention du diplôme de master

Option

Chimie Pharmaceutique

Thème

L'étude phytochimique et l'évaluation de l'activité biologique des extraits d'une plante médicinale

Présenté par :

 **Tebbal Bahdja**

 **Chaker Samer**

Soutenu devant le jury :

Président : Messaadia Lyamine M.C.A Université de Jijel

Encadreur : Tabti Naouel M.A.A Université de Jijel

Examinatrice : Boutabet Kheira M.A.A Université de Jijel

Année Universitaire : 2021/2022



Remerciements

Nous remercions, avant tout ALLAH tout puissant et miséricordieux qui nous a guidé toutes les années d'étude et qui nous a donné la volonté, la patience et le courage pour réaliser ce travail à terme.

Nous tiens à remercier vivement

Mme. Tabti Naouel (M.A.A) Nous avons apprécié de vos qualités exceptionnelles de bonne enseignante dont votre simplicité et votre amour du travail ont fait de vous une enseignante admirable dont l'exemple à suivre.

Recevez ici, chère Mme notre sentiments de gratitude pour votre disponibilité, pour nous avoir encadrée, votre aide, votre orientations, vos conseils, vos corrections sérieuses, votre patience au long de la réalisation de ce travail.

On tient à exprimer nos remerciements et nos gratitude aux membres du jury, "Messaadia. L (M.C.A)" et "Boutabet. KH" (M.A.A) pour avoir bien accepté d'examiner notre travail.

Nos remerciements à Tous nos enseignants du département de chimie, sans oublier les personnels de laboratoire pour leurs soutiens pendant tout notre parcours universitaire.

En dernier lieu, un grand merci à tous ceux qui nous aidés de près ou loin à élaborer cette étude.

Merci à tous





Dédicace

Tout d'abord louange à Allah qui m'a guidé sur le droit chemin tout au long de mes études et m'a inspiré les bons pas.

Du profond de mon cœur, je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers,

A mes chers parents,

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices. Puisse dieu, le très haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie.

A mon cher frère Mohammed,

A ma chère grande mère, que dieu nous la garde

A mes très chères tantes,

Merci énormément pour vos encouragements et vos soutiens plus que précieux.

Enfin, je remercie mon binôme, Samer qui a contribué à la Réalisation de ce modeste travail.

graduation

2022

Bahdja





Dédicace

A l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie,

J'ai Pu réaliser ce travail que je dédie

*A ma très chère mère, honorable, aimable : tu présentes pour moi le
symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et
L'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de
prier Pour moi. Je te dédie ce travail en témoignages de mon
profond amour.*

*A mon très cher père Aucune dédicace ne saurait exprimer
L'amour, l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Ce
travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon
éducation et ma formation.*

A mes très chers frères chouaib, Ibrahim

A ma très chère sœur Bouchra

A mes meilleurs amis : Hanane, Sara, roumaissa.

A mes enseignants et professeurs de primaire à l'Université.

*Enfin, je remercie mon binôme bahdja qui a contribué à la
réalisation de ce modeste travail.*

A tous les étudiants de chimie pharmaceutique

Promotion 2021 -2022

graduation

2022

Samer



Sommaire

Introduction générale.....	1
Première partie : Étude bibliographique	
Chapitre I : Étude botanique de la plante	
I-Etude botanique de la plante.....	3
I-1-La phytothérapie.....	3
I-2-Monographie de la plante étudiées.....	3
I -2-1-La famille des caprifoliacées.....	3
I-2-2- Caractéristique des plantes de la famille Caprifoliaceae.....	4
I-2-3- Le genre <i>Lonicera</i>	4
I-2-3-1- Description botanique.....	4
I-2-3-2- Répartition de la plante <i>Lonicera</i>	5
I-2-3-3- Classification botanique de la plante.....	5
I-2-3-4- Utilisation en médecine traditionnelle.....	6
I-2-3-5- Principaux constituants de la plante <i>lonicera</i>	6
Chapitre II: Étude chimique des métabolites Secondaires	
II- Etude chimique des métabolites secondaires.....	7
II -1- Généralités.....	7
II-2- Les composés phénoliques.....	7
II-2-1- Définition.....	7
II-2-2- Origine.....	7
II-2-3- Classification.....	8
II-2-3-2- Les flavonoïdes.....	11
II-2-3-2-2- Classification.....	11
II-2-4- Polyphénols dans les plantes : Localisation et intérêt.....	15
II-2-5- Effets biologiques et intérêts pharmacologiques des polyphénols.....	15
II-3- Les alcaloïdes.....	16
II-3-1- Définition.....	16
II-3-2- Structure et classification.....	16
II-3-3- Activités biologiques et intérêts pharmacologiques des alcaloïdes.....	17
II-4- Huiles essentielles.....	18
II-4-1- Définition.....	18
II-4-2- Localisation dans les plantes.....	18

II-4-3- caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles	18
II-4-4- Activités biologiques des huiles essentielles	19
II-4-5- composition chimiques des huiles essentielles.....	19
II-4-5-1- Les composés terpéniques.....	19
II-4-5-1-1- Les monoterpènes.....	19
II-4-5-1-2- Les sesquiterpènes.....	20
II-4-5-2- Les composés aromatiques	20
II-4-6- Domaines d'utilisation des huiles essentielles	21
II-4-6-1- Phytothérapie.....	21
II-4-6-2- Parfumerie et cosmétologie	21
II-4-6-3- Industrie alimentaire.....	21
II-4-7- Techniques d'extraction des huiles essentielles à partir de plantes	21
II-4-7-1- Techniques d'extractions classiques	21
II-4-7-2- Techniques d'extractions modernes.....	21
II-4-7-2-1- Extraction par fluide supercritique (EFS).....	21
II-4-7-2-2- Extraction par fluide pressurisé (EFP)	22

Chapitre III : Activité biologique

III- Activité biologique.....	23
III-1- Activité antioxydante	23
III-1-1- Les radicaux libres	23
III-1-1-1- Espèces réactives à l'oxygène.....	23
III-1-1-2- Espèces réactives à l'azote	24
III-1-2- Le stress oxydatif	24
III-1-3- Les antioxydants.....	25
III-1-4- Classification des antioxydants	25
III-1-4-1- Les antioxydants endogènes (enzymatiques)	25
III-1-4-2- Les antioxydants exogènes (non enzymatiques).....	26
III-1-4-3- Antioxydants naturels	26
III-1-4-4- Les antioxydants synthétiques	27
III-1-5- Les maladies lies aux stress oxydatifs	27
III-2- Activité antibactérienne	27
III-2-1- Les infections microbiennes	27
III-2-2- Rappel sur les bactéries	27
III-2-3- Caractéristiques des souches bactériennes utilisées.....	28
III-2-3-1- <i>Escherichia coli</i>	28

III-2-3-2- <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	28
III-2-3-3- <i>Staphylococcus aureus</i>	29
III-2-3-4- <i>Klebsiella pneumoniae</i>	30
III-2-4- Les antibiotiques	30
III-2-5- Activité antimicrobienne des composés phénoliques	31
III-2-6- Antibiogrammes.....	31
III- 3- Activité anti-inflammatoire	31
III-3-1- Définition	31
III-3-2- Les causes de l'inflammation	32
III-3-3- Mécanismes de l'inflammation	32
III-3-4- Les anti-inflammatoires.....	32
III-3-4-1- Anti-inflammatoires non stéroïdiens	33
III-3-4-2- Anti-inflammatoires stéroïdiens	34
III-3-4-3- Anti-inflammatoires d'origine végétale.....	35

Deuxième partie : Étude expérimentale.

Chapitre IV : Matériels et méthodes.

IV- Matériels et méthodes.....	36
IV-1- Etude chimique de la plante	36
IV-1-1- Matériel végétal	36
IV-1-2- Extraction des polyphénols.....	36
IV-1-2-1-Extraction par macération	37
IV-1-2-2- Extraction par soxhlet.....	39
IV-1-3- Extraction des huiles essentielles.....	40
IV-1-4- Screening phytochimiques des métabolites secondaires	41
IV-1-5- Analyse quantitative des extraits.....	43
IV-1-5-1- Dosage des flavonoïdes totaux	43
IV-1-5-2- Dosage des polyphénols totaux	44
IV-1-6- Analyse qualitative par CCM	44
IV-2- Evaluation de l'activité biologique.....	46
IV-2-1- Evaluation de l'activité antioxydante	46
IV-2-1-1- Test de piégeage du radical DPPH'	46
IV-2-1-2- Test de piégeage par le cation radicalaire ABTS ⁺	47
IV-2-1-3- Test du pouvoir réducteur FRAP.....	48
IV-2-1-4- Test de l'activité antioxydant totale (CAT).....	49
IV-2-2- Evaluation de l'activité antibactérienne	50

IV-2-3- Evaluation de l'activité anti-inflammatoire	52
Chapitre V : Résultats et discussions	
V- Résultats et discussion	54
V-1- Rendement	54
V -1-1- Rendement des extraits brut	54
V -1-2- Rendement des phases	55
V-1-3- Rendement de l'huile essentielle	56
V-2- Résultats de screening phytochimique	56
V-3- Etude chimique des extraits	58
V-3-1- Analyse quantitatives des extraits	58
V-3-1-1- Dosage des Flavonoïdes totaux	59
V-3-1-2- Dosage des polyphénols totaux	60
V-3-2- Analyse qualitative des extraits par CCM	61
V-4- Résultats de l'activité biologique	64
V-4-1- Activité antioxydante	64
V-4-1-1- Test de piégeage du radical DPPH	64
V-4-1-2- Test de piégeage de cation radicalaire ABTS ⁺	67
V-4-1-3-Test du pouvoir réducteur : FRAP	69
V-4-1-4- Test de la capacité Antioxydante totale (CAT) :	71
V-4-2- Activité antibactérienne	73
V-4-3- Activité anti-inflammatoire	77
Conclusion	80
Références bibliographiques	

Liste des tableaux

Tableau 01 : Activités biologiques de quelques composés phénoliques	16
Tableau 02 : Classification chimique des alcaloïdes d'après la nature de leur noyau Fondamental.....	17
Tableau 03 : Classification des médicaments non stéroïdien	33
Tableau 04 : Classification des médicaments stéroïdien	34
Tableau 05 : Exemples de plantes médicinales douées d'activités anti-inflammatoires	35
Tableau 06 : Système utilisés pour CCM.	45
Tableau 07 : Les souches bactériennes utilisées	50
Tableau 08 : Rendement, aspect et couleur des extraits brut par deux méthodes.....	54
Tableau 09 : Rendement, aspect et couleur des extraits de la plante étudiée.	55
Tableau 10 : Rendements, aspects, odeur et couleurs de l'huile essentielle.	56
Tableau 11 : Résultats de screening phytochimique	57
Tableau 12 : Résultats de plaque CCM des extraits avec le premier système et le deuxième système après la révélation.	63
Tableau 13 : Le pouvoir antioxydant des extraits avec la référence vis-à-vis au radical DPPH.	66
Tableau 14 : Le pouvoir antioxydant des extraits avec la référence vis-à-vis au radical ABTS.	69
Tableau 15 : Résultats de la teneur en polyphénol et flavonoïde des extraits exprimés en équivalent gramme de l'acide ascorbique par gramme d'extrait.	73
Tableau 16 : Résultats du test antibactérien des quatre extraits et huile essentielle.	74
Tableau 17 : Résultats de test anti-inflammatoire des extraits.....	78

Liste des figures

Figure 1 : Dessin explicatif des caractéristiques des fleurs et fruits de la famille des Caprifoliaceae ..	4
Figure 2 : Fleure et Feuille de la plante <i>Lonicera</i>	5
Figure 3 : Structures chimiques des acides hydroxybenzoïques.	8
Figure 4 : Structures chimiques des acides hydroxycinnamique.....	9
Figure 5 : Structures chimiques des formes trans- et cis-stilbènes.....	9
Figure 6 : Structures chimiques de quelques coumarines	10
Figure 7 : Structure et numérotation des atomes de carbone du phénylpropane(1) et des lignanes (2)	10
Figure 9 : Structure chimique d'un flavone.	11
Figure 10 : Structure chimique d'un flavonol.	12
Figure 11 : Structure chimique d'un flavan-3-ol.....	12
Figure 12 : Structure chimique d'un isoflavone.....	12
Figure 13 : Structure chimique d'un flavonone.	13
Figure 14 : Structure chimique d'un anthocyanidine.	13
Figure 15 : Structure chimique d'un chalcone et d'un aurone.	14
Figures 16 : Structures chimiques des tanins	14
Figure17 : Exemple de quelques structures des monoterpènes.	20
Figure 18 : Exemples de quelques structures des sesquiterpènes.....	20
Figure 19 : Exemple de quelques structures des composés aromatiques.	20
Figure 20 : Origine des différents radicaux oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie.....	24
Figure 21 : Schéma de stress oxydatif déséquilibré.	25
Figure 22 : Observation microscopique d' <i>Escherichia coli</i>	28
Figure 23 : Observation microscopique de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	29
Figure 24 : Observation microscopique de <i>Staphylococcus aureus</i>	30
Figure 25 : Observation microscopique de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	30
Figure 26 : Localisation de la commune de Texenna dans le cadre géographique d'Algérie et de la wilaya de Jijel.....	36
Figure 29 : Montage d'hydrodistillation.	41
Figure 30 : Piégeage du radical DPPH avec l'antioxydant(AH).	46
Figure 31 : Formation du radical cation ABTS ⁺ à partir de l'ABTS.	47
Figure 32 : Schéma de la réaction de FRAP.	48
Figure 33 : Protocole de stabilisation membranaire HRBC	53
Figure 34 : Rendement des extraits bruts.....	54
Figure 35 : Rendement des extraits.....	55
Figure 36 : Courbe d'étalonnage de la Quercétine.....	59

Figure 37 : Teneurs en flavonoïdes totaux en milligramme équivalent de la quercétine par gramme d'extrait	59
Figure 38 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	60
Figure 39 : Teneur en polyphénols totaux dans les 5 phases de l'extrait.	60
Figure 40 : Plaque CCM de l'extrait chloroformique avec le système 1 sous la lampe UV à une longueur d'onde 254 nm avant et après révélation par la solution $AlCl_3$	62
Figure 41 : Plaque CCM des extraits acétate d'éthyle et n-butanol avec le système 2 sous la lampe UV à longueur d'onde 254 nm avant et après révélation par la solution $AlCl_3$	62
Figure 42 : Les courbes représentent les pourcentages d'inhibition du radical DPPH de la référence et des extraits testés.	64
Figure 43 : Histogrammes représentent les pourcentages d'inhibition du radical DPPH· Par la référence et les extraits testés pour une concentration 1mg/ml.	65
Figure 44 : Histogrammes représentent les IC_{50} des extraits et de la référence testés pour la concentration 1mg/ml.	65
Figure 45 : Les courbes représentent les pourcentages d'inhibition du radical $ABTS^+$ de la.....	67
Référence et des extraits testés.	67
Figure 46 : Les histogrammes représentent les pourcentages d'inhibition d' $ABTS^+$ de la référence et les extraits testés pour une concentration 1mg/ml.	68
Figure 47 : Histogrammes représentent les valeurs d' IC_{50} de la référence et les extraits testés pour une concentration 1mg/ml.	68
Figure 48 : Les courbes représentent l'activité antioxydante des extraits et de l'acide Ascorbique par la méthode de FRAP.	70
Figure 49 : Les histogrammes représentent l'activité antioxydante des extraits et l'acide ascorbique par la méthode de FRAP.....	70
Figure 50 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique.	72
Figure 51 : Les histogrammes représentent l'activité antioxydante des extraits et l'acide ascorbique par la méthode de CAT.....	72
Figure 52: Photos montrant la sensibilité des bactéries avec les quatre extraits et l'huile Essentielle.	75
Figure 53 : Les histogrammes représentent l'activité anti-inflammatoire des extraits et le diclofénac.	78

Liste des abréviations

A : Absorbance.

ABTS: 2, 2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid).

AC : Absorbance du contrôle.

AcOEt : Acétate d'éthyle.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

AINS : Anti-inflammatoires non stéroïdiens.

AIS : Anti-inflammatoires stéroïdiens.

APG : Angiosperm Phylogeny Group.

AT : Absorbance du test effectué.

BHA : Butylhydroxyanisole.

BHT : Butylhydroxytoluène.

CCM : Chromatographie sur couche mince.

CHCl₃ : Chloroforme.

COX : Cyclooxygénase.

D : Diamètre des zones d'inhibition.

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl.

E. Coli : *Escherichia coli*.

EAG/mg EXS : Equivalents de l'acide gallique par milligramme d'extraits sec.

EC50 : Efficient concentration 50.

EFP : Extraction par fluide pressurisé.

EFS : Extraction par fluide supercritique.

EFS : Extraction par fluide supercritique.

EQ/mg EXS : Equivalents de la quercétine par milligramme d'extraits sec.

ERA : Espèces réactives de l'oxygène ou de l'azote.

ERO : Espèces radicalaires (ou réactives) de l'oxygène.

EXS : Extraits sec.

FRAP : Pouvoir antioxydant réducteur du fer.

G : Gramme.

GR : Globules rouges.

H : Heures.

HE: Huile essentielle.

HRBC: Human Red Blood Cell.
I% : Pourcentage d'inhibition.
IC₅₀ : Concentration inhibitrice de 50%.
MS : Masse sèche.
Mext : Masse d'extrait.
mg/ml : Milligramme par millilitre.
min : Minutes.
ml : Millilitre.
mm : Millimètre.
mM : Millimolaire.
nm : Nanomètre
OMS : Organisation Mondiale de la Santé.
PH : Potentiel hydrogène.
R (%) : Rendement.
R² : Coefficient de détermination.
R_f : Rapport frontal.
ROS : Espèces réactives oxygénées.
S. aureus : *Staphylococcus aureus*
TAC : Capacité antioxydant total.
TNF α : Tumor Necrosis Factor alpha.
tr/min : Tour par minutes
UV : Ultraviolet.
V/V : Volume sur volume.

Introduction générale

Introduction générale

Les plantes ont constitué le premier et principal outil thérapeutique à la disposition de l'homme, et ce, pendant de nombreux siècles. Dans de nombreuses civilisations et sur tous les continents, les pharmacopées végétales se sont développées et enrichies grâce aux pratiques empiriques. Avec un don d'observation inégalé, les anciens ont pu mettre en évidence des propriétés des plantes médicinales qui n'ont jamais été démenties par l'usage (Carillon, 2009). Celles-ci demeurent encore une source de soins médicaux dans les pays en voie de développement, en l'absence d'un système médical moderne (Tabuti et al., 2011). L'utilisation de la médecine traditionnelle ne se limite pas aux seuls pays en développement, même dans les pays industrialisés l'application de thérapies alternatives a considérablement augmenté durant ces dernières décennies (Richard et al., 2009 ; Iris et al., 2011).

Selon L'OMS (Organisation Mondiale de la Santé). Près de 6377 espèces de plantes sont utilisées en Afrique, dont plus de 400 sont des plantes médicinales qui constituent 90% de la médecine traditionnelle. En 2004, près de 75% de la population africaine a eu recours aux plantes pour se soigner et n'a pas accès aux médicaments dits modernes, par ailleurs l'industrie pharmaceutique elle-même s'appuie encore largement sur la diversité des métabolites secondaires végétaux pour trouver de nouvelles molécules aux propriétés biologiques inédites (Hostettman et al., 1998).

Par la richesse et la diversité originelle de sa flore, l'Algérie constitue un véritable réservoir des plantes médicinales avec environ 3150 espèces de plantes vasculaires avec un taux, d'endémisme à 10% environ du nombre total des espèces (Greuter et al., 1991). Cependant, ce potentiel floristique reste très peu exploré d'un point de vue phytochimique et biologique. D'autre part, les plantes médicinales constituent un potentiel prometteur dans les domaines scientifique et économique du pays.

Dans le cadre de la valorisation de la flore algérienne on s'est intéressé à la famille des caprifoliacées, notre choix pour cette famille est justifié par le fait qu'elle est riche en huile essentielle et composés phénoliques notamment les flavonoïdes connus pour leur activités biologiques diverses.

Notre travail est divisé en deux parties, dont la première partie est Basé principalement sur l'étude bibliographique, cette partie comprend trois chapitre ; le premier est une étude botanique du genre *Lonicera* ; le second est un rappel sur les principaux métabolites secondaires, et enfin un chapitre sur les activités biologiques.

La deuxième partie, est consacrée à l'étude phytochimique des différents extraits de la partie aérienne de la plante *Lonicera* et l'évaluation de l'activité antioxydante et l'activité antibactérienne, enfin l'activité anti-inflammatoire des extraits afin de déterminer leur efficacités biologiques.

Enfin, notre travail est achevé par une conclusion générale dans laquelle sont récapitulés les principaux résultats obtenus de cette étude, et des perspectives de recherche pour la suite afin d'approfondir dans cette étude.

Première partie :
Étude bibliographique.

Chapitre I :

Étude botanique de la plante.

I-Etude botanique de la plante

I-1-La phytothérapie

Pourquoi se soigner par les plantes ? Intuitivement nous sommes tous capables de répondre à cette question. parce que ce soigner par les plantes, c'est se soigner de manière naturelle, en respectant son corps et surtout son cerveau ; parce que cela est plus doux et plus profond à la fois.

La phytothérapie, du grec *phyto* et *therapeia*, est l'art de se soigner par les plantes ; mais pas n'importe quelles plantes, les plantes médicinales. Ce sont toutes les plantes qui contiennent une ou des substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs dans la synthèse de drogues utiles. Une telle définition devrait inclure, d'après (sofowora., 2010), les cas suivants :

- Plantes ou parties de plantes à usage médicinal dans des préparations galéniques (décoctions, infusions, etc.), comme l'écorce de bourdaine.
- Plantes utilisées pour l'extraction des substances pures soit pour usage médicinal direct ou pour l'hémi-synthèse de composés médicinaux (par exemple hémi-synthèse d'hormones sexuelles à partir de la diosgénine obtenue de tubercules de dioscorea).
- Aliments, épices et plantes de parfumerie à usage médicinal, comme le gingembre.
- Plantes à fibres (comme le coton, le lin, le jute) utilisées pour la préparation de pansements chirurgicaux.

I-2-Monographie de la plante étudiées

I -2-1-La famille des caprifoliacées

Cette famille largement distribuée se compose des herbes, annuelles, bisannuelles, vivaces ou des arbustes, parfois lianescents (Dupont et Guignard., 2012). Son nom provenant du latin *caprifolium*, qui signifie « feuille de chèvre/ de bouc », car les tiges volubiles de certains chèvre feuille rappellent la forme des cornes de bouc.

Dans la classification APGIV (angiosperm phylogeny group) (2016), les caprifoliaceae comprennent toutes les espèces des Dipsacaceae et caprifoliaceae de la classification traditionnelle, à l'exception des genres *sambucus* et *viburnum*.

Environ 900 espèces dans le monde, réparties dans 36 genres, dont les principaux sont : *Lonicera* (150 esp.) et *Scabiosa* (80 esp.). Elle fait partie de l'ordre des *Dipsacales* qui comprend des espèces dont les fleurs ont un périanthe différencié en calice et en corolle, celle-ci à pétales soudés entre eux (Dupont et Guignard., 2012).

I-2-2- Caractéristique des plantes de la famille Caprifoliaceae

Les caractéristiques générales permettant de reconnaître une plante appartenant à cette famille :

- Les plantes de la famille des caprifoliaceae concernent des arbustes et des petits arbres, quelques lianes et herbacées surtout présente dans l'hémisphère boréal, son feuillage est démuné de stipules ou de tailles si réduites qu'ils sont à peine visibles.
- Des feuilles opposées et pennées arborant des bords lobés ou dentés et souvent parsemées de poils glanduleux, son inflorescence est regroupée en cyme.
- Des fleurs de teinte allant du blanc, jaune à rouge, elles sont hermaphrodites actinomorphe ou zygomorphe avec un calice à cinq dents, son fruit est une baie charnue renfermant des graines.
- Calice souvent petit et composé de 5 sépales, dont la base est soudée en tube, lui-même soudé à l'ovaire.
- 5 étamines soudées au tube de la corolle ;
- Ovaire infère, à 2-5 loges, surmonté d'un style terminé par 2-5 stigmates ;
- Fruit : baie ou drupe (**Dupont et Guignard., 2012**).

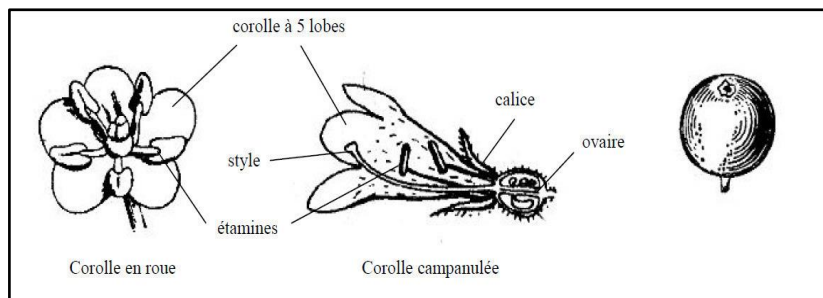


Figure 1 : Dessin explicatif des caractéristiques des fleurs et fruits de la famille des Caprifoliaceae (**Dupont et Guignard., 2012**).

I-2-3- Le genre *Lonicera*

I-2-3-1- Description botanique

Le nom de genre *Lonicera* vient d'Adam Lonitzer, médecin et botaniste allemand du xv^e siècle. *Arborea*, du latin *arbor*, signifiant *arbre*, indique le caractère arborescent de cette espèce. *Etrusca* fait référence à l'Étrurie, ancienne région du centre de l'Italie.

L'espèce *Lonicera etrusca* est un Sous-arbrisseau de 1 à 3 mètres, volubile, à rameaux glabres ou pubescents

- Feuilles caduques, un peu coriaces, obovales, obtuses, sans bordure transparente, glabres ou pubescentes, les moyennes sessiles, les supérieures connées

- Les fleurs, très parfumées, ont une couleur de blanc à jaune pâle, souvent teintées de rose foncé à l'extérieur, sessiles, verticillées en têtes terminales longuement pédonculées
- Calice à dents subaiguës
- Corolle glabre à tube plus long que le limbe
- Style glabre
- Baies ovoïdes, rouges. (Julve., 2021)

I-2-3-2- Répartition de la plante *Lonicera*

La répartition du Chèvrefeuille arborescent est réduite en Europe méridionale ; Asie occidentale ; Afrique septentrionale. (Nord-ouest de l'Afrique).

La plupart des espèces de chèvrefeuilles est la lisière des forêts et, par extension, les haies, bords de chemins creux.

En Algérie, on le trouve rarement, dans les forêts et les pâturages des hautes montagnes.

Le Chèvrefeuille d'Étrurie est une espèce exclusivement méditerranéenne, En Algérie, elle est assez rare dans le Tell et pousse dans les forêts claires, les broussailles et les haies (Marouf ., 2011).



Figure 2 : Fleure et Feuille de la plante *Lonicera*.

I-2-3-3- Classification botanique de la plante

Selon (quezet et santa., 1962). La plante suit la classification suivante :

- + Règne : plantae
- + Sous-règne : viridaplantae
- + Classe : equisetopsida
- + Sous-classe : magnoliidae

- ✚ Ordre : dipsacales
- ✚ Famille : caprifoliaceae
- ✚ Genre : Lonicera
- ✚ Espèce : *Lonicera etrusca*

En Français : Chèvrefeuille ; En arabe : Soltane el ghaba, Chahnet el atrous (Marouf., 2011).

I-2-3-4- Utilisation en médecine traditionnelle

Les fleurs et les feuilles du Chèvrefeuille d'Étrurie, utilisées pour prévenir les infections, augmentent la sécrétion urinaire en agissant sur les reins et favorisent la transpiration (comme celles du *Lonicera implexa* Aiton). Les fruits du *Lonicera implexa* sont toxiques, tandis que ses fleurs sont utilisées pour activer la circulation sanguine et stimuler les fonctions digestives. (Marouf., 2011).

I-2-3-5- Principaux constituants de la plante *lonicera*

L'étude phytochimique des espèces de *Lonicera* a résulté l'isolement des iridoïdes, saponines, et les terpènes, flavonoïdes, coumarines, l'acide phénolique, anthocyanes et glycosides alcaloïdes (Matsuda and Kikuchi et al., 1995, Katano et al., 2001, Kumar et al., 2005, Li-Mei et al., 2008, Zhilong et al., 2008).

Une précédente étude phytochimique de *Lonicera etrusca* a abouti dans l'isolement des glucosides secoiridoïdes lonicéroside, morroniside, sweroside, acide sécologanique, sécoxyloganine, et sécologanoside en plus de la loganine et de l'acide loganique sous forme de glucosides iridoïdes (Basaran et al., 1988).

Selon (Saleh et al., 2009), l'étude phytochimique des parties aériennes de *Lonicera etrusca* a permis d'isoler trois iridoïdes dont deux aglycones, la loganine aglycone (log-1) et la lonicérine (log-2) et le commun connu glycoside loganine. L'étude a également fourni un dérivé de la coumarine, la 7-hydroxycoumarine (3), et un flavonoïde glycoside, lutéoline 7-O- β -D-glycoside.

Chapitre II :
Étude chimique des
métabolites secondaires.

II- Etude chimique des métabolites secondaires

II -1- Généralités

Tous les êtres vivants ont un métabolisme primaire qui fournit les molécules de base (acides nucléiques, lipides, protéines, acides aminés et glucides) (**Ferrari., 2002**). Les plantes produisent, en plus, un grand nombre de composés qui ne sont pas issus directement lors de la photosynthèse, mais résultent des réactions chimiques ultérieures. Ces composés sont appelés : métabolites secondaires. Ils constituent un groupe de produits naturels qui sont explorés pour des propriétés très diverses : antioxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires, anticancéreuses etc.... (**Epifano et al., 2007**).

Les produits du métabolisme secondaire sont en très grand nombre, plus de 200.000 structures définies et sont d'une variété structurale extraordinaire mais sont produits en faible quantité (**Hartman., 2007**). Ils sont classés en plusieurs composants chimiques dont les plus répandus sont : les polyphénols, les alcaloïdes, les terpènes (**Cuendet., 1999 ; Vermerris., 2006**).

II-2- Les composés phénoliques

II-2-1- Définition

Les polyphénols constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal. On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits, ce qui signifie qu'ils n'exercent pas de fonctions directes au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal. Les polyphénols sont des groupes de molécules de structures variées, l'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié des groupements hydroxyles, ces molécules représentent une famille de plus de 8000 composés, parmi les composés phénoliques les plus séparés et identifiés dans les plantes, on trouve les flavonoïdes et les tanins (**Abadio et al., 2012**).

II-2-2- Origine

Les polyphénols sont des alcools aromatiques qui proviennent des végétaux. Ils sont présents partout dans les racines, les tiges, les fleurs, les feuilles de tous les végétaux. Les phénols simples, déchets du métabolisme végétal, sont assemblés en polyphénols comme la lignine (**Bruneton., 1987 ; 1999**).

II-2-3- Classification

On peut distinguer les catégories suivantes : les non flavonoïdes (qui regroupent les acides phénoliques, les stilbènes, les lignines, les lignanes, les coumarines...) et les flavonoïdes (qui regroupent : les flavones, les flavonols, les flavanols, les isoflavones...) sans oublier les tannins qui sont des polyphénols complexes.

II-2-3-1- Les non flavonoïdes

On peut citer les familles de composés les plus importants :

II-2-3-1-1- Les acides phénoliques

Ce sont les formes phénoliques les plus simples et ils incluent deux majors sous-groupes : les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques. Les acides phénoliques sont présents généralement sous forme libre ou liés (Andjelkovic et al., 2006).

- ✚ Les acides hydroxybenzoïques dérivent par hydroxylation de l'acide benzoïque avec une structure de base de type C6-C1. Les OH de ces hydroxyde phénoliques peuvent être méthylés (Škerget et al., 2005).

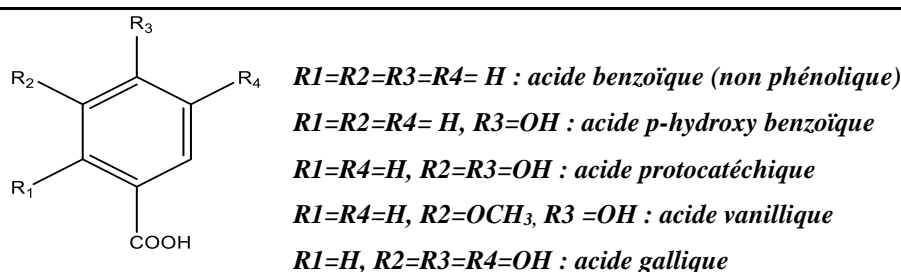
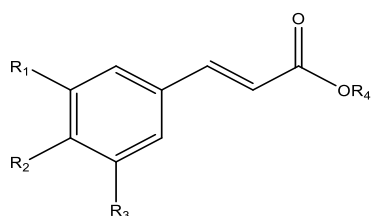


Figure 3 : structures chimiques des acides hydroxybenzoïques.

- ✚ Les dérivés de l'acide cinnamique (acides hydroxycinnamiques) ont une structure de base de type C6-C3. Ils appartiennent à la grande famille des phénylpropanoïdes. Les acides hydroxycinnamiques sont les plus abondants des composés phénoliques simples. Ces acides sont rarement trouvés dans la forme libre, sauf dans les aliments transformés qui ont subi une congélation, stérilisation, ou une fermentation. Les formes liées sont les dérivés glycosylés ou esters de l'acide quinique, acide shikimique, et acide tartrique (Mattila and Hallström., 2007 ; Chira et al., 2008).



$R1=R2=R3=R4=H$: acide cinnamique (non phénolique)

$R1=R3=R4=H, R2=OH$: acide p-coumarique

$R1=R2=OH, R3=R4=H$: acide caféique

$R1=OCH_3, R2=OH, R3=R4=H$: acide férulique

$R1=R3=OCH_3, R2=OH, R4=H$: acide sinapique

$R1=R2=OH, R3=H, R4=H$: acide chlorogénique

Figure 4 : structures chimiques des acides hydroxycinnamique.

II-2-3-1-2- Les stilbènes

Les stilbènes sont des composés phénoliques issus du métabolisme secondaire végétal, et qui dérivent de la voie des phénylpropanoïdes. Les stilbènes (1,2-diphényléthylène) sont composés de deux noyaux phényles reliés entre eux par un double pont éthène pouvant exister sous deux formes : la forme trans (E) et la forme cis (Z), cette dernière étant obtenue par photo isomérisation ou par l'action de la chaleur. La forme trans-stilbène étant la forme la plus stable et bioactive (Mérillon et al., 1997), elle est retrouvée en général plus abondamment dans les différentes espèces végétales productrices de stilbènes (Hart., 1981).

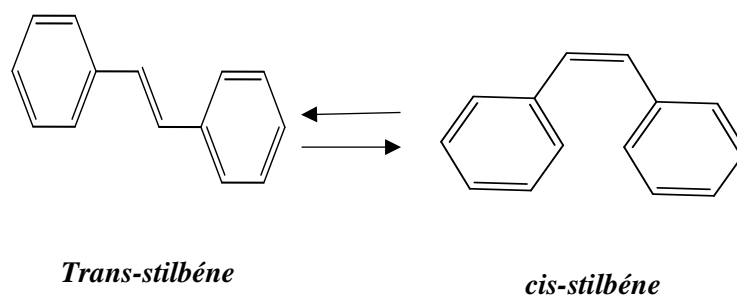


Figure 5 : structures chimiques des formes trans- et cis-stilbènes.

II-2-3-1-3- Les coumarines

Présentes dans de nombreux végétaux, les coumarines sont des 2H-1-benzopyran-2-ones que l'on peut considérer, en première approximation, comme étant les lactones des acides 2-hydroxy-Z-cinnamiques (bruneton., 2009). Elles sont produites en grande quantité en réponse à une attaque biotique ou abiotique et semblent constituer un moyen de défense de type phytoalexine (Vivas de Gaulejac., 2001). La figure 8 présente la structure de quelques coumarines (ex : aesculine, scopoline, ...). Ces composés sont connus pour leurs propriétés anticoagulantes (Vivas de Gaulejac., 2001).

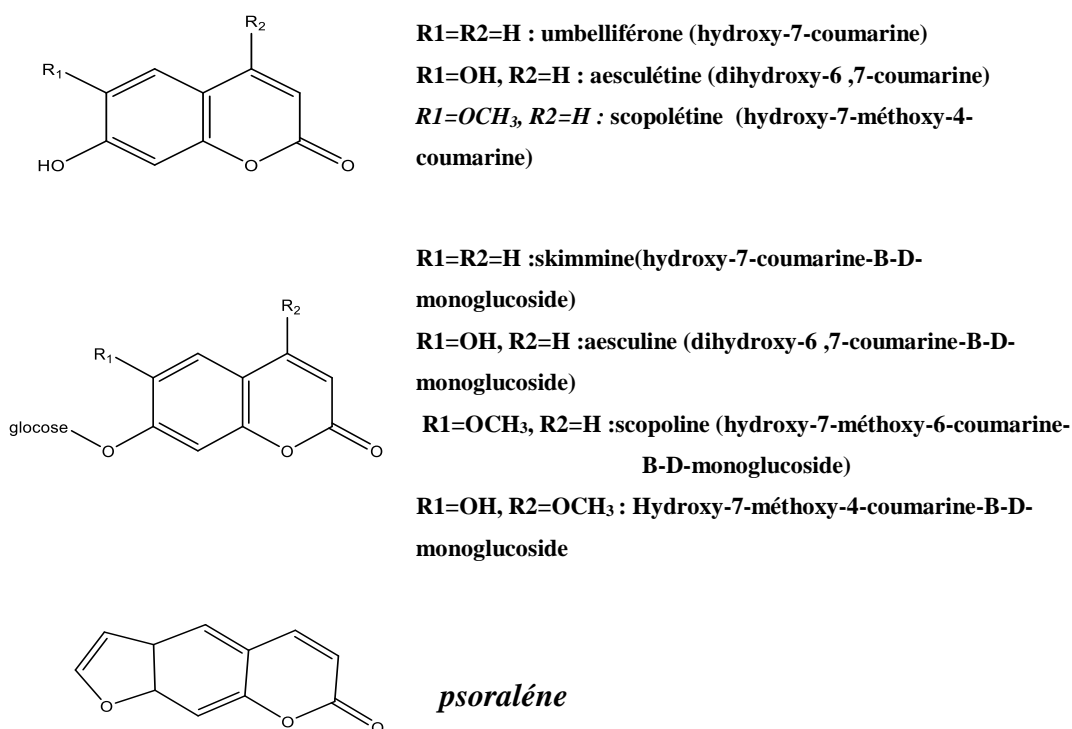


Figure 6 : structures chimiques de quelques coumarines (vivas de Gaulejac, 2001).

II-2-3-1-4- Les lignanes

Le terme Lignane a été inventé par Haworth en 1936 pour décrire un groupe de dimères de phénylpropanoïdes (Umezawa., 2003 ; Willfor., 2006). Les lignanes sont des composés naturels dimères dont le squelette résulte de l'établissement d'une liaison entre les carbones β des chaînes latérales de deux unités dérivées du 1-phényl propane (liaison 8-8').

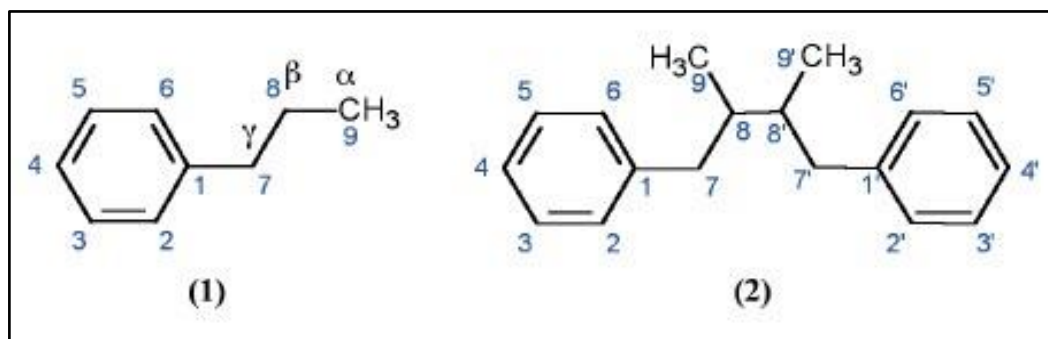


Figure 7 : structure et numérotation des atomes de carbone du phénylpropane(1) et des lignanes (2) (Moss., 2000).

II-2-3-2- Les flavonoïdes

II-2-3-2-1- Définition et structure

Les flavonoïdes représentent une classe de métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles.

Les flavonoïdes sont des composés possédant un squelette de base à quinze atomes de carbone, constitués de deux noyaux aromatiques et d'un hétérocycle central de type pyrane, formant une structure C6-C3-C6. (Ghedira., 2005) La structure de base de ces différents flavonoïdes peut subir de nombreuses substitutions, les groupements hydroxyles étant généralement en positions 4, 5 et 7. Ces substances existent généralement sous forme de glycosides (Chira et al., 2008).

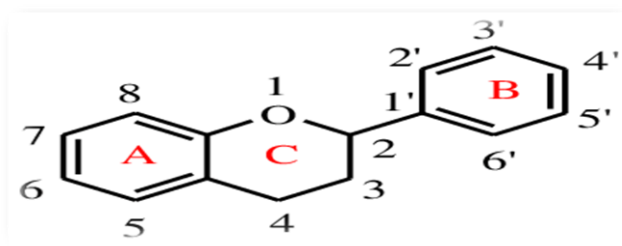


Figure 8 : Structure de base des flavonoïdes.

On attribue à ces flavonoïdes des propriétés variées : Antitumorales, Anticarcinogènes, Anti-inflammatoires Hypotenseurs et Antioxydantes (Ren et al., 2003). Ils sont également connus pour moduler l'activité de plusieurs enzymes ou de récepteurs cellulaires. Le terme flavonoïde regroupe une très large gamme de composés naturels polyphénoliques.

II-2-3-2-2- Classification

Il existe plusieurs classes de flavonoïdes, dont les principales sont les flavones, les flavonols, les flavan-3-ols, les isoflavones, les flavanones, les anthocyanidines, les chalcones et les aurones.

✚ Les Flavones :

Les flavones sont des sous familles des flavonoïdes dont la structure est basée sur la présence de la fonction carbonyle en C4. Ils ont une structure semblable à celle des flavonols sans le groupement hydroxyle en C3. (Cabrerera et al., 2007).

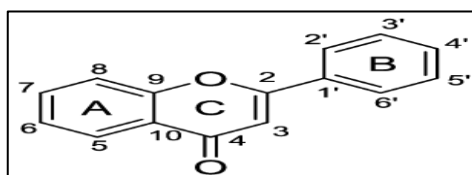


Figure 9 : structure chimique d'un flavone.

✚ Les Flavonols :

Les flavonols possédant un hydroxyle phénolique en C3 et une fonction carbonyle en C4. Ils sont dispersés dans tout le règne végétal, à l'exception des champignons et des algues. La répartition et les variations structurales des flavonols sont très vastes (Fabre *et al.*, 2001; Mollavali *et al.*, 2016). Les flavonols tels que la myricétine, la quercétine, l'isorhamnétine et le kaempférol sont le plus souvent sous forme de O-glycosides (Strack *et al.*, 1992). La liaison glycosidique se produit le plus souvent en position 3 du cycle C, mais des substitutions peuvent également se produire en positions 5, 7, 4', 3' et 5' du cycle carbone. (Crozier *et al.*, 1997).

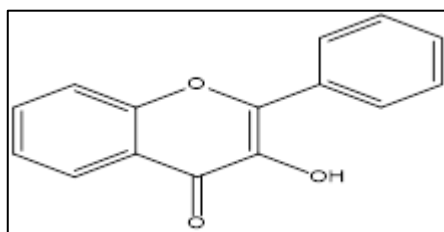


Figure 10 : structure chimique d'un flavonol.

✚ Les Flavan-3-ols :

Les flavan-3-ols se caractérisent par leurs structures reconnaissables par la saturation des liaisons sur le cycle C et la présence d'un groupement hydroxyle en position 3 de ce cycle. (Haslam., 1982, 1975).

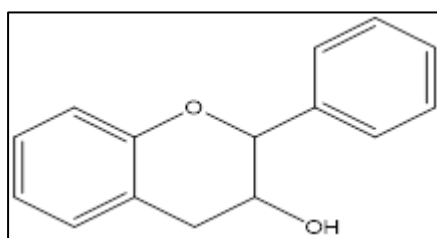


Figure 11 : structure chimique d'un flavan-3-ol.

✚ Les isoflavones :

Les isoflavones sont considérées comme des dérivés des flavones. Contrairement à la plupart des autres flavonoïdes, les isoflavones sont caractérisées par la présence d'un cycle B fixé à C3 plutôt que la position C2. Ils ont une distribution très limitée dans le règne végétal (Fraga., 2009).

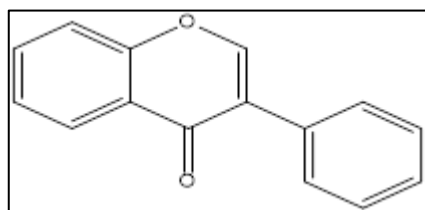


Figure 12 : structure chimique d'une isoflavone.

✚ Les Flavonones :

Les flavanones ont une structure similaire à celle des flavones mais sans la double liaison entre les carbones 2 et 3 du cycle C (**Lee et al., 2004; Zhishen et al., 1999**). C'est la classe qui a plus grand nombre de composés dans la catégorie des « flavonoïdes mineurs ». Les flavanones sont très réactives et peuvent subir des réactions d'hydroxylation, de glycosylation et d'O-méthylation. Les flavanones sont des composants alimentaires présents dans les agrumes. La flavanone glycosylée la plus courante est l'hespérétine-7-O-rutinoside (hespéridine) qui se trouve dans les écorces d'agrumes (**Crozier et al., 2008**).

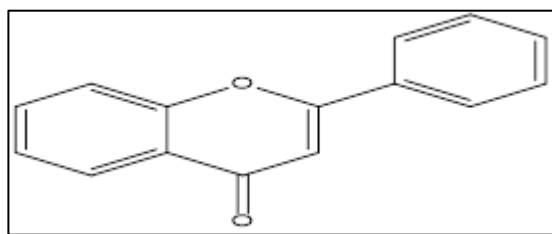


Figure 13 : structure chimique d'un flavanone.

✚ Les Anthocyanidines :

Les anthocyanes sont des flavonoïdes qui portent une charge sur l'oxygène de l'hétérocycle central C. Ce sont des composés responsables de la plus grande partie des couleurs rouge, violette et bleue observées dans la nature. Les anthocyanes interviennent directement dans les interactions plantes-animaux et surtout dans l'attraction des pollinisateurs par la couleur des fleurs (**Buchanan et al., 2000**).

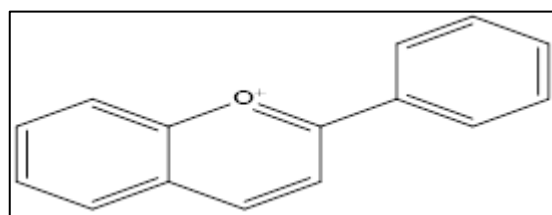


Figure 14 : structure chimique d'un anthocyanidine.

✚ Les Chalcones et aurones :

Les chalcones sont différents des autres types de flavonoïdes par l'absence de (cycle C) de la structure de base du squelette flavanoïde et la présence d'un chaînon tri-carboné cétonique α , β -insaturé. Les substitutions sur le noyau A sont le plus souvent identiques à celles des autres flavonoïdes tandis que le noyau B est assez fréquemment non substitué (**Bruneton., 1993**).

Les aurones sont des flavonoïdes mineurs tricycliques caractérisés par une structure de 2-benzylidènegoumaranone (**Bruneton., 1993**).

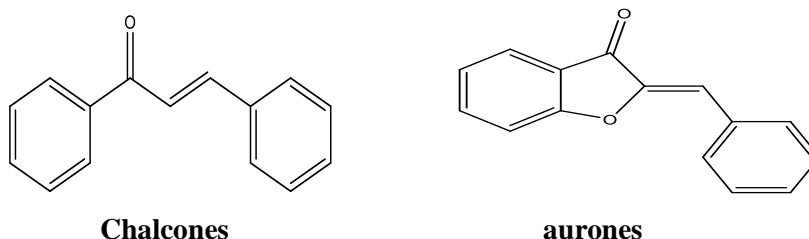


Figure 15 : structure chimique d'un chalcone et d'un aurone.

✚ Les Tannins

Les tanins sont un groupe de polyphénols à haut poids moléculaire et qui existent dans presque chaque partie de la plante : écorce, bois, feuilles et racines (Cowan., 1999). Ces composés sont des molécules fortement hydroxylés et peuvent former des complexes insolubles lorsqu'ils sont associés aux glucides, aux protéines et aux enzymes digestives, réduisant ainsi la digestibilité des aliments (Ref'at *et al.*, 2008).

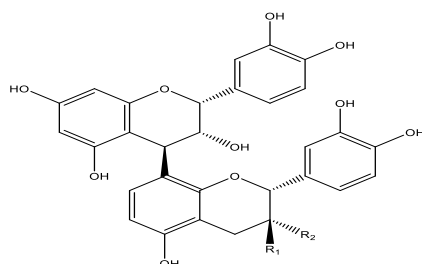
Selon leurs structures biochimiques, on distingue deux classes de tannins : les tannins Hydrolysables et les tannins condensés.

✓ Les tanins hydrolysables

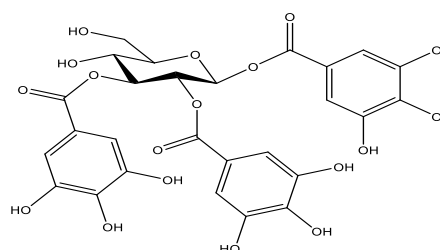
Ce sont des oligo ou des polyesters de glucides et d'un nombre variable d'acides phénols. Le sucre est très généralement le D-glucose et l'acide phénol est soit l'acide gallique dans le cas des gallotannins, soit l'acide ellagique dans le cas des tanins classiquement dénommés ellagitanins (Bruneton., 1999 ; Cowan., 1999).

✓ Les tanins condensés

Appelés aussi proanthocyanidines, les tanins condensés sont des polyphénols de masse molaire élevée. Ils résultent de la polymérisation autooxydative ou enzymatique des unités de flavan-3,4-diols liées majoritairement par les liaisons C4-C8 (parfois C4-C6) des unités adjacentes, et se nomment ainsi proanthocyanidines de type B. Lorsque la condensation se produit entre les unités adjacentes par la liaison C4-C8 et par une liaison d'éther additionnelle entre C2 et C7, les proanthocyanidines sont dits de type A (Wollgast *et al.*, 2000).



Tanins condensés



Tanins hydrolysables

Figures 16 : Structures chimiques des tanins (Achat., 2013).

II-2-4- Polyphénols dans les plantes : Localisation et intérêt.

A l'échelle de la cellule, les composés phénoliques sont principalement répartis dans deux compartiments : les vacuoles et la paroi. Dans les vacuoles, les polyphénols sont conjugués, avec des sucres ou des acides organiques, ce qui permet d'augmenter leur solubilité et de limiter leur toxicité pour la cellule. Au niveau de la paroi, on trouve surtout de la lignine et des flavonoïdes liés aux structures pariétales. Les composés phénoliques sont synthétisés dans le cytosol (**Bénard., 2009**).

Au niveau tissulaire, la localisation des polyphénols est liée à leur rôle dans la plante et peut être très caractéristique. Au sein même des feuilles la répartition des composés est variable, par exemple les anthocyanes et les flavonoïdes sont majoritairement présents dans l'épiderme. Au niveau de la plante entière, il faut noter que certains composés ne sont accumulés que dans des organes bien définis. Chez la pomme par exemple, les composés phénoliques interviennent au niveau de la coloration de la peau via les anthocyanes, et dans la qualité organoleptique de la chair, notamment pour l'amertume ou l'astringence (**Bénard., 2009**).

Les composés phénoliques jouent un rôle important dans le métabolisme de la plante mais aussi peuvent réagir dans les interactions des plantes avec leur environnement biologique et physique (relations avec les bactéries, les champignons, les insectes, résistance aux UV).

Toutes les catégories de composés phénoliques sont impliquées dans les mécanismes de résistance (**Dicko et al., 2006**). Ils assurent la communication entre cellules, entre végétaux, entre végétaux et animaux (**Robert et Catesson., 2000**).

II-2-5- Effets biologiques et intérêts pharmacologiques des polyphénols

Les polyphénols ont une multitude d'activités biologiques dépendant de leur structure chimique. Ils constituent une importante famille d'antioxydants dans les plantes, les fruits et les légumes puisqu'elles comprennent plus de 6000 molécules, contrairement aux antioxydants synthétiques comme le butylhydroxyanisole (BHA) et le butylhydroxytoluène (BHT).

Les polyphénols n'ont aucun effet nuisible sur la santé humaine (**Bounatirou et al., 2007**). Ces composés montrent des activités antioxydants, anti-carcinogènes, anti-inflammatoires, antiathérogènes, anti-thrombotiques, analgésiques, antibactériens, antiviraux, anticancéreux (**Babar Ali et al., 2007**), anti-allergènes, vasodilatateurs (**Falleh et al., 2008**), (**Gomez-Caravaca et al., 2007**).

Les polyphénols sont également utilisés dans l'industrie agro-alimentaire comme additif, colorant, arôme ou agent de conservation (**Bruneton., 1999**). Les principales activités sont résumées dans le tableau suivant :

**Tableau 01 : Activités biologiques de quelques composés phénoliques
(Bruneton., 1999 ; Hannebelle., 2006).**

Composés phénoliques	Exemples	Activité biologique
Acides Phénoliques	Acide Caféique Acide Salicylique	Antibactérienne Antifongique, antioxydant
Tanins	Tanin gallique Proanthocyanidine	Effet stabilisant sur le collagène, antioxydant, anti-diarrhéique, effet antiseptique, effet vasoconstricteu
Flavonoïdes	Lutéoline Catéchine Hespéridine Quercétine Naringénine	Antitumorale, anticarcinogène, antiinflammatoire, antioxydant, antiallergique, antiulcéreuse, antivirale, antimicrobienne, hypotenseur diurétique.
Coumarines	Dicoumarol	Anticoagulant, antioxydant, protectrice vasculaire et antiœdémateuse

II-3- Les alcaloïdes

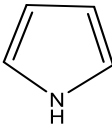
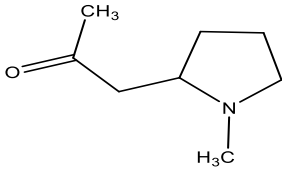
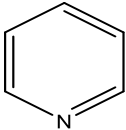
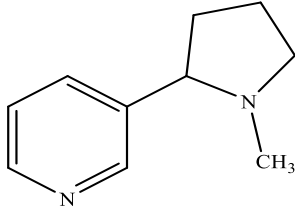
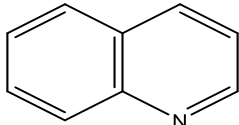
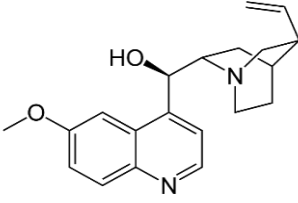
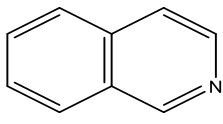
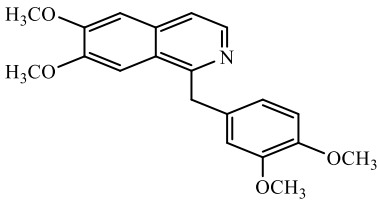
II-3-1- Définition

Les alcaloïdes sont des substances organiques azotées, le plus souvent, d'origine végétale, pour la plupart de série cyclique, basique, donnant des réactions de précipitation avec certains réactifs appelés "réactifs généraux des alcaloïdes" et données à faibles doses, des propriétés physiologiques et pharmacodynamiques marquées (**Hurabielle., 1981 ; Meltzer., 1997**).

II-3-2- Structure et classification

Nous nous bernerons à donner ici la classification chimique des alcaloïdes d'après la nature de leur noyau fondamental (**Hurabielle., 1981, Adlerl et Wink., 2001**).

Tableau 02 : Classification chimique des alcaloïdes d'après la nature de leur noyau
Fondamental.

Noyau fondamental	Exemple	La structure
 <p>Pyrrole</p>	Hygrines de COCA	
 <p>Pyridine</p>	Nicotine de Tabac	
 <p>Quinololine</p>	Quinine de quinquina	
 <p>Isoquinoline</p>	Papavérine de Pavot	

II-3-3- Activités biologiques et intérêts pharmacologiques des alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances particulièrement intéressantes pour leurs activités pharmacologiques qui s'exercent dans les domaines les plus variés :

- Au niveau du système nerveux central comme antidépresseurs (morphine, scopolamine) ou stimulants (strychnine, caféine),
- Au niveau du système nerveux autonome : sympathomimétiques (éphédrine) ou sympatholytiques, parasymphatomimétiques, anticholinergiques et ganglioplégiques.

On notera aussi l'existence de curarisants, d'anesthésiques locaux, d'anti-fibrillants, d'anti-tumoraux, et d'antipaludiques (**Bruneton., 1999**).

II-4- Huiles essentielles

II-4-1- Définition

Les huiles essentielles, essences ou huiles volatiles, sont un extrait pur et naturel provenant de plantes aromatiques (Wegrzyn et Lamendinh ., 2005). Elles sont le produit de la distillation d'une plante ou d'une partie de plante. Il s'agit de substances odorantes, volatiles, résinoïdes, de consistance huileuse mais sans corps gras, plus ou moins fluides, très concentrées, souvent colorées, offrant une forte concentration en principes actifs (Solène., 2012 ; Lorrain., 2013).

II-4-2- Localisation dans les plantes

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes aériens de la plante (fleurs, fruits, feuilles, graines). Dans une même plante, elles peuvent être présentées à la fois dans différents organes, pour cela la composition des essences peut varier d'un organe à l'autre (huile essentielle de fleurs, de feuilles et de fruits...). Elles sont particulièrement riches dans certaines familles (Bruneton., 1993) :

- Myrtacées, Rytacées : elles sont localisées dans des poches sécrétrices schizogénèse.
- Conifères, Ombellifères : elles sont localisées dans des canaux sécréteurs.
- Labiées, Composées : elles sont localisées dans des poils sécréteurs.

II-4-3- caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont liquides aux températures ambiantes généralement incolores ou faiblement colorées lorsqu'elles sont fraîchement extraites, à l'exception des essences renfermant de l'azulène qui sont bleues (ex : *Matricaria chamomilla*L).

- Elles se caractérisent par une odeur aromatique et une volatilité très remarquable.
- Elles ont généralement une densité inférieure à celle de l'eau (0,85 à 0,95) et sont entraînaibles à la vapeur d'eau. Seules trois huiles essentielles ont une densité supérieure à celle de l'eau (les huiles de *Cinnamomum zeylanicum* L., d'*Eugenia caryophyllata* L. et de *Sassafras albidum*), elles possèdent un indice de réfraction souvent élevé et sont douées de pouvoir rotatoire (Hurabielle., 1981, Duraffourd., 1990, Salle et Pelletier., 1991).
- Elles s'oxydent facilement et donnent des produits résinifères par fixation de l'oxygène de l'air sous l'action de la lumière en même temps que leur odeur se modifie, leur point d'ébullition augmente, leur solubilité diminue.

Aussi, devrait-on conserver les huiles essentielles dans des flacons bien bouchés, à l'abri de la lumière et à une température de l'ordre de 4°C.

II-4-4- Activités biologiques des huiles essentielles

Le rôle physiologique des huiles pour le rôle végétal est encore inconnu. Cependant, la diversité moléculaire des métabolites qu'elles contiennent, leur confère des rôles et propriétés biologiques.

- Un effet anti-inflammatoire a été décrit pour les huiles essentielles de *Pretium strumosum*, *Pretium lewellyni*, *Pretium grandifolium* (**Siani et al., 1999**).
- Les activités antifongiques de nombreuses huiles essentielles incluant les huiles de thym, de citronnelle, de cannelle et de *Melaleuca alternifolia* (**Burt., 2004**) ont été décrites.
- Certaines huiles essentielles présentent des activités anti-tumorales et sont utilisées dans le traitement préventif de certains types de cancers. L'huile essentielle isolée des graines de *Nigella sativa* L., démontre une activité cytotoxique in vitro contre différents lignées tumorales. In vivo, elle limite la prolifération des métastases hépatiques et retarde la mort des souris ayant développé la tumeur P815 (**Mbarek et al., 2007**).
- D'autres applications médicales ont fait l'objet d'études. Les travaux réalisés par (**Oussou., 2009**), ont prouvé la capacité de l'huile essentielle d'*Ocimum canum* à limiter la formation d'ulcères gastriques induits par l'éthanol. Ceux de (**Monti et al., 2002**) ont montré que les huiles essentielles facilitent la pénétration transdermique de substances médicamenteuses lipophiles, comme l'œstradiol. Des travaux tentent également d'analyser les effets des huiles essentielles sur le comportement (**Umezu., 1999**) ou d'évaluer la possibilité de les utiliser dans la lutte contre l'addiction de certaines drogues, comme la nicotine (**Zhao et al., 2005**).

II-4-5- composition chimiques des huiles essentielles

Les constituants des huiles essentielles appartiennent de façon quasi exclusive à deux groupes ; le groupe des terpénoïdes (Principalement des monoterpènes et sesquiterpènes) et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (**Bruneton., 1999**).

II-4-5-1- Les composés terpéniques

Ils constituent la grande majorité d'entre d'elles. Les terpènes rencontrés dans les huiles essentielles sont les plus volatils, c'est-à-dire ceux dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée, les mono-et les sesquiterpènes (**Bruneton., 1993**).

II-4-5-1-1- Les monoterpènes

Les monoterpènes sont les plus simples constituants des terpènes dont la majorité est rencontrée dans les huiles essentielles (90%) (**Paduaet et al., 1999**). Ils comportent deux unités isoprène (C_5H_8), selon le mode de couplage « tête-queue ». Ils peuvent être acycliques,

monocycliques ou bicycliques. A ces terpènes se rattachent un certain nombre de produits naturels à fonctions chimiques spéciales.

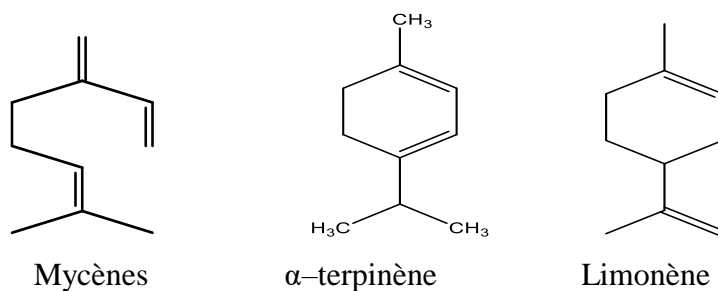


Figure17 : Exemple de quelques structures des monoterpènes.

II-4-5-1-2- Les sesquiterpènes

Ce sont des dérivés d'hydrocarbures en $C_{15}H_{12}$ (assemblage de trois unités isoprènes). Il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes qui se divisent en plusieurs catégories. Ils se trouvent sous forme d'hydrocarbures ou sous forme d'hydrocarbures oxygénés comme les alcools, les cétones, les aldéhydes, les acides et les lactones dans la nature (Kurkin., 2003).

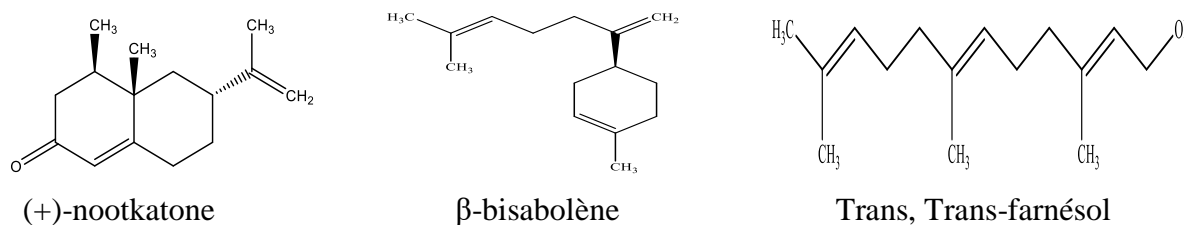


Figure 18 : Exemples de quelques structures des sesquiterpènes

II-4-5-2- Les composés aromatiques

Une autre classe de composés volatils fréquemment rencontrés est celle des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (Kurkin., 2003). Cette classe comporte des composés odorants bien connus comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthol, l'estragole et bien d'autres. Ils sont davantage fréquents dans les huiles essentielles des Apiacées (persil, anis, fenouil, etc.) et sont caractéristiques de celles du clou de girofle, de la vanille, de la cannelle, du basilic, de l'estragon, etc. (bruneton., 1993).

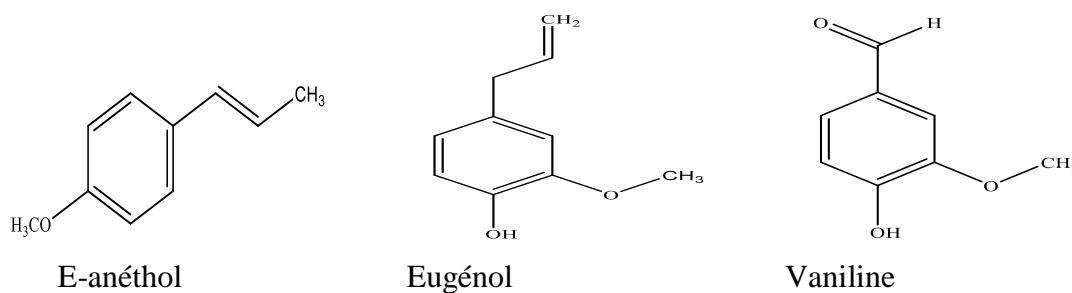


Figure 19 : Exemple de quelques structures des composés aromatiques.

II-4-6- Domaines d'utilisation des huiles essentielles

II-4-6-1- Phytothérapie

L'aromathérapie est une branche de la phytothérapie qui utilise les HE pour traiter un certain nombre de maladies.

Les HE sont largement utilisés pour traiter certaines maladies internes et externes (infections d'origine bactérienne ou virale, troubles humoraux ou nerveux). En médecine dentaire, plusieurs HE ont donné des résultats cliniques très satisfaisants dans la désinfection de la pulpe dentaire, ainsi que dans le traitement et la prévention des caries (**Khadidja., 2002**).

II-4-6-2- Parfumerie et cosmétologie

L'utilisation des HE dans les crèmes et les gels permet de préserver ces cosmétiques grâce à leur activité antiseptique et antioxydant, tout en leur assurant leur odeur agréable (**Roulier., 1992**).

II-4-6-3- Industrie alimentaire

En industrie alimentaire, on cherche toujours à avoir une conservation saine et de longue durée pour les produits consommés ainsi qu'une qualité organoleptique meilleure.

Une nouvelle technique pour réduire la prolifération des micro-organismes réside dans l'utilisation des HE. Les plantes aromatiques et leur HE sont utilisés dans la conservation des denrées alimentaires (**Hammer., 1999**).

II-4-7- Techniques d'extraction des huiles essentielles à partir de plantes

II-4-7-1- Techniques d'extractions classiques

Parmi les techniques classiques on trouve l'extraction par Soxhlet, l'hydro-distillation et la Macération. Ces techniques sont basées sur le choix du solvant, la température et l'agitation.

L'extraction par solvant organique volatil reste la méthode la plus pratiquée. Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle pour extraire les huiles essentielles sont l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol et moins fréquemment le dichlorométhane et l'acétone (**Dapkevicius et al., 1998**).

II-4-7-2- Techniques d'extractions modernes

II-4-7-2-1- Extraction par fluide supercritique (EFS)

L'extraction de fluide supercritique représente une technique alternative à l'extraction conventionnelle des liquides solides avec une consommation de solvant plus faible et une température de travail plus basse. C'est une forme d'extraction liquide où la phase solvant liquide habituelle a été remplacée par un fluide supercritique - une substance qui est au-dessus de son

point critique. Parmi une grande variété de fluides supercritiques, le dioxyde de carbone est essentiellement le seul solvant d'extraction supercritique pratique utiliser en raison de son degré critique relativement faible température (31.1°C) et pression (73.8 bar /7.38MPa) (**Patel et al., 2019**).

II-4-7-2-2- Extraction par fluide pressurisé (EFP)

L'extraction par fluide pressurisé est une technique d'extraction solide-liquide automatisée, qui utilise des solvants sous haute pression et à une température élevée située au-dessus du point d'ébullition des solvants (**Renaud et de Lorgeril, 1992 ; Garcia-Salas et al., 2010**). Il s'agit d'une nouvelle méthode pour l'isolement des analytes à partir d'échantillons solides (**Klejdusa et al., 2009**).

Chapitre III :

Activité biologique

III- Activité biologique

III-1- Activité antioxydante

III-1-1- Les radicaux libres

Les radicaux libres peuvent être définis comme des molécules ou des fragments de molécules contenant des électrons libres. La présence d'électrons inutilisés confère un degré de réactivité considérable sur un radical libre (Valko et al., 2006). La production de radicaux libres peut-être endogène. En effet la formation de radicaux libres dans l'organisme est constante et nécessaire à la vie, mais les excès dépendent des facteurs extérieurs tels que le stress, la fatigue et les exercices physiques intensifs (Bakasso., 2009).

Ils sont également générées sous l'effet d'oxydants environnementaux, tels que, le tabac, la pollution, le soleil, les rayons ultra-violet, les radiations ionisantes, un effort physique intense,

Le stress, une mauvaise alimentation, la consommation d'alcool, les fibres d'amiante, les pesticides, etc. (Afonso et al., 2007).

Dans les phénomènes de stress oxydant prenant place dans les milieux biologiques, les radicaux libres qui interviennent, partagent pour caractéristique celle d'avoir un électron célibataire sur un atome d'oxygène ou d'azote. Ceci leur confère la dénomination d'espèces réactives de l'oxygène ou de l'azote (ERA). Les composés chimiques dérivés de l'oxygène représentent la classe la plus importante de ces espèces générées dans les systèmes vivants.

III-1-1-1- Espèces réactives à l'oxygène

Les organismes aérobies puisent leur énergie en oxydant de la matière organique via la chaîne respiratoire. L'oxygène est indispensable comme substrat majeur, mais peut-être également une source d'agression pour ces organismes.

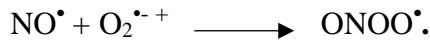
Les ERO sont soit des radicaux libres comme l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet -}$), le radical hydroxyle (OH^{\bullet}), le peroxyde ROO^{\bullet} et alkyle RO^{\bullet} ; soit des molécules comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou l'oxygène singulet (1O_2) (Saffidine., 2015).

L'anion superoxyde ($O_2^{\bullet -}$) est la forme primaire des ERO structuré par l'addition d'un électron à l'oxygène moléculaire (O_2). Il peut ensuite être converti en ERO secondaires tels-que le radical hydroxyle (OH), le radical peroxyde (ROO^{\bullet}) ou le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), ce dernier n'étant toutefois pas un radical libre puisqu'il ne contient pas d'électrons non paires.

III-1-1-2- Espèces réactives à l'azote

Le monoxyde d'azote (NO^\bullet) et le peroxy-nitrite (ONOO^\bullet) sont deux espèces réactives bien connues issues de l'azote. Le monoxyde d'azote est produit de manière endogène lors du métabolisme de l'arginine par les nitrique oxyde synthases (NOS) dans des conditions physiologiques. Il est caractérisé par une réactivité limitée et une demi-vie de quelques secondes. (Blanc *et al.*, 2005).

Le monoxyde d'azote se combine aisément avec l' $\text{O}_2^{\bullet-}$ pour former le peroxy-nitrite.



Ces derniers ont une demi-vie plus prolongée, il peut donc causer des dommages cellulaires des lipides, composant les membranes mitochondriales, altérer les canaux sodiques et favoriser la perméabilité vasculaire et la formation d'oedème.

Malgré son rôle protecteur vis-à-vis du stress oxydant en limitant la lipoperoxydation et ses effets anti-inflammatoires, le monoxyde d'azote (NO^\bullet) est paradoxalement impliqué dans de nombreuses pathologies telles que le diabète, l'athérosclérose, le cancer et les lésions neuronales dégénératives (Bouchouka., 2016).

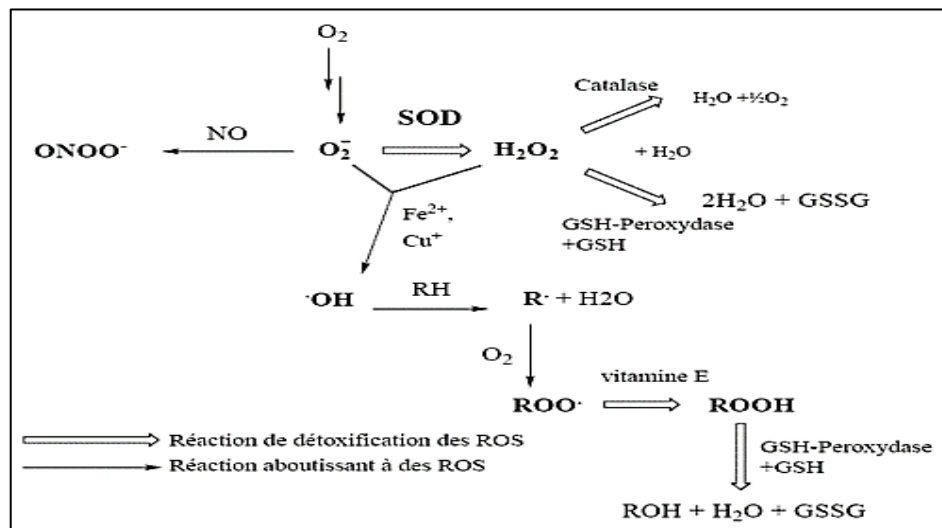


Figure 20 : Origine des différents radicaux oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie (Favier, 2003).

III-1-2- Le stress oxydatif

Le stress oxydant se définit comme étant un déséquilibre entre la balance des prooxydants ERO ou ROS et les systèmes de défense (antioxydants), en faveur des premiers avec comme conséquence l'apparition de dégâts irréversibles pour la cellule. (Favier., 1997). A concentrations plus élevées, les ROS (dont font partie les radicaux libres) peuvent en effet engendrer des

dommages importants sur la structure et le métabolisme cellulaire qui se traduisent par diverses altérations biochimiques intracellulaires telles que l'oxydation de l'ADN et de protéines, la peroxydation des lipides.

Cette situation de surproduction d'espèces radicalaires est également associée à de nombreuses pathologies comme le diabète, les cancers, les maladies cardiovasculaires, ou des troubles neurologiques comme la maladie d'Alzheimer ou la maladie de Parkinson (Valko *et al.*, 2007).

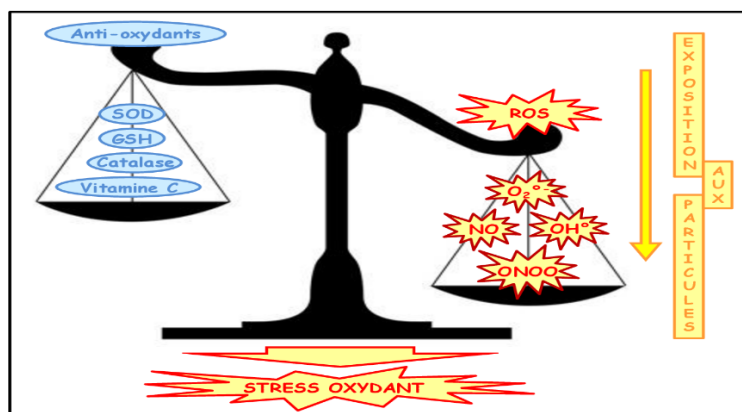


Figure 21 : schéma de stress oxydatif déséquilibré.

III-1-3- Les antioxydants

Les antioxydants sont l'ensemble des molécules susceptibles d'inhiber directement la production, de limiter la propagation ou de détruire les espèces réactives de l'oxygène. Ils peuvent agir en réduisant ou en dismutant ces espèces, en les piégeant pour former un composé stable, en séquestrant le fer libre ou en générant du glutathion (Favier., 2003).

III-1-4- Classification des antioxydants

Les antioxydants sont un groupe hétérogène composé de systèmes antioxydants endogènes, enzymatiques ou non enzymatiques, de vitamines, d'oligo-éléments ou encore de polyphénols (Thomas., 2016). Classiquement, on répertorie les antioxydants selon leur origine, les antioxydants endogènes de type enzymatique sont plutôt impliqués dans la neutralisation des ERO alors que les antioxydants non enzymatiques et ceux d'origine exogène sont des donneurs de proton ou d'électron (Denys *et al.*, 2013).

III-1-4-1- Les antioxydants endogènes (enzymatiques)

Ce sont des enzymes ou protéines antioxydants (Superoxydedismutase, Catalase et Glutathion peroxydase) élaborés par notre organisme avec l'aide de certains minéraux. Elles sont présentes en permanence dans l'organisme mais leur quantité diminue avec l'âge.

III-1-4-2- Les antioxydants exogènes (non enzymatiques)

Ce sont des molécules exogènes. Contrairement aux enzymes antioxydant. Les antioxydants exogènes, vu leur efficacité, leur faible coût et leur disponibilité, sont largement utilisés dans les aliments comme additifs dans le but de prévenir la rancidité. Cependant, leur sécurité est très discutée car ils génèrent un besoin de recherche comme matières de substitution d'après des sources naturelles comme antioxydants de la nourriture (**Ryma., 2016**).

III-1-4-3- Antioxydants naturels

Les plantes contiennent des concentrations élevées de nombreux antioxydants redox-actifs, tels que les polyphénols, les caroténoïdes, les tocophérols, le glutathion, l'acide ascorbique et les enzymes ayant une activité antioxydant, qui combattent les dommages oxydatifs dangereux des composants des cellules végétales (**Pisoschi et al., 2009**).

✚ Les composées phénoliques

Les polyphénols constituent le groupe de métabolites le plus large et le plus répandu du règne végétal et font partie intégrante de l'alimentation humaine et animale (**Martin et Andriantsitohaina., 2002**). D'un point de vue thérapeutique, ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve dans les plantes médicinales (**Macheix et al., 2005**).

✚ Vitamine C (acide ascorbique)

La vitamine C est un antioxydant hydrosoluble présent sous sa forme ascorbate anionique (ASCH⁻) à pH physiologique. Elle agit directement sur les ERO notamment les O₂⁻ et limite la peroxydation lipidique en piégeant les radicaux peroxydes.

La vitamine C permet également la régénération de la vitamine E par réduction spontanée du radical tocophéryl issu de l'oxydation de l' α -tocophérol (**Dreher & Junod., 1996**).

• Vitamine E

La vitamine E, terme générique utilisé pour un ensemble de 8 molécules organiques, 4 tocophérols et 4 tocotriénols, est un puissant antioxydant liposoluble. L' α -tocophérol est sa forme la plus active et le γ -tocophérol sa forme la plus abondante. La vitamine E s'incorpore facilement aux membranes cellulaires grâce à son caractère lipophile et le protègent contre la peroxydation lipidique en neutralisant les radicaux ROO[•], RO[•] et LOO[•] (**Dreher et Junod., 1996**).

✚ Les oligo-éléments

Les oligo-éléments interviennent comme co-facteurs d'enzymes indispensables dans la lutte contre les radicaux libres. Parmi ces oligo-éléments on cite ; le zinc, le sélénium et le manganèse (**Pastre., 2005**).

III-1-4-4- Les antioxydants synthétiques

Parmi les antioxydants synthétiques qui sont autorisés pour la conservation des produits alimentaires et pharmaceutiques : le butylhydroxytoluène (BHT), du butylhydroxyanisole (BHA). Ces deux additifs sont insolubles dans l'eau, résistants à la chaleur, mais ont une bonne solubilité dans les milieux lipidiques. Ils présentent l'inconvénient d'avoir une odeur désagréable et s'évaporent rapidement. Ils peuvent également causer des effets secondaires, comme prouvé par des études récentes. En particulier, le BHT, lorsqu'il est appliqué sur la peau, endommagerait les tissus pulmonaires. L'utilisation du BHT et le BHA sont actuellement remis en question pour raison toxicologique (Salvador & Chisvert., 2007).

III-1-5- Les maladies lies aux stress oxydatifs

Des concentrations élevées en ERO peuvent être un important médiateur de dommages des structures cellulaires, des acides nucléiques, des lipides et des protéines (Valko et al., 2006). Stress oxydant sera la principale cause initiale de plusieurs maladies comme le cancer, syndrome de détresse respiratoire aigüe, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré...etc. Est aussi l'un des facteurs potentialisant l'apparition des maladies plurifactorielles tel que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (Favier., 2003).

III-2- Activité antibactérienne

III-2-1- Les infections microbiennes

Les maladies infectieuses sont provoquées par des micro-organismes pathogènes comme des bactéries, des virus, des parasites ou encore des champignons qui envahissent le corps humain et s'y multiplient. Ces micro-organismes (vivants microscopiques), invisibles à l'œil nu peuvent nous infecter par différentes voies, soit dans l'air, l'eau ou les aliments...etc. Découverte de antibiotique était un élément essentiel dans la lutte contre les bactéries infections en particulier lorsque les maladies sont restées en tant que principale cause de mortalité (Alwash et al., 2003).

III-2-2- Rappel sur les bactéries

Une bactérie est un microbe formé d'une seule cellule, visible au microscope, appartenant à une zone de transition entre le règne animal et le règne végétal.

Comme toute cellule, les bactéries sont constituées d'un noyau, isolé ou diffus, un protoplasme contenant des granulations et des vacuoles, une paroi parfois d'une capsule.

Certaines bactéries sont mobiles grâce à des cils vibratiles. Selon leur mode de nutrition et leur comportement vis-à-vis de l'oxygène, les bactéries sont classées en aérobies et en anaérobies.

Pour croître, les bactéries doivent trouver dans le milieu extérieur des conditions physicochimiques favorables qui leur sont nécessaires et les aliments couvrant leurs besoins énergétiques élémentaires et spécifiques. Sur le plan pratique, ces besoins sont satisfaits dans des milieux élaborés par l'homme en vue d'étudier les bactéries et sont appelés de ce fait, milieux de culture (Leclerc *et al.*, 1995 ; Madigan *et al.*, 1997 ; Marc *et al.*, 2001).

III-2-3- Caractéristiques des souches bactériennes utilisées

III-2-3-1- *Escherichia coli*

Le genre *Escherichia* comprend plusieurs espèces, dont seul *E. coli* (colibacille) est potentiellement pathogène pour l'homme. *E. coli* est une entérobactérie Gram négative, les cellules sont isolées ou par paires, mobile (flagellées), aérobie ou anaérobie, commensale du tube digestif, capable de fermenter le glucose et le lactose. Il représente l'espèce dominante de la flore intestinale. La colonisation du tube digestif commence dès les premières heures après la naissance et le rythme de division d'*E. Coli* lui permet de garder pendant toute la vie de l'individu sa place dominante dans la flore (une division toutes les 20min à 37 °c et en condition favorable). Cette bactérie se trouve dans la microflore de l'intestin de l'homme et d'autres animaux, dans le sol, l'eau et/ou les aliments. On considère que sa présence rend l'eau et les aliments impropres à l'utilisation ou à la consommation (Singleton., 1999 ; Carip., 2008).



Figure 22 : Observation microscopique d'*Escherichia coli*.

III-2-3-2- *Pseudomonas aeruginosa*

Les bactéries du genre *Pseudomonas* sont des bacilles Gram négatifs aérobies ou anaérobies facultatifs, non capsulés, non sporulés, mobiles pourvus de plusieurs flagelles polaires, producteurs de pigments fluorescents ou pas. Chez les mammifères la principale souche rencontrée est *Pseudomonas aeruginosa*, il existe aussi des souches phytopathogènes. Dans la nature, les *Pseudomonas* vivent en saprophyte dans le sol, l'eau et les milieux humides, dans les robinetteries ou les réservoirs d'eau de pluie. Le germe est très souvent retrouvé dans les hôpitaux et du fait de

sa résistance aux antibiotiques, est souvent incriminé dans les infections nosocomiales. Dans l'industrie agroalimentaire, les *Pseudomonas* peuvent entraîner des altérations des aliments par protéolyse ou par lipolyse. (Singleton, 1999 ; Carip, 2008).



Figure 23 : Observation microscopique de *Pseudomonas aeruginosa* (Bioquell).

III-2-3-3- *Staphylococcus aureus*

Les staphylococcus sont des coques Gram positifs, non capsulés et non sporulés, aérobies ou anaérobies facultatifs. Plusieurs espèces de *staphylocoques* peuvent coloniser l'organisme humain : *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* et *Staphylococcus saprophyticus*. Le staphylocoque doré (*S. aureus*) forme des colonies reconnaissables par leur coloration jaune or. Ce germe présente une forte résistance aux agents désinfectants et antiseptiques ; il résiste notamment aux produits à base d'iode, de chlore et aux peroxydes. Il est commensal de la peau et des muqueuses de nombreux mammifères, y compris l'homme. On le trouve surtout dans les fosses nasales et le pharynx (20 à 50% des individus), dans le tube digestif et sur les téguments des grands plis et du périnée. Il se trouve aussi comme saprophyte dans l'environnement. La transmission de ce germe peut survenir d'homme à homme, d'animal à homme mais aussi par les objets contaminés, la poussière, les vêtements, les squames et les aliments. Elle développe souvent des résistances aux antibiotiques, ce qui en fait actuellement l'un des germes les plus résistants et l'un des vecteurs les plus dangereux d'infections nosocomiales. Par ailleurs, *S. aureus* est responsable de toxi-infections alimentaires, provoquées par son antérotoxine (Singleton., 1999 ; Carip., 2008).

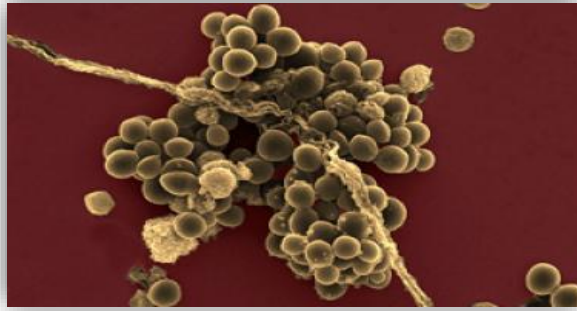


Figure 24 : Observation microscopique de *Staphylococcus aureus* (Institut Pasteur., 2012).

III-2-3-4- *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae est une entérobactérie appartenant au genre *Klebsiella*. Il s'agit d'un bacille à Gram-négatif immobile et souvent capsulé, fréquemment rencontré en pathologie humaine. Il cause des infections nosocomiales, il peut aussi être à l'origine des infections communautaires, surtout chez les patients présentant des facteurs de comorbidité tels que la cirrhose hépatique et le diabète sucré (Kassis-Chikhani., 2012).



Figure 25 : Observation microscopique de *Klebsiella pneumoniae*.

III-2-4- Les antibiotiques

Les antibiotiques sont des produits élaborés par des micro-organismes, des dérivés semi-synthétiques ou des produits entièrement synthétiques capables d'inhiber sélectivement certaines voies métaboliques des bactéries, sans exercer d'effets toxiques pour les organismes Supérieurs (Sanchez., 2015).

III-2-5- Activité antimicrobienne des composés phénoliques

L'activité antimicrobienne des composés phénoliques des végétaux et des plantes médicinales est largement étudiée contre un large éventail de micro-organismes. Parmi les polyphénols, les flavan-3-ols, les flavonols et les tanins ont reçu plus d'attention en raison de leur large spectre et leur forte activité antimicrobienne en comparaison avec d'autres polyphénols et au fait que la plupart d'entre eux sont capables de supprimer le facteur de virulence de certain nombre de microbes telles que l'inhibition de la formation de biofilm, la réduction de l'hôte ligands adhérence et la neutralisation des toxines bactériennes et montrent une synergie avec des antibiotiques (Daglia., 2012).

Les propriétés antimicrobiennes de certains types de polyphénols ont été proposés pour développer de nouveaux conservateurs alimentaires et d'éviter les conservateurs de synthèse ou pour développer des thérapies innovantes pour le traitement de diverses infections microbiennes, compte tenu de l'augmentation de la résistance microbienne contre la conventionnelle antibiothérapie (Daglia., 2012).

III-2-6- Antibiogrammes

L'aromatogramme est basée sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelée antibiogramme. Cette méthode a l'avantage de s'appliquer à un grand nombre d'espèces bactériennes et d'avoir été largement évaluée par 50 ans d'utilisation mondiale. L'aromatogramme se réfère à la diffusion d'un agent antimicrobien d'une concentration spécifique à partir de disques dans le milieu de culture solide, qui a étéensemencé avec l'inoculum. La méthode est basée sur la détermination d'une zone d'inhibition proportionnelle à la sensibilité bactérienne à l'antibiotique présent dans le disque. La diffusion de l'agent antimicrobien dans le milieu de cultureensemencé résulte d'un gradient de l'antimicrobien. Quand la concentration de l'antimicrobien devient diluée qu'il ne peut plus inhiber la croissance de la bactérie testée, la zone d'inhibition est démarquée. Plus le diamètre de cette zone est grand, plus la souche est sensible à l'antibiotique. Plus il est petit, plus la bactérie est résistante (pibiri., 2006).

III- 3- Activité anti-inflammatoire

III-3-1- Définition

L'inflammation est un ensemble de phénomènes réactionnels se produisant au point irrité par un agent pathogène. Elle se traduit par quatre symptômes cardinaux : chaleur, douleur, rougeur et œdème. L'inflammation est un ensemble de réactions dont la finalité peut être :

- + Utile : réaction de défense de l'organisme pour faire face à une agression.
- + Nocive : inflammation secondaire à un processus auto-immune (Moulin., 1998).

On distingue :

- l'inflammation localisée ou primaire ;
- l'inflammation généralisée ou secondaire (chronique) : c'est le cas dans l'inflammation rhumatismale (Moulin., 1998).

III-3-2- Les causes de l'inflammation

Les causes de la réaction inflammatoire sont multiples et représentent les agents pathogènes d'origine biologique, les agents physiques et les agents chimiques. Ces causes déterminent des lésions cellulaires et tissulaires qui vont déclencher l'inflammation (IM., 2008) :

- L'infection par des agents pathogènes : contamination par des micro-organismes (bactéries, virus, parasites, champignons).
- Les agents physiques : chaleur, froid, traumatisme et les irradiations par les rayons UV.
- Les agents chimiques : acides, bases, caustiques, toxines, venins.

III-3-3- Mécanismes de l'inflammation

Le déroulement du processus inflammatoire est toujours le même, la réaction inflammatoire est une des réponses normales de l'organisme à des agressions d'origine immunitaire ou non.

Les réactions inflammatoires se déroulent en trois (3) phases :

- + La phase précoce ou phase vasculaire qui aboutit à la dilatation et la perméabilité des vaisseaux responsable de quatre phénomènes (la tétrade) : œdème, douleur, rougeur, chaleur.
- + La phase secondaire ou phase cellulaire (phase productive) qui est marquée par un afflux de polynucléaires (notamment neutrophiles) et de macrophages tissulaires aboutissant à la formation d'un granulome.
- + La phase terminale ou phase de régénérescence qui aboutit à la cicatrisation. (Moulin., 1998)

III-3-4- Les anti-inflammatoires

Les anti-inflammatoires sont des médicaments capables d'atténuer ou de supprimer le processus inflammatoire. On en distingue deux grands groupes les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS), dont les cibles pharmacodynamiques sont différents.

III-3-4-1- Anti-inflammatoires non stéroïdiens

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) ont été utilisés avec succès pour le soulagement de la douleur, la fièvre et l'inflammation et ils sont toujours utilisés quotidiennement par des millions de patients à travers le monde. Ce sont des médicaments à propriétés anti-inflammatoires, antipyrétiques et analgésiques. Ils présentent une grande hétérogénéité chimique mais ils ont en commun l'inhibition non sélective de l'enzyme cyclooxygénase. Cependant, leur utilisation thérapeutique à long terme est souvent associée à des effets indésirables tels que les ulcères gastro-intestinaux et l'insuffisance rénale (Takeuchi., 2012 ; Cannon et al., 2012).

Ces effets indésirables sont généralement liés à l'inhibition des deux iso enzymes cyclooxygénases (COX-1 et COX-2).

Cyclo-oxygénase 1 (COX-1) : est constitutive et joue un rôle physiologique en maintenant l'intégrité des tissus.

Cyclo-oxygénase 2 (COX-2) : est inductible, sa synthèse est stimulée par le TNF α et l'interleukine1. L'apparition des AINS sélectifs du COX-2 appelé coxibs vient réduire les effets secondaires gastro-intestinaux, mais ils induisent un risque cardiovasculaire (Day et Graham., 2016).

Tableau 03 : Classification des médicaments non stéroïdien

Familles Chimiques	
Non-Sélectifs (Classiques)	Salicylés
	Acides acétylsalicylique
	Acétylsalicylate de lysine
	Carbosalate
	Diflunisal
	Propioniques
	Ibuprofène
	Fenoprofène
	Naproxène
	Kétoprofène
Acide tiaprofénique	
Alminifène	
Fenamates	
Acide niflumique	
Acide méfénamique	
Arylacetates	
Diclofénac	
Indoliques	
Indométacine	
Sulindac	
Etodolac	

III-3-4-2- Anti-inflammatoires stéroïdiens

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ou les glucocorticoïdes constituent une vaste famille de médicaments dérivés du cortisol. Ils représentent le traitement le plus efficace utilisé pour les maladies inflammatoires chroniques tels que l'asthme, l'arthrite rhumatoïde, les maladies inflammatoires de l'intestin et les maladies auto-immunes. Comme pour les AINS, l'usage des glucocorticoïdes est associé à de nombreux effets indésirables. Le risque d'apparition de ces effets indésirables s'accroît avec le prolongement de la durée du traitement et l'augmentation de la posologie (Kessel *et al.*, 2014).

Divers troubles peuvent être observés. Ces troubles peuvent être aigus tels que l'hypertension artérielle, la dérégulation de la synthèse naturelle de glucocorticoïdes à la fin du traitement, l'euphorie avec insomnie allant jusqu'à une psychose aiguë et l'apparition d'ulcères gastro-duodénaux. Des troubles chroniques peuvent aussi se manifester tels que l'ostéoporose, les cataractes et la prise de poids (Ramamoorthy et Cidlowski., 2016).

Tableau 04 : Classification des médicaments stéroïdien

Glucocorticoïdes	Temps de demi-vie	Effets secondaires
Cortisol Cortisone Prednisolone Méthylprednisolone	Courte	Complications aiguës - Décompensation d'un diabète sucré préexistant- -hypertension artérielle (rétention hydro sodée) - euphorie, insomnie - suppression de l'axe HHSR - aménorrhée - acné
triamcinolone	Moyenne	Complications chroniques - Ostéoporose -Suppression de l'axe HHSR
Bétaméthasone dexaméthasone	Longue	- Prise pondérale - Glaucome - immunosuppression

III-3-4-3- Anti-inflammatoires d'origine végétale

Les plantes anti-inflammatoires regroupent des espèces de diverses familles dont les principes actifs présumés responsables de l'activité anti-inflammatoire sont de nature chimique variée (polyphénols, flavonoïdes, saponines, alcaloïdes ...). La plupart de ces métabolites agissent en bloquant les voies de la cyclooxygénase et la lipoxigénase ainsi que par d'autres mécanismes.

Plusieurs études expérimentales ont rapporté les effets immun modulateurs sur l'immunité humorale et cellulaire des composés phénoliques (Martin et Bolling, 2017 ; Thomas et al., 2017), flavonoïdes (Kim et al., 2004 ; Moore et al., 2017), saponines (Thao et al., 2017 ; Zhou et al., 2017 ; Wu et al., 2017), alcaloïdes (Li et al., 2017).

Le tableau regroupe quelques exemples de plantes douées de propriétés anti-inflammatoires

Tableau 05 : Exemples de plantes médicinales douées d'activités anti-inflammatoires (Banes, 1998).

Nom scientifique	famille	drogue	Nom commun	utilisation
<i>Zingiber officinale</i>	Zingiberaceae	Rhizome	Gingembre	Arthrose, migraine, douleur rhumatismales
<i>Helleborus orientalis</i>	Ranunculaceae	Racines	Lenten-rose	Œdèmes, douleurs rhumatismales
<i>Urtica dioica</i>	Urticaceae	Feuille, Racines	Ortie	Rhinite allergique, eczéma goutte, douleurs rhumatismales
<i>Laurocerasus officinalis R.</i>	Rosaceae	Feuilles	Laurie	Fièvre, pharyngite, douleurs, d'estomac, hémorroïdes
<i>Curcuma longa</i>	Zingiberaceae	Rhizome	Curcuma	Douleurs rhumatismales, lupus, systémique, psoriasis, infections rénales
<i>Nerium oleander L.</i>	Apocynaceae	Fleure	Laurier rose	Douleurs, maux de tête

Deuxième partie :
Étude expérimentale.

Chapitre IV :

Matériels et méthodes.

IV- Matériels et méthodes

IV-1- Etude chimique de la plante

IV-1-1- Matériel végétal

La plante *Lonicera* Provenant de la région de Texenna située à 23,3Km de Jijel. Cette plante a été récoltée au mois de mars-avril 2021, les travaux pratiques ont été réalisés au laboratoire de chimie (département de chimie) et labo de recherche de pharmacologie et phytochimie, Université de Mohammed Seddik Ben Yahia, Jijel.



Figure 26 : Localisation de la commune de Texenna dans le cadre géographique d’Algérie et de la wilaya de Jijel.

Le matériel végétal de la partie aérienne (feuilles, fleurs) de la plante a été séché, durant une semaine dans un endroit bien aéré, à une température ambiante et à l’abri de la lumière et de l’humidité, pour préserver le maximum d’intégrité des molécules. Le matériel végétal a été coupé en petits morceaux avant son utilisation et broyé finement à l’aide d’un broyeur jusqu’à l’obtention d’une poudre végétale.

IV-1-2- Extraction des polyphénols

Les polyphénols ont été extraits de la partie aérienne de cette plante par deux différentes méthodes : extraction par macération et extraction par soxhlet.

IV-1-2-1-Extraction par macération**+ Principe**

La macération est un procédé qui consiste à laisser séjourner une plante dans un solvant à froid pour en extraire les composés solubles (arômes, principes actifs). La macération peut se faire dans une solution alcoolique, ou dans l'eau ...

Les solvants alcooliques sont capables d'augmenter la perméabilité des parois cellulaires en facilitant l'extraction d'un plus grand nombre de molécules polaires, de moyenne et de faible polarité.

+ Extraction type solide/liquide (Extraction par macération dans l'éthanol)

Après séchage et le broyage de la partie aérienne nous avons pris une quantité de 200g est mise à macérer dans un mélange éthanol-eau (70/30 : v/v), à l'ombre et à la température ambiante pendant 24 à 48 heures. Ce procédé est répété 3 fois avec renouvellement du solvant. Le macérât est ensuite filtré sur papier filtre puis soumis à une évaporation à 40°C en utilisant un évaporateur rotatif de type **BUCHI R-210**. Le résidu (l'extrait brut hydro-alcoolique sec d'une coloration vert foncé) est repris par 300ml d'eau tiède et laisser à décanter a froid pour débarrasser les cires et les graisses.

+ Préparation des extraits

L'extraction est poursuivie par passage de quatre solvants différents de polarité croissante, on commençant par l'éther de pétrole pour éliminer la chlorophylle, chloroforme, acétate d'éthyle et le n-butanol afin d'extraire les flavonoïdes en fractions aglycones, mono glycosides et di et tri glycosides. Pour cela la phase aqueuse est épuisée trois fois par le chloroforme, après l'agitation et le repos dans une ampoule à décanter, deux phases sont obtenus, une phase organique et une phase aqueuse, Cette dernière est subit à son tour trois extractions avec l'acétate d'éthyle afin de récupérer certains flavonoïdes aglycones et mono glycosides, puis par le n-butanol pour récupérer les flavonoïdes di et tri glycosides. Les différentes fractions récoltées sont ensuite séchés par MgSO₄ pour éliminer toutes traces d'eau puis évaporer à sec à 40°C dans le rotavapeur avec la pesé de la masse des extraits.

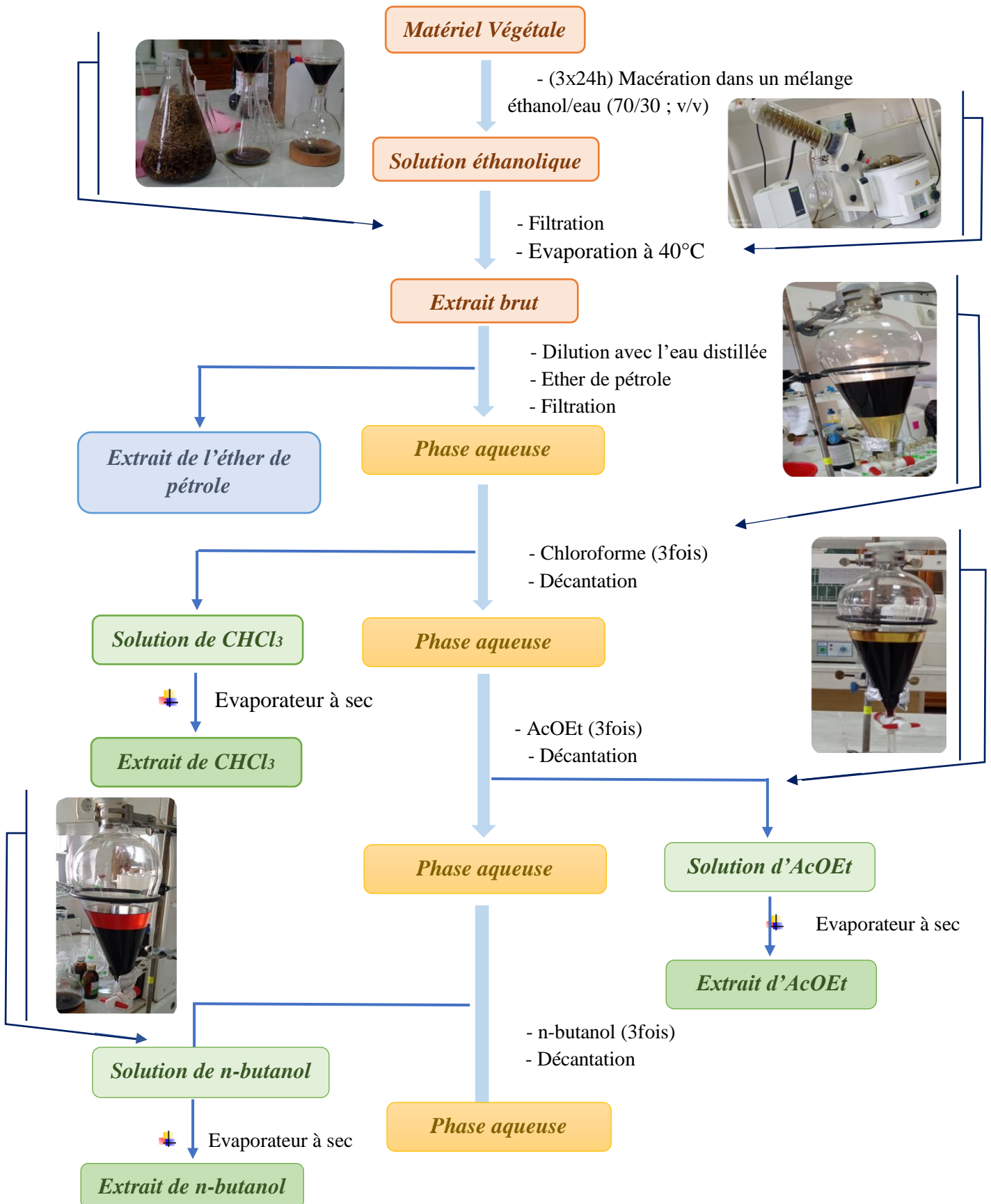


Figure 27 : Protocole d'extraction des polyphénols.

IV-1-2-2- Extraction par soxhlet

✚ Principe

L'extracteur de soxhlet est une pièce de verrerie permettant d'effectuer une extraction solide-liquide. L'appareil porte le nom de son inventeur : Franz Von Soxhlet.

L'extraction par l'appareil soxhlet (nous allons l'appeler simplement soxhlet) est une méthode simple et convenable nous permettant de répéter infiniment le cycle d'extraction avec du solvant frais jusqu'à épuisement complet du soluté dans la matière première.

✚ Mode opératoire

Dans un ballon de 250 ml nous avons introduit : 250 ml de solvant d'extraction (éthanol). D'autre part, nous avons introduit 15g de la matière végétale sèche dans une cartouche en cellulose, que l'on a mise dans l'extracteur. Une fois le chauffage du système de réfrigération a commencé, on observe des vapeurs de solvant qui se condensent au niveau de réfrigèrent puis tombent goutte à goutte sur la cartouche. Au bout d'un certain temps, le solvant entame son extraction et forme un cycle fermé d'extraction que nous pouvons décomposer en plusieurs étapes : (ébullition, vaporisation, condensation, extraction). Lorsque le solvant d'extraction atteint le niveau supérieur du siphon, le siphon s'amorce et la solution retombe dans le ballon à travers le tube de siphonage et se concentre. Pour cela, nous avons réalisé plusieurs siphonages.

Après refroidissement, nous avons enlevé la cartouche et récupéré la concrète que nous avons mis dans le rotavapeur pour la séparation du solvant de la concrète laquelle a été pesée.

L'extraction a été répétée plusieurs fois de la matière végétale restant.



Figure 28 : Montage d'extraction par le soxhlet.

✚ Calcule du Rendement

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

Le rendement a été calculé par la formule suivante :

$$R (\%) = (M_{ext} / MS) \times 100$$

- **R (%)** : Rendement exprimé en %.
- **M_{ext}** : la masse en gramme de l'extrait sec résultant
- **MS** : la masse initiale en gramme de la plante sèche.

IV-1-3- Extraction des huiles essentielles

Dans cette étude nous avons utilisé la technique d'extraction : l'hydrodistillation.

✚ Principe

C'est l'une des méthodes les plus utilisées, elle permet d'isoler les huiles essentielles à l'état pur.

Cette technique consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite portée à ébullition à reflux. L'HE forme avec la vapeur d'eau un mélange azéotropique. Les vapeurs sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité (**bruneton., 1999**).

✚ Mode opératoire

L'opération consiste à immerger une quantité de la masse végétale (80g) dans un ballon monocol en verre de 1000ml contenant une quantité suffisante d'eau distillée sans le remplir complètement (Le volume de l'eau est environ les deux tiers de volume du ballon) pour éviter le débordement au cours de l'ébullition. Ce dernier est porté à l'ébullition à l'aide d'un chauffe-ballon, pendant 2h30. Le chauffage permet l'éclatement des glandes contenant l'huile essentielle dans la structure végétale puis la libération des molécules volatiles qui est évaporée sous l'action de la chaleur pour former un mélange eau/huile essentielle.

La vapeur chargée de l'huile essentielle passe à travers le tube vertical, puis à travers le réfrigérant (condensateur) où aura lieu de la condensation. Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans un collecteur. L'huile obtenue est récupérée par décantation (hydrodistillat + cyclohexane) puis traité par un déshydratant, le sulfate de magnésium (MgSO₄), pour éliminer les traces d'eau susceptible d'avoir été retenue dans l'huile.

La conservation de l'huile essentielle être à 4° C dans l'obscurité pour éviter la dégradation, due à l'action de l'air ou de la lumière.



Figure 29 : Montage d'hydrodistillation.

✚ Détermination des rendements en huiles essentielles

Les résultats sont exprimés sous forme d'un rendement calculés de la même manière que précédemment.

IV-1-4- Screening phytochimiques des métabolites secondaires

Les tests préliminaires sont des tests qualitatifs qui permettent de détecter la présence des principaux métabolites secondaires dans le matériel végétal. Le criblage phytochimiques de différents métabolites secondaires a été effectué sur l'extrait éthanolique.

✚ Préparation d'extraits éthanolique

On a mis 5 g de matériel végétal dans un mélange de 20 ml (éthanol / eau) et on a laissé à macérer à température ambiante pendant 24 h. une fois l'extrait prêt on a filtré ce dernier par papier filtre, afin de l'utiliser après.

- Test des mucilages

On a introduit 1 ml d'extrait éthanolique dans un tube à essai, on a ajouté 5 ml d'alcool absolu (éthanol absolu), et en attendant 10 min. l'obtention d'un précipité floconneux après agitation, indique la présence de mucilage (**Belfekih et al., 2011**).

- Test des polyphénols

On a introduit 1 ml d'extrait éthanolique dans un tube à essai, on a ajouté 3 goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique à 2%. L'apparition d'un précipité bleu-noirâtre ou verte plus ou moins foncée fut le signe de la présence de polyphénols (**N'Guessan et al., 2009**).

-Test des Tanins

La présence des Tanins est confirmée par mise en évidence en ajoutant, à 1 ml de l'extrait, 1 ml d'eau et 2 gouttes de solution de FeCl_3 diluée 5 fois, l'apparition d'une coloration verte foncée ou bleu-vert indique la présence des tanins (Sabri *et al.*, 2012).

-Test des Coumarines

1,5 ml d'hydroxyde de sodium NaOH à 10% ajouter à 1 ml d'extrait éthanolique la formation d'une couleur jaune indique la présence de coumarines (Savithramma *et al.*, 2011).

-Test des Stérols et des Terpénoïdes

On a pris 1 ml de l'extrait avec 1 ml de l'acide acétique glacial puis on a ajouté 2 ml d'acide sulfurique H_2SO_4 concentré de côté sans perturber la solution. L'apparition d'un anneau violet à la jonction de deux couches indique la présence de terpènes. Une couche verte sur la haut de la solution indique la présence de stérols (Senhaji *et al.*, 2005).

-Test des flavonoïdes

Environ 1,5 ml de l'extrait éthanolique du matériel végétal ont été traités avec 0,5 ml d'ammoniaque dilué (10%), puis avec 0,5 ml d'acide sulfurique H_2SO_4 concentré.

L'apparition de couleur jaune après l'ajout d'ammoniac et la disparition de couleur jaune après l'ajout d'acide sulfurique concentré indique la présence de flavonoïdes (Joshi *et al.*, 2013).

-Test des Saponines

Les saponosides sont caractérisés par un indice de mousse. Leur détection est réalisée en ajoutant un peu d'eau à 2 ml de l'extrait éthanolique, après l'agitation, le mélange est abandonné pendant 20 min et la teneur en saponosides est évaluée :

Pas de mousse = test négatif (-) ; Mousse plus de 1 cm = test faiblement positif (+) ;

Mousse de 1-2 cm = test positif (++) ; Mousse plus de 2 cm = test très positif (+++)

(Harborne, 1998).

-Test des glycosides cardiaque (test de Keller-Killam)

0,5 ml d'extrait éthanolique est dilué par 5 ml d'eau distillé. On a traité cette solution avec 2 ml d'acide acétique glacial contenant quelque goutte de chlorure de fer FeCl_3 . Celui-ci était étalé avec 0,5 ml de l'acide sulfurique H_2SO_4 concentré. L'apparence d'un anneau brun à l'interface indique la présence de glycosides cardiaque (Coolborn et Bolatito., 2010).

-Test des carbohydrates

On a mis 1 ml d'extrait éthanolique dans un tube à essai avec 10 goutte de liqueur de Fehling (A et B) le mélange a été chauffé au bain-marie environ 15-30 min. l'apparition d'un précipité rouge brick indique la présence des carbohydrates (**Joshi et al., 2013**).

- Test des alcaloïdes

On a introduit 15 ml de l'extrait dans un tube à essai puis on a ajouté 2 ml de NaOH 10%, après on a ajouté quelques gouttes du réactif de Mayer. La formation d'un précipité blanc ou un trouble blanc indique la présence d'alcaloïdes (**Bruneton., 1999**).

-Recherche des acides organique

Mettre quelques gouttes de bleu de bromothymol dans un tube à essai contenant 2 ml de l'extrait, si la couleur change au jaune canari, cela indique que l'extrait contient des acides organiques (**Senhaji et al., 2005**).

IV-1-5- Analyse quantitative des extraits**IV-1-5-1- Dosage des flavonoïdes totaux****+ Principe**

La quantification de la teneur totale en flavonoïdes a été réalisée par la méthode de trichlorure d'aluminium décrite par (**Turkoglu et al., 2007**).

En présence de trichlorure d'aluminium, les flavonoïdes sont capables de former un complexe acide stable de couleur jaunâtre. Ce complexe est dosé spectrophotométriquement à 430 nm. Des mesures multipliées ont été prises et des valeurs moyennes calculées.

+ Mode opératoire

1 ml d'une solution méthanolique d' AlCl_3 (2% dans le méthanol) est ajouté à 1 ml des extraits a testés (chloroforme, Acétate, n-butanol, extrait hydroalcoolique par macération et extrait hydroalcoolique par soxhlet), le mélange ainsi obtenu a été vigoureusement agité. Après 30 minutes d'incubation à température ambiante, l'absorbance du mélange est lue à 430 nm par un UV-VIS spectrophotomètre **SHIMADZU 1240** contre le blanc. Des mesures multipliées ont été prises et des valeurs moyennes calculées. (**Turkoglu et al., 2007**).

+ Expression des résultats

La quercétine (0.781 - 100 μg / ml) a été utilisée pour établir la courbe d'étalonnage afin d'estimer la concentration de flavonoïdes et utilisée comme standard. Les résultats ont été exprimés en milligrammes équivalents de quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g d'extrait).

IV-1-5-2- Dosage des polyphénols totaux

✚ Principe

Le dosage des phénols totaux par le réactif de Folin-Ciocalteu a été décrit dès 1965 par Singleton et Rossi.

Le réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). La coloration produite, dont l'absorption maximum est comprise entre 725 et 765 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux. (Boizot et Charpentier., 2006).

✚ Mode opératoire

Un volume de 200 μ l de chaque extrait méthanolique est introduit dans des tubes à essai, puis l'ajoute de 1ml du réactif de Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois dans l'eau distillée). Après 4 min, 0,8 ml de carbonate de sodium à 7.5% est additionné. Après 2 h d'incubation à température ambiante l'absorbance est mesurée à 765 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre. Des mesures multipliées ont été prises et des valeurs moyennes calculées.

✚ Expression des résultats

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif (0,781-100 μ g/ml). Les résultats sont exprimés en milligramme (mg) équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait).

IV-1-6- Analyse qualitative par CCM

✚ Principe

La chromatographie sur couche mince est une technique d'analyse qualitative. Cette méthode repose sur la séparation des différents constituants d'un extrait selon leur force de migration dans la phase mobile qui est en générale un mélange de solvant ; adapté au type de séparation recherché, et leur affinité vis-à-vis de la phase stationnaire qui peut être un gel de polyamide ou de silice. Elle nous permet d'avoir les empreintes du contenu polyphénolique et flavonoïque de l'extrait.

La chromatographie sur couche mince a été réalisée sur des plaques pré-étalées de gel de silice et sur des plaques de polyamide. (Ferrari., 2002 ; Ekoumou., 2003 ; Debete., 2005).

✚ Protocole de CCM sur gel de silice

Les trois extraits obtenus de matériel végétal ont été analysés qualitativement par chromatographie sur couche mince. Les plaques de silice utilisées sont de dimensions 10 X 6 cm. Des dépôts de chaque extrait (préparé dans le méthanol) ont été effectués.

Phase stationnaire : c'est une couche solide de gel de silice contenant un indicateur inerte émet une fluorescence lorsqu'il est soumis à des UV (254) (gel de silice GF254)

Phase mobile : est un mélange de solvant, qui caractérisé par sa polarité.

La plaque de silice st placée dans une cuve contenant, l'éluant, cela deux systèmes ont été essayés pour définir ceux qui donnent les meilleures séparations.

Tableau 06 : Système utilisés pour CCM.

Systèmes	L'éluant utilisé	Volume (V/V)
1	Chloroforme / Acétate d'éthyle / Acide formique	50/40/10
2	Chloroforme / Méthanol / Eau distillée	80/20/2

Extraits : chloroforme, acétate d'éthyle et n-butanol.

Témoins : Quercétine.

Révélation : une fois le développement du chromatogramme est effectué, la plaque est séchée à température ambiante puis la visualisation des plaques est faite par deux méthodes

Physiques : sous une lampe UV en utilisant deux longueur d'onde : 254nm et 365nm.

Chimiques : par la suite les plaques sont pulvérisées avec une solution de chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) suivie d'une deuxième visualisation sous la lumière UV aux deux longueurs d'ondes précédentes.

✚ Calcul du rapport frontal (R_f)

Pour chaque espèce chimique révélée, on peut quantifier l'élution en calculant le rapport frontal R_f défini par :

$$R_f = d / D$$

Ou : **d** : est la distance entre la ligne de dépôt et le centre de la tâche.

D : la distance entre la ligne de dépôt et le front de l'éluant.

Les R_f obtenus sont comparés au R_f obtenus pour la référence.

IV-2- Evaluation de l'activité biologique

IV-2-1- Evaluation de l'activité antioxydante

De nombreuses méthodes sont utilisées pour évaluer l'activité antioxydante des composés phénoliques des extraits. La plupart de ces méthodes sont basées sur la coloration ou la décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel. Ces méthodes ont porté sur la détermination du pouvoir antiradicalaire en utilisant les radicaux « DPPH », « ABTS » et pouvoir réducteur du Fer « FRAP » et « TAC ».

IV-2-1-1- Test de piégeage du radical DPPH'

✚ Principe

Le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), est un radical libre stable, violet en solution, il présente une absorbance caractéristique dans un intervalle compris entre 512 et 517 nm, cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazine par un composé à propriété antiradicalaire, entraînant ainsi une décoloration. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Benslama et Harrar, 2016).

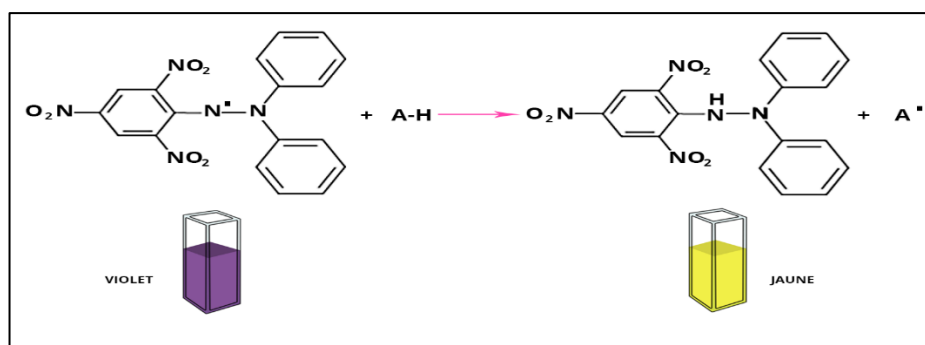


Figure 30 : piégeage du radical DPPH avec l'antioxydant(AH).

✚ Mode opératoire :

L'activité du balayage du radical DPPH a été mesurée selon le protocole décrit par (Ohinishi M et al., 1994). Dans des tubes à essai on introduit 1ml de chaque extrait à différentes concentrations (1 – 0.00781 mg/ml) et 1 ml de la solution méthanolique au DPPH (0,2mM) un blanc est préparé dans les mêmes conditions, en parallèle, en mélangeant 1ml du méthanol avec 1 ml de la solution méthanolique de DPPH.

Après l'incubation à l'obscurité pendant 30 minutes à une température ambiante, la réduction du DPPH s'accompagne par le passage de la couleur violette à la couleur jaune de la solution.

La lecture des absorbances est effectuée à 517 nm à l'aide d'un UV-vis spectrophotomètre SHIMADZU 1240. L'acide ascorbique est utilisé comme standard dans les mêmes conditions des extraits.

✚ Expression des résultats

Calcul des pourcentages d'inhibition

Les résultats peuvent être exprimés en tant qu'activité anti-radicalaire où l'inhibition des radicaux libres en pourcentages (I%) en utilisant la formule suivante :

$$\% = [(AC-AT)/AC] * 100$$

- I : pourcentage inhibition.
- AC : Absorbance du contrôle.
- AT : Absorbance du test effectué.

Calcul des IC50 :

IC₅₀ ou concentration inhibitrice de 50% (aussi appelée EC₅₀ pour Efficient concentration 50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH. (Fabri et al., 2009).

IV-2-1-2- Test de piégeage par le cation radicalaire ABTS^{•+}

✚ Principe

L'activité antiradicalaire des extraits est déterminée par une méthode basée sur la réduction du radical ABTS^{•+} « 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) » qui est utilisé comme un radical libre pour évaluer l'activité antioxydant des échantillons. Ce radical cationique est facilement formé par oxydation en présence de persulfate de potassium pour donner une solution colorée en vert-bleue (Prouillac., 2006). L'addition d'un antioxydant à une solution de ce radical cationique entraîne la réduction de ce radical. (Re et al., 1999).

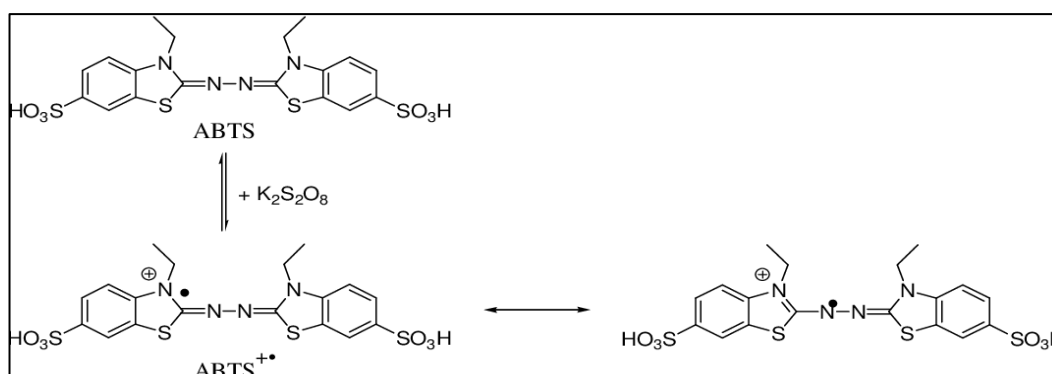


Figure 31 : Formation du radical cation ABTS^{•+} à partir de l'ABTS.

✚ Mode opératoire :

L'activité réductrice de l'ABTS^{•+} des extraits préparés est déterminée selon la méthode décrite par (Re et al., 1999) avec de mineurs modifications. Le radical cation ABTS^{•+} a été formé par la réaction entre (7 mM) ABTS dans l'eau et (2,45 mM) de persulfate de potassium (1: 1), conservée à l'obscurité pendant 12 à 16 h avant l'utilisation. La solution ABTS^{•+} a ensuite été diluée avec de l'éthanol pour obtenir une absorbance de 0,700 à 734 nm.

Après l'addition de 100 µl de chaque extrait et l'acide ascorbique comme contrôle positif à différentes concentrations (1 - 0,00781 mg/ml) à 900 µl de la solution ABTS^{•+} diluée, l'absorbance a été mesurée après 10 min d'incubation à température ambiante. Le blanc est préparé dans les mêmes conditions en parallèle, en mélangeant 100µl du méthanol avec 900µl d'ABTS. Chaque essai est répété trois fois.

✚ Expression des résultats :

La capacité à piéger le radical ABTS^{•+} a été calculée à l'aide de l'équation suivante :

$$\text{Activité de piégeage des radicaux ABTS (\%)} = [1 - (\text{Aex} / \text{Ac})] \times 100$$

- **Aex** : Absorbance de l'extrait.
- **Ac**: Absorbance de contrôle.

IV-2-1-3- Test du pouvoir réducteur FRAP

✚ Principe

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant, cette technique est développée pour mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe³⁺) présent dans le complexe K₃Fe(CN)₆ en fer ferreux (Fe²⁺) d'une couleur bleu cyanée. En effet, le Fe³⁺ participe à la formation du radical hydroxyle par la réaction de Fenton. L'absorbance de milieu réactionnel est déterminé à 700nm (Hubert., 2006).

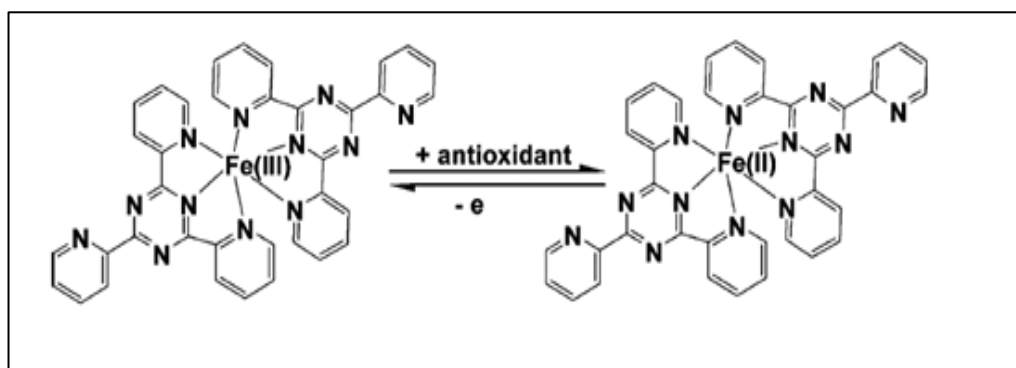


Figure 32 : Schéma de la réaction de FRAP.

✚ Mode opératoire :

Un volume égal 1 ml de l'extrait à différentes concentrations (1- 0,00781 mg/ml) est mélangé avec 2,5 ml d'une solution tampon phosphate 0,2 M (PH 6,6) et 2,5 ml d'une solution de ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ à 1 %. L'ensemble est incubé au bain-marie à 50 °C pendant 30 min. Ensuite, 2,5ml d'acide trichloracétique (TCA) à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction. Un aliquote (2,5 ml) de surnageant est combinée avec 2,5ml d'eau distillée et 0,5 ml d'une solution aqueuse de $FeCl_3$ (Chlorure ferrique) à 0,1 % (**Oyaizu, 1986**).

La lecture des absorbances se fait contre un blanc à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Le contrôle positif est représenté par un standard, l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes concentrations choisies et dans les mêmes conditions expérimentales

✚ Expression des résultats

Pour explorer les résultats obtenus, les histogrammes des absorbances obtenues sont tracés en fonction des différentes concentrations utilisées. L'augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation de la capacité à réduire les fractions testées.

IV-2-1-4- Test de l'activité antioxydant totale (CAT)

✚ Principe

Au cours de test PPM (PhosphoMolybdate), l'hydrogène et l'électron sont transférés du composé réducteur (extrait-antioxydant) vers le complexe oxydant (TAC).

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

A la différence des autres tests, ce test permet non seulement de quantifier l'apport de l'activité antioxydant des polyphénols mais aussi d'autres composés antioxydants tel que les vitamines (C, E...) (**Xin-hua chen et al., 2010**).

✚ Mode opératoire

Un volume de 0,15 ml de chaque extrait à la concentration 0,1 mg/ml est mélangé avec 1,5 ml de solution du réactif (acide sulfurique, phosphate de sodium et molybdate d'ammonium). Les tubes sont vissés et incubés à 95°C pendant 90 min. Après refroidissement, l'absorbance des solutions est mesurée à 695 nm contre le blanc qui contient 1.5 ml de la solution du réactif et 0.15 ml du méthanol et il est incubé dans les mêmes conditions que les extraits. Le contrôle positif est représenté par un standard d'un antioxydant, l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré

dans les mêmes concentrations choisies et dans les mêmes conditions expérimentales. (Xin-hua chen et al., 2010).

✚ Expression des résultats

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide ascorbique comme contrôle positif (0.781-100µg/ml). La capacité antioxydant totale est exprimée en milligramme (mg) équivalent d'acide ascorbique par gramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait).

IV-2-2- Evaluation de l'activité antibactérienne

Les travaux pratiques ont été réalisés au laboratoire des analyses Dr. Boukrouche Oussama. L'activité antibactérienne des quatre extraits (chloroforme, acétate d'éthyle, n-butanol et Extrait brut) et l'huile essentielle de la plante étudiée a été évaluée par la méthode de diffusion sur gélose.

✚ Souches bactériennes testées

Les souches bactériennes pour cette étude, sont des bactéries non pathogènes, qui sont mentionné dans le tableau suivant :

Tableau 07 : Les souches bactériennes utilisées.

Nom de la souche et code de référence	Gram	Famille
<i>Staphylococcus aureus</i>	Positif	<i>Micrococcaceae</i>
<i>Escherichia coli</i>	Négatif	<i>Enterobacteriaceae</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Négatif	<i>Pseudomonadaceae</i>
<i>Klebsiella pneumoniae SPP</i>	Négatif	<i>Enterobacteriaceae</i>

✚ Repiquage et purification des souches

Afin d'évaluer l'activité antibactérienne des extraits des repiquages ont été effectués pour chaque souche bactérienne par la méthode des stries dans des boîtes de pétri content de la gélose nutritive, puis incubées pendant 24 h à 37 °C afin d'obtenir des colonies isolées.

✚ Préparation de l'inoculum

A partir des cultures jeunes, des colonies pures sont isolées pour préparer l'inoculum bactérien. Chaque colonie est mise en suspension dans 10 ml d'eau distillée stérile. La turbidité de la suspension est mesurée à l'aide d'un densitomètre et ajustée à 0,5 Mc Farland.

✚ Préparation des milieux de culture

La gélose de Muller Hinton est coulée et répartie dans des boîtes de pétri stériles de 9 cm de diamètre. Ces dernières sont séchées pendant 30 min à une température ambiante avant leur emploi.

✚ Ensemencement

L'ensemencement de l'inoculum est réalisé par l'inondation verser la suspension bactérienne dans une boîte de pétri contenant le milieu de culture (Mueller Hinton) laisser pendant 2min.

L'ensemencement s'effectue de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries sur la gélose.

✚ Préparation des disques

Des disques sont met sur la gélose molle déjà inoculée avec les microorganismes à tester.

✚ Préparation des dilutions des extraits

Afin d'évaluer l'activité antibactérienne des différentes fractions des extraits (Chloroforme, Acétate d'éthyle, n-butanol, Extrait brut et huile essentielle), des différentes concentrations, ont été préparées dans le Diméthylsulfoxyde (DMSO) pour chaque extrait (test négatif avec les souches bactériennes utilisé).

Elles correspondent respectivement aux concentrations de **8 mg/ml, 4mg/ml, 2mg/ml, 1mg/ml, 0,5mg/ml, 0,25mg/ml** pour les extraits et **30mg/ml, 15mg/ml et 1mg/ml** pour l'huile. A l'aide d'une micropipette stérile, Un volume de 10 μ l a été mis sur les disques qui sont met sur la gélose molle déjà inoculée avec les microorganismes à tester. Les boîtes de pétri ont été incubées à 37°C pendant 24 h.

L'activité antibactérienne est déterminée en termes de diamètre de la zone d'inhibition produite autour des disques après 24 h d'incubation à 37 °C.

L'échelle d'estimation de l'activité antibactérienne a classé le diamètre des zones d'inhibition D de la croissance bactérienne comme suit :

- ✚ (-) souche résistante ($D < 8$ mm)
- ✚ (+) souche sensible ($9\text{mm} < D < 14\text{mm}$)
- ✚ (++) souche très sensible ($15\text{mm} < D < 19$ mm)
- ✚ (+++) dextrement sensible ($D > 20$ mm) (Ponce et al., 2003).

IV-2-3- Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

+ Méthode de stabilisation de la membrane des globules rouges humains

+ Principe

La méthode HRBC a été utilisée pour l'estimation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro*. Le principe de cette méthode est basé sur la capacité des composés à empêcher l'hémolyse des globules rouges humaine (GR), induite par l'hypotonie et donc prévenir la libération de l'hémoglobine. Ce test a été réalisé selon la méthode décrite par (Sadique *et al.*, 1989 ; Oyedapo *et al.*, 2004). Le sang a été prélevé chez un donneur humain en bonne santé ne consommant aucun médicament stéroïdien depuis deux semaines.

+ Mode opératoire

1- Echantillons de sang humain

Des échantillons de sang frais (environ 10ml) ont été récupérés dans des tubes héparinisés, à partir du laboratoire d'analyse médicales étatique de la région de Jijel, ou la prise de sang a été effectuée, sur des volontaires n'ayant pas pris de médicaments anti-inflammatoires, durant les deux dernières semaines avant le prélèvement.

2- Préparation de la suspension des globules rouges humains (HRBC)

Le sang recueilli su des volontaires sains a été mélangé avec un volume égal de solution d'Alsevers stérilisée. Cette solution sanguine a été centrifugée à 3000 tr/min pendant 10 min. le surnageant est, par la suite, éliminé et le culot de globules rouges a été lavé avec de l'eau physiologique (une solution isosaline (0,85%, PH=7,2). Le volume de globules rouges a été mesuré afin de préparer une suspension de 10% (v/v) de globules rouges humains, avec de l'eau physiologique. (Kar *et al.*, 2012).

3- Evaluation de l'activité de stabilisation de la membrane

Le test se base sur l'effet des extraits de la plante étudiée sur la stabilisation de la membrane des globules rouges humains (les érythrocytes), après induction de l'hémolyse par une solution hypotonique associée à une, température de 37°C, selon le protocole de (Kar *et al.*, 2012), (Govindappa *et al.*, 2011).

Dans des tubes à hémolyse, 0,5ml des extraits à tester à différentes des concentrations 1000 µg/ml et 100 µg/ml, 1 ml du tampon phosphate (0,5M, PH 7,4) et 2 ml de la solution hyposaline (NaCl à 0,36%), et un volume de 0,5ml de la suspension des érythrocytes (10%) a été rajouté pour chaque tube.

Les tubes ont été mélangés et incubés, à 37°C pendant 30 min, puis centrifugé, à 3000 rpm pendant 20 min. la lecture d'absorbance du surnageant est faite à 560 nm, à l'aide d'un spectrophotomètre,

- Le contrôle consiste en un mélange de 1 ml du tampon phosphate, 2,5 ml de l'eau distillée, 0,5 ml de la suspension de globules rouges humains 10% v/v.
- Le diclofénac est utilisé comme molécule de traitement anti-inflammatoire, il est utilisé comme un standard avec les mêmes concentrations que les extraits testés (1000 µg/ml, 500 µg/ml et 100µg/ml).

Le pourcentage de stabilisation ou de protection de la membrane HRBC a été calculé en utilisant la formule suivante :

$$\%d'inhibition\ de\ l'hémolyse = [(Ac-At) / Ac] *100$$

✓ Ac : absorbance de control

✓ At : absorbance de l'échantillon (test)

Le Protocole de stabilisation membranaire (HRBC) est schématisé dans la figure33.

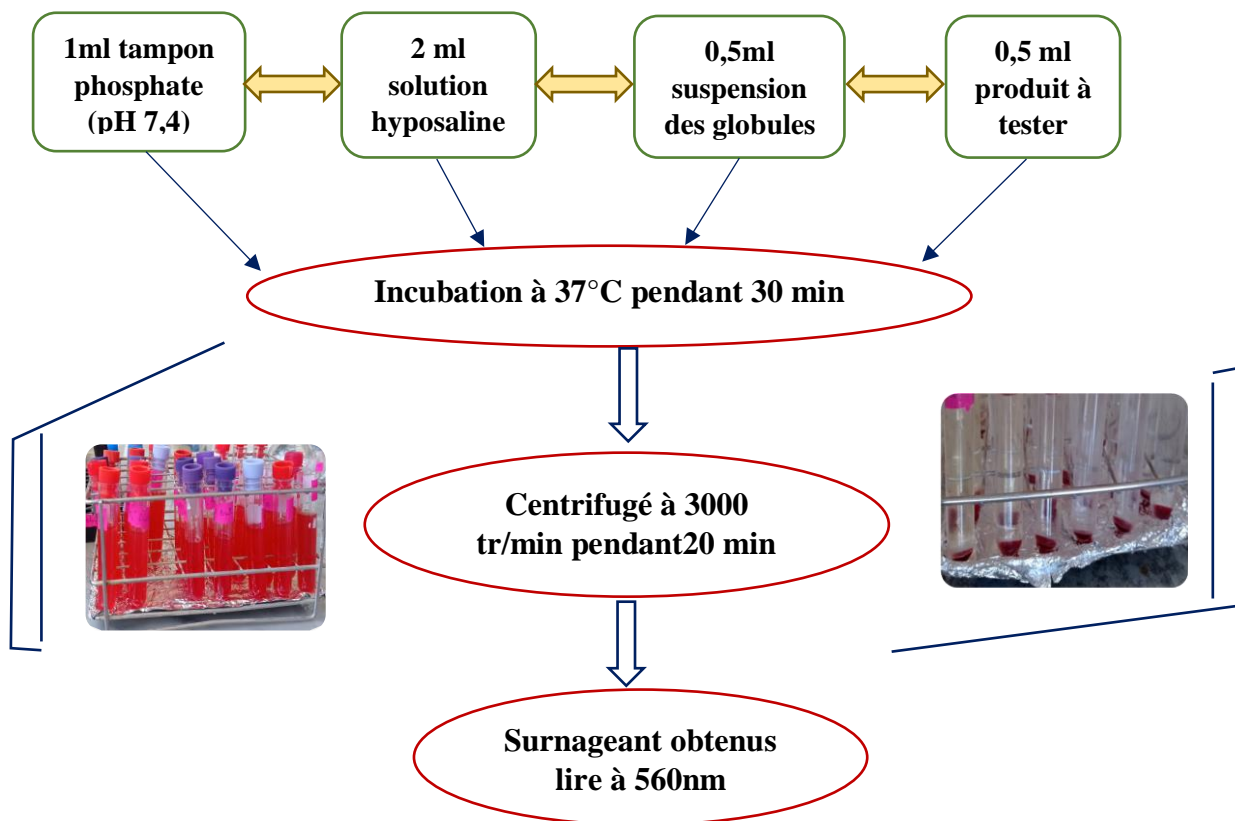


Figure 33 : Protocole de stabilisation membranaire HRBC.

Chapitre V :

Résultats et discussions.

V- Résultats et discussion

V-1- Rendement

V -1-1- Rendement des extraits brut

Les extraits bruts sont obtenus par l'extraction par macération et soxhlet. Les rendements sont calculés par rapport à 200g de la matière végétale sèche.

Le tableau suivant représente le rendement exprimé en pourcentage obtenues par les deux techniques : macération et soxhlet. (Tableau 08 et figure34).

Tableau 08 : Rendement, aspect et couleur des extraits brut par deux méthodes.

Extraits	Masse d'extrait (g)	Rendement(%)	Aspect	Couleur
Extrait brut macération	38,6	19,3	Pâteux	Vert foncé
Extrait brut soxhlet	12,33	6.17	Pâteux	Vert foncé

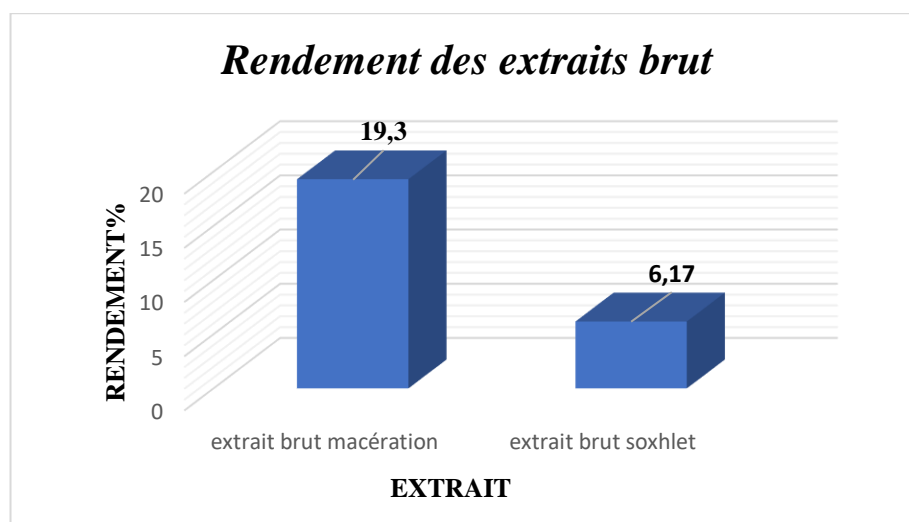


Figure 34 : Rendement des extraits bruts.

En comparant les rendements des deux extraits brut par les deux méthodes, on remarque qu'il y a un grand écart entre le rendement des deux extraits avec une valeur de **19,3 %** pour l'extrait brut extrait par macération et **6.17 %** pour l'extrait brut extrait par soxhlet respectivement, cela est due peut être à la durée d'extraction des deux méthodes et la quantité du solvant utilisé, la première méthode (la macération) a été réalisée en quelques jours et avec un renouvellement du solvant à chaque fois, pour extraire le maximum des métabolites secondaires par contre la deuxième méthode (soxhlet) qui a été effectuée à une durée du temps de quelques heures (six heures) avec une seule quantité du solvant.

D'après ces résultats on peut dire que l'extraction par macération est plus efficace que l'extraction par soxhlet.

V -1-2- Rendement des phases

Les trois extraits de polarité croissantes (chloroforme, acétate d'éthyle, n-butanol) obtenus après l'évaporation du solvant à sec, ont été pesés pour déterminer les masses sèches résultant. Le rendement est exprimé en pourcentage par rapport à 200g de matériel végétal sec. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau ci- dessous :

Tableau 09 : Rendement, aspect et couleur des extraits de la plante étudiée.

Méthode	Extraits des plantes	Masse (g)	Rendement(%)	Aspects	Couleur
Macération	chloroforme	0,53	0,27	pâteux	Vert foncé
	Acétate d'éthyle	1,64	0,82	pâteux	Jaune marron
	n-butanol	8,72	4,36	pâteux	Marron miel

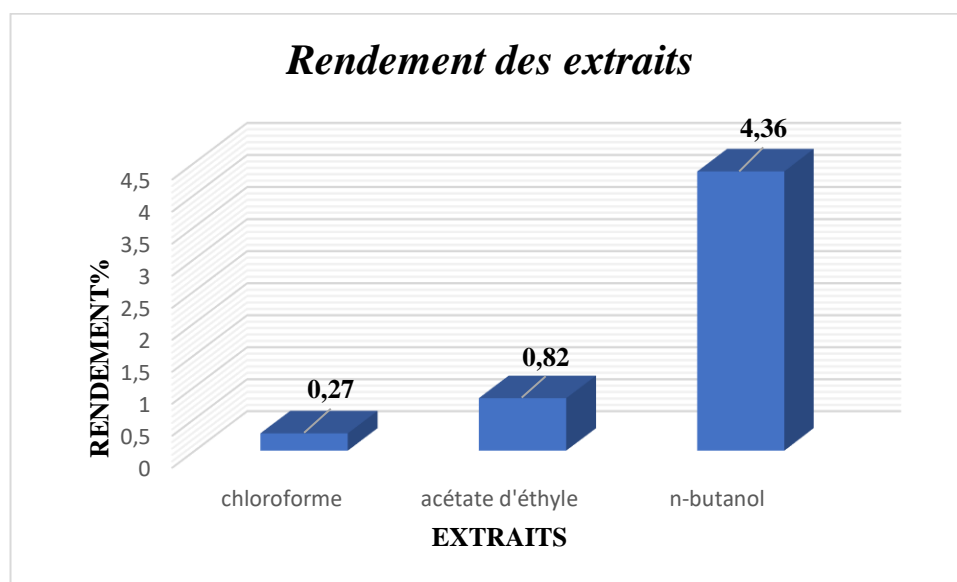


Figure 35 : Rendement des extraits.

D'après les résultats, nous remarquons que le rendement d'extraction de l'extrait n-butanol est le plus élevée avec une valeur 4.36% par rapport aux autres phases, suivi par l'acétate d'éthyle avec 0.82%, tandis que le plus faible est celui de chloroforme avec 0.27%.

On conclut que, il est difficile de comparer les résultats du rendement avec ceux de la littérature, car le rendement n'est que relatif et dépend de la méthode de séchage et d'extraction, le temps de la récolte et les conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée la nature du solvant

utilisé pour faire l'extraction et aussi la période et la région de la récolte et l'organe utilisé dans l'extraction de la plante étudiée.

V-1-3- Rendement de l'huile essentielle

L'huile essentielle de la partie aérienne de la plante étudiée a été extraite par la méthode d'hydrodistillation. L'huile essentielle est récupérée, puis conservé au réfrigérateur à 4°C.

Le rendement de l'huile essentielle a été exprimé par rapport au poids de la matière sèche végétale. Nous avons trouvé que le rendement d'extraction de l'huile essentielle est égal à 0.037%, c'est un rendement passable en comparant avec la quantité utilisé pour faire l'extraction qui est égale à 80g.

Le rendement et les caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle de la plante sont représentés dans le tableau 10.

Tableau 10 : Rendements, aspects, odeur et couleurs de l'huile essentielle.

Méthode	Masse (g)	Rendement(%)	Aspect	Odeur	Couleur
Hydrodistillation De l'huile essentielle	80g	0.037%	Huileuse	Aromatique	Jaune pale

Généralement, le rendement des huiles essentielles dépend de plusieurs facteurs tels : la région géographique de l'espèce végétale, de la saison de collecte et de l'organe végétatif utilisé pour l'extraction des huiles essentielles.

V-2- Résultats de screening phytochimique

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence de métabolites secondaires au niveau des tissus végétaux de notre plante, les tests ont été réalisés sur l'extrait éthanolique préparé. La détection de ces composés chimiques en utilisant des réactifs spécifiques basée sur des réactions de précipitation et d'un changement de couleur spécifique. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 11.

Les résultats ont été évalués comme suit :




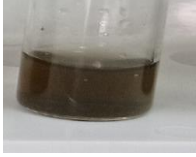
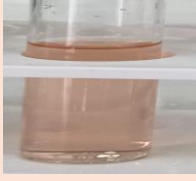


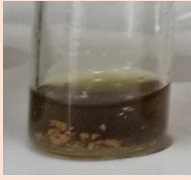
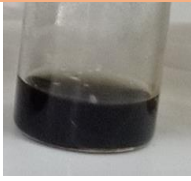


-  + : Présence en quantité moyenne.
-  ++ : Présence en quantité maximale.
-  - : Absence de substance chimique.

Tableau 11 : Résultats de screening phytochimique.

Métabolites testés	Réactifs	Couleur résulte ou précipité résulte	Résultats de la présence des métabolites	Photographié des résultats
Flavonoïdes	Ammoniaque dilué + H ₂ SO ₄	Coloration orange	++	
Tannins	FeCl ₃ diluée 5 fois	Coloration vert foncé	++	
Glycosides cardiaques	Acide acétique glacial + FeCl ₃ + H ₂ SO ₄	Anneau brun	++	
Saponosides	Test de mousse	Formation d'une mousse	+	
Mucilages	Ethanol absolu	L'absence d'un précipité floconneux	-	
Coumarines	NaOH	Coloration jaune	++	
Stérols et Terpénoïdes	Acide acétique glacial + H ₂ SO ₄	Coloration mauve	+	
		Pas de coloration verte	-	

Carbohydra tes	Liqueur de Fehling (A+B)	Formation d'un précipité rouge brique	++	
Polyphénols	FeCl ₃ à 1%	Précipité bleu noirâtre	++	
Acides organiques	Bleu de bromothymol	Coloration jaune canari	++	
Alcaloïdes	Meyer	Précipité blanc	++	

D'après les résultats de tableau 11, on remarque que les métabolites secondaires : les flavonoïdes, les polyphénols les Tannins, les glycosides cardiaques, les coumarines, les carbohydrates, les alcaloïdes et les acides organiques sont des classes de familles chimiques qui présentent en quantité maximale dans l'extrait éthanolique, ce qui indique la richesse de cette plante en métabolites secondaires dans la partie aérienne étudiée.

Les terpénoides ont été détectés par l'apparition d'un anneau violet à la jonction de deux couches indique la présence de terpènes et l'absence des stérols.

Le test de saponoside a été détecté la présence des saponosides en quantité moyenne, dans l'extrait éthanolique de notre plante.

D'autre part le test des mucilages était négatif ce qui indique l'absence de ces composés dans l'extrait éthanolique de notre plante.

On ne peut pas comparer ces résultats avec les travaux de la littérature parce que les tests de screening phytochimique dépendent de la partie de l'espèce étudié, de la région de la période on peut dire que ce sont des tests relatifs à chaque espèce.

V-3- Etude chimique des extraits

V-3-1- Analyse quantitatives des extraits

L'étude quantitative des extraits phénoliques au moyen des dosages spectrophotométries, avait pour objectif de déterminer la teneur totale des polyphénols et des flavonoïdes.

V-3-1-1- Dosage des Flavonoïdes totaux

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$), la quercétine a été utilisée comme standard. L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 430 nm. Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage, ayant l'équation : $Y = 37,513x + 0,1291$ sachant que $R^2 = 0,9886$ (Fig. 36).

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

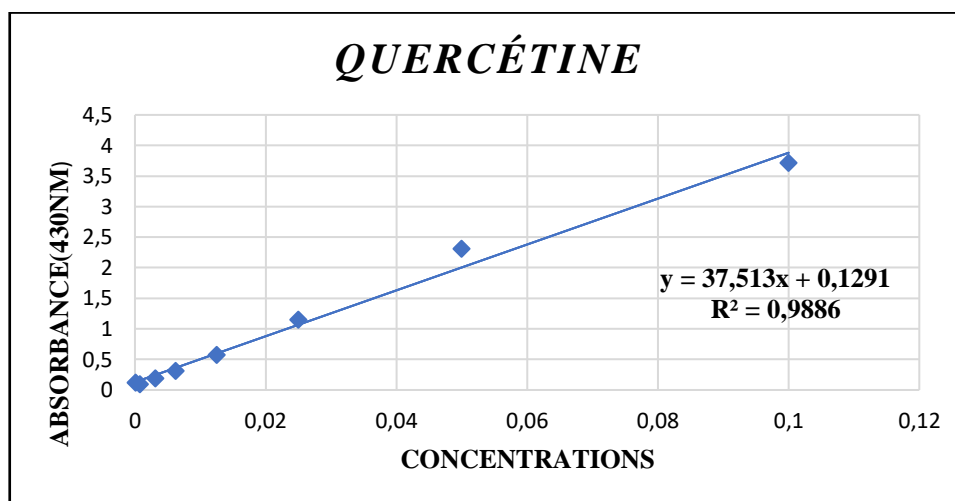


Figure 36 : Courbe d'étalonnage de la Quercétine.

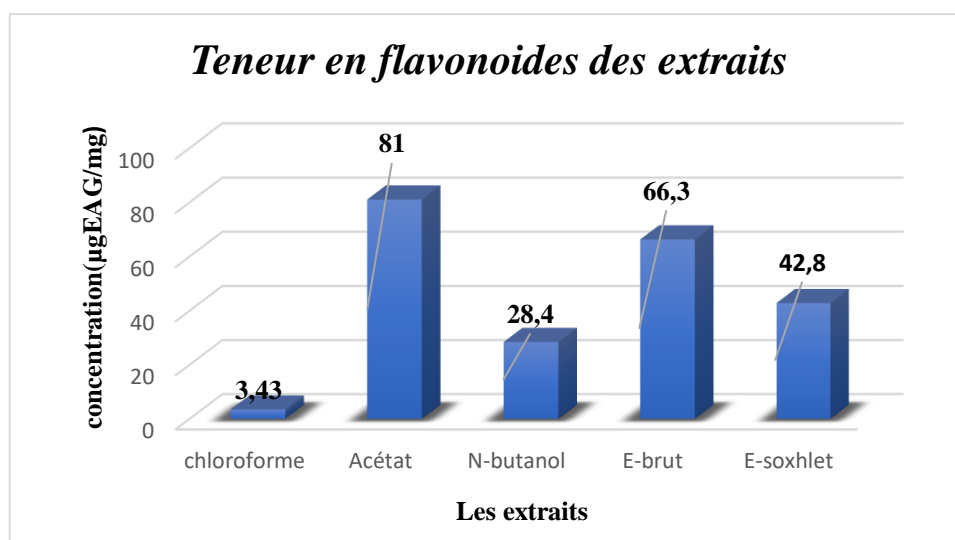


Figure 37 : Teneurs en flavonoïdes totaux en milligramme équivalent de la quercétine par gramme d'extrait.

D'après ces résultats, on peut constater que tous les extraits de notre plante étudiée, sont riches en flavonoïdes mais avec des quantités différentes. La figure 37 montre que l'extrait de l'acétate d'éthyle possède la teneur la plus élevée en flavonoïdes (81 mg EQ/g EXS), suivi par l'extrait Brut (66,3 mg EQ/g EXS), suivi par l'extrait brut (Soxhlet) (42,8 mg EQ/g EXS), et

l'extrait n-butanol (28,4 mg EQ/g EXS) respectivement, tandis que la plus faible teneur est celui de l'extrait chloroforme (3,43 mg EQ/g EXS).

Donc, on peut dire que la teneur en flavonoïdes totaux varie d'un extrait à un autre et d'une plante médicinale à une autre.

V-3-1-2- Dosage des polyphénols totaux

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

$$Y = 30,678x + 0,2253 \text{ sachant que } R^2 = 0,9671 \text{ (Fig. 38).}$$

La quantité des polyphénols a été rapportée en milligramme d'équivalent de l'acide gallique par gramme de l'extrait (mg EAG/g de l'extrait).

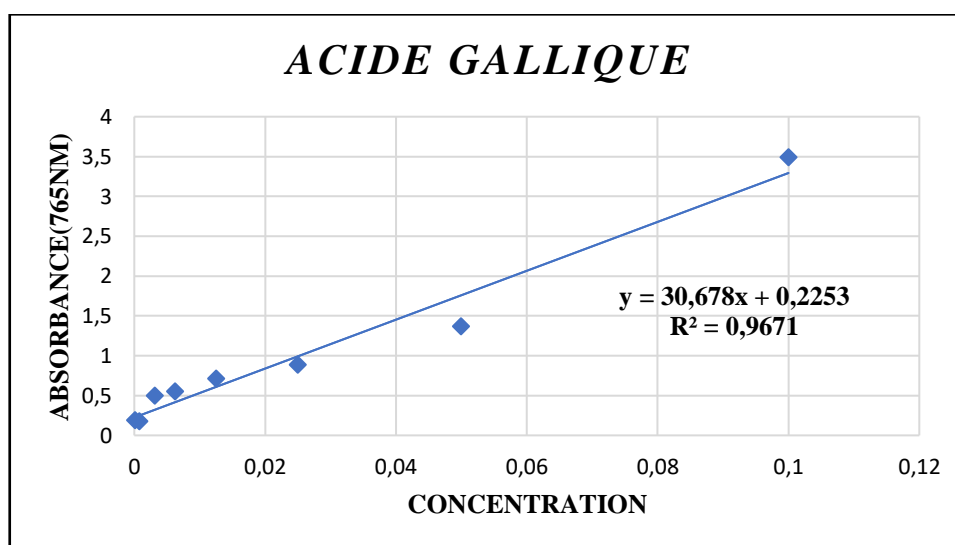


Figure 38 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

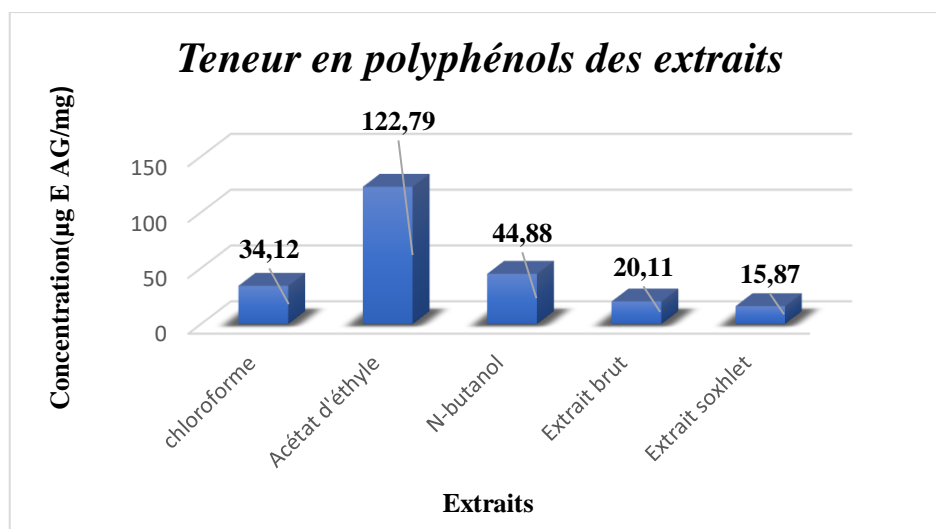


Figure 39 : Teneur en polyphénols totaux dans les 5 phases de l'extrait.

D'après les résultats, on peut déduire que tous les extraits de la plante étudiés, sont riches en polyphénols avec des différentes quantités. La teneur la plus élevée est constatée dans l'extrait Acétate d'éthyle (122,79 mg EAG/g EXS), suivi par l'extrait n-butanol (44,88 mg EAG/g EXS), ensuite par le chloroforme (34,12 mg EAG/mg EXS), tandis que les plus faibles sont les extraits Brut (20,11 mg EAG/g EXS) et soxhlet (15,87 mg EAG/g EXS) respectivement.

Les teneurs des polyphénols totaux déterminées ne sont pas des mesures absolues des quantités des polyphénols du matériel de départ, elles sont en fait, basées sur la capacité réductrice relative à une équivalente à l'acide gallique (EAG). Les valeurs obtenues par la méthode colorimétrique fournissent des informations directes sur le nombre des groupes polyphénoliques antioxydant de l'extrait qui dépend essentiellement du nombre des groupes hydroxyles de ce dernier (**Balasunderam et al., 2006**).

Le profil polyphénolique des extraits d'une plante peut varier sous l'influence de divers facteurs parmi lesquels la variété des espèces, le climat et la localisation géographique, les solvants et les méthodes d'extraction etc...

L'examen de ces résultats permet de mettre en évidence une corrélation entre la teneur des extraits en flavonoïdes et en composés phénoliques. Ceci est logique étant donné que les flavonoïdes représentent les composés majoritaires des polyphénols.

V-3-2- Analyse qualitative des extraits par CCM

✚ Résultats de chromatographie sur couche mince (CCM)

Pour un essai d'analyse qualitative du contenu phénolique de nos différents extraits on a eu recours à l'utilisation de la chromatographie sur couche mince (CCM) puisqu'elle est l'une des méthodes habituelles pour la séparation et la purification des différents constituants d'un extrait végétal et qui est plutôt simple à mettre en œuvre.

✚ Révélation (visualisation des tâches)

Dans notre étude, nous avons réalisé la séparation des extraits brut (chloroforme, acétate d'éthyle, n-butanol) sur gel de silice, en utilisant deux systèmes de solvants moyennement polaires. Sous lumière UV les différentes taches se présentent sur les chromatogrammes ont été délimitées. Les couleurs des spots et leurs *R_f* observés sous UV à 254 nm et après la révélation par AlCl₃ sont représentés dans la figure 40, 41, et le tableau 12.

D'après le premier chromatogramme, le système 1 présente une meilleure séparation de l'extrait chloroformique, et d'après le deuxième chromatogramme, la meilleure séparation des extraits acétate d'éthyle et n-butanol a été observée par le système 2.

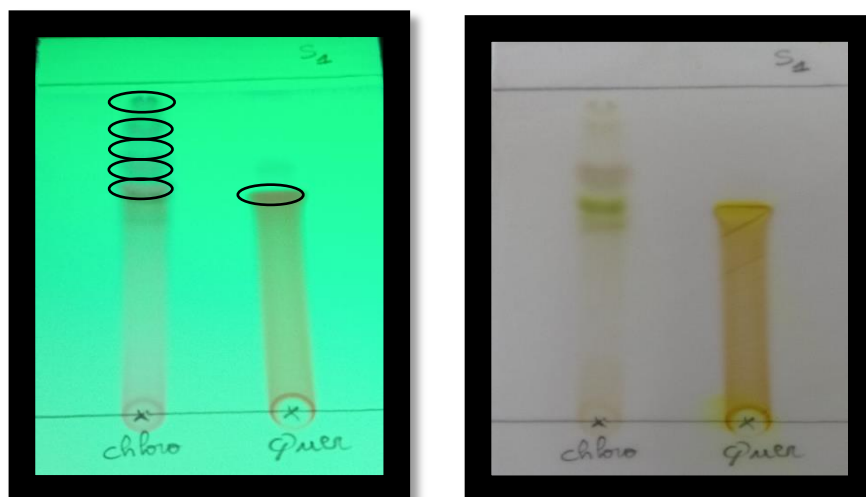


Figure 40 : Plaque CCM de l'extrait chloroformique avec le système 1 sous la lampe UV à une longueur d'onde 254 nm avant et après révélation par la solution $AlCl_3$.

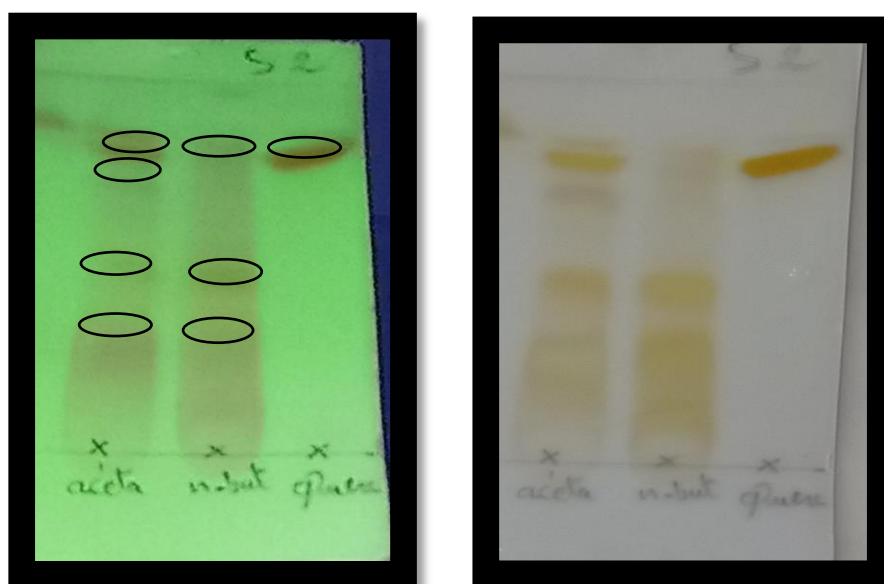


Figure 41 : Plaque CCM des extraits acétate d'éthyle et n-butanol avec le système 2 sous la lampe UV à longueur d'onde 254 nm avant et après révélation par la solution $AlCl_3$.

Tableau 12 : Résultats de plaque CCM des extraits avec le premier système et le deuxième système après la révélation.

Système	Phase	Rapport frontale	Couleur des taches
1	chloroforme	0,58	Vert claire
		0,63	Jaune
0,73		Marron claire	
0,88		Marron claire	
0,93		Marron claire	
	Quercétine	0,63	Jaune
2	Acétate d'éthyle	0,27	Marron claire
		0,45	Marron orange
		0,70	Marron claire
		0,78	jaune
	n-butanol	0,27	Marron claire
		0,45	Marron orange
	0,78	jaune	
	Quercétine	0,78	Jaune

D'après les résultats montrés dans la figure 40, le système 1 (chloroforme et quercétine) a permis de séparer cinq composés pour l'extrait de chloroforme, et d'après les résultats de la figure 41, le système 2 a permis de séparer quatre composés pour l'extrait d'acétate d'éthyle et trois composés pour l'extrait n-butanol .

Selon le tableau 12 le système 1 présente la valeur de $R_f = 0,63$ de la deuxième tâche de l'extrait chloroformique, cette dernière est la même pour la valeur de R_f de la quercétine qui égale à 0,63 de couleur jaune ce qui indique la présence de ce dernier dans l'extrait chloroformique.

Et pour le système 2 on trouve que la valeur R_f de la dernière tâche et la même pour les extraits d'acétate d'éthyle et n-butanol qui égale à 0.78 de couleur jaune, cette dernière est identique à celle de la quercétine ce qui indique sa présence dans les deux extraits précédents. Et on trouve aussi que les autres valeurs R_f sont les mêmes pour les deux extraits acétate d'éthyle et n-butanol qui sont égales à 0.78, 0.27 et 0.45 respectivement de couleur marron claire, marron orange et marron claire, ce qui indique la présence ces trois composés dans les deux extraits.

Selon N'gaman Kohué et Békro (2009), la coloration jaune et violet des spots obtenues sur le chromatogramme sous la lampe UV ou avec les révélateurs (NH_3 , I_2 , AlCl_3 ...) indique la présence des flavonoïdes, on peut dire que la plante étudié suspecte la présence des flavonols (jaune), flavones (violet), coumarines (bleu), terpénoïdes et stéroïdes (marron orange), en plus des flavonols ou flavonones (vert).

V-4- Résultats de l'activité biologique

V-4-1- Activité antioxydante

Il existe plusieurs méthodes pour déterminer l'activité antioxydante. Dans cette étude les propriétés antioxydantes des extraits de chloroforme, acétate d'éthyle, n-butanol, brut et soxhlet, ont été déterminées par quatre méthodes différentes : DPPH, ABTS, FRAP, TAC.

V-4-1-1- Test de piégeage du radical DPPH

L'activité antioxydante de nos extraits a été évaluée par le test DPPH ; le DPPH est un radical libre, stable, employé pour évaluer l'activité antioxydante des composés polyphénoliques, chaque extrait a une gamme de concentration (1- 0.00781mg/ml). Le changement de couleur de la solution méthanolique de DPPH en présence de chacun des extraits à tester et l'absorbance a été mesuré à 517nm, Dans ce test on utilise l'acide ascorbique comme standard.

D'après les résultats obtenus (Fig.42), nous avons enregistré une augmentation des pourcentages d'inhibition de DPPH, en fonction des concentrations des extraits étudiés. La réalisation de la cinétique de cette activité permet d'une part de déterminer les pourcentages d'inhibition maximale et d'autre part de déterminer la concentration qui correspond à 50% d'inhibition (IC50).

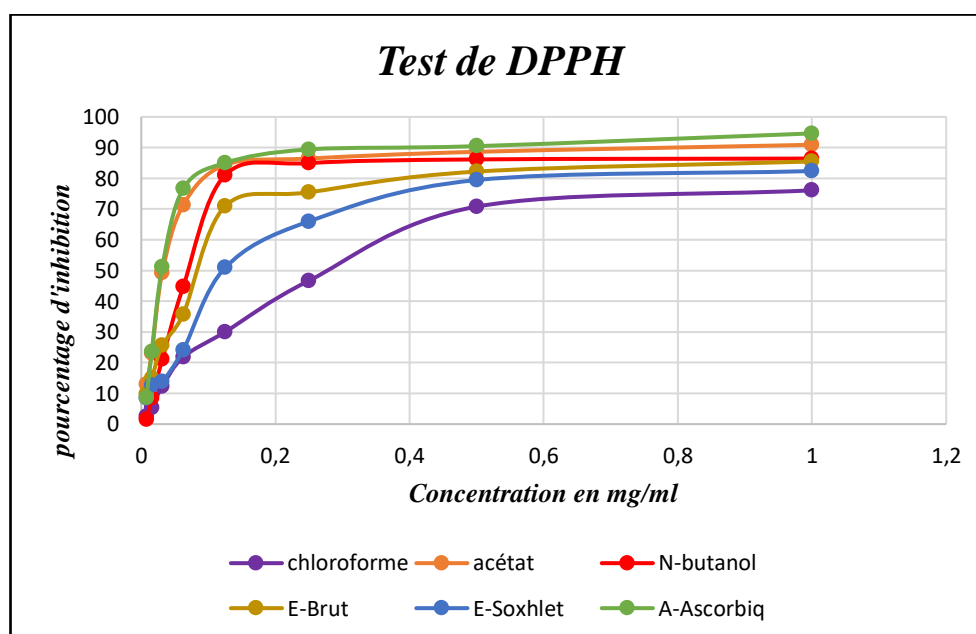


Figure 42 : Les courbes représentent les pourcentages d'inhibition du radicale DPPH de la référence et des extraits testés.

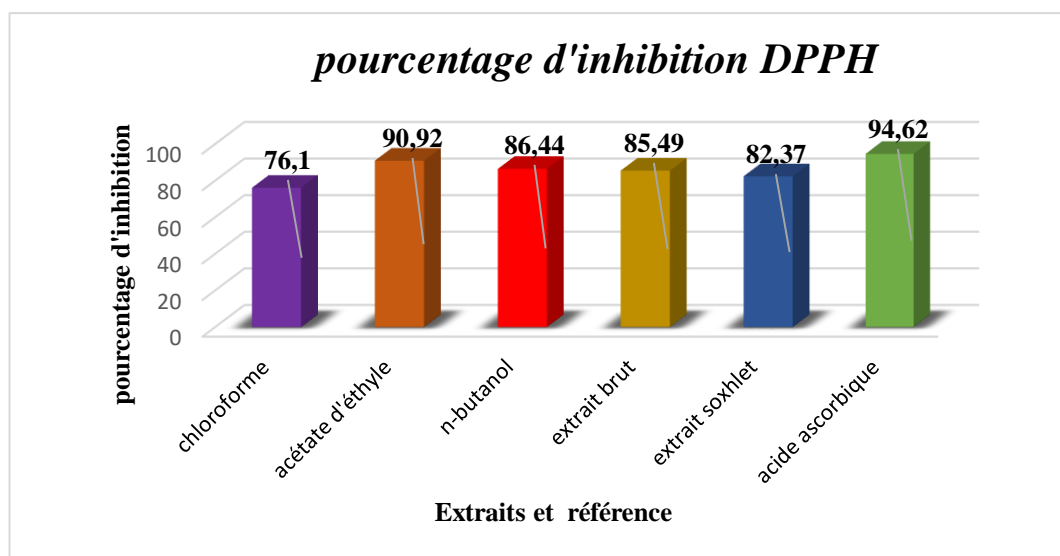


Figure 43 : Histogrammes représentent les pourcentages d'inhibition du radical DPPH. Par la référence et les extraits testés pour une concentration 1mg/ml.

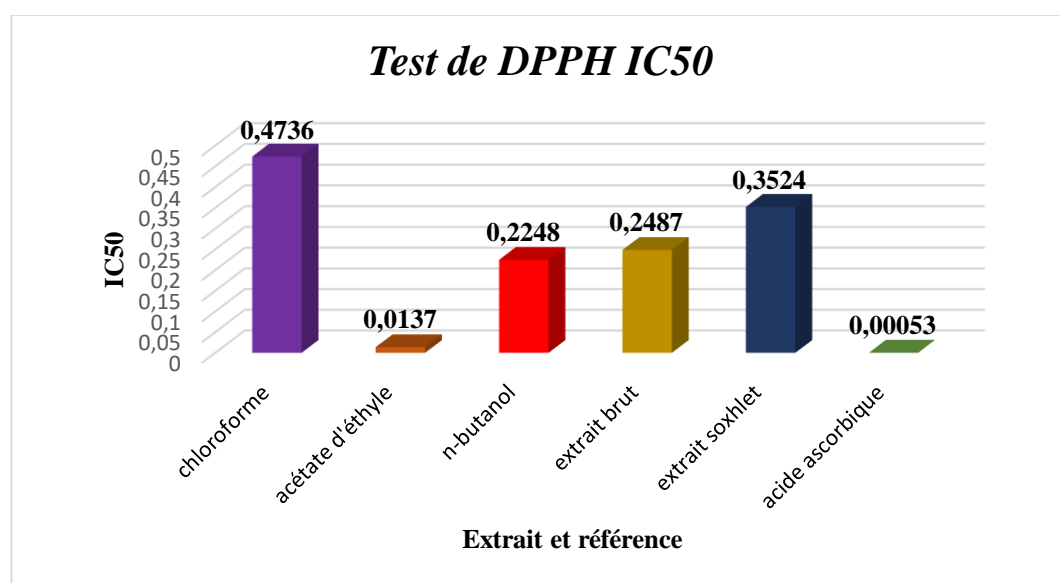


Figure 44 : Histogrammes représentent les IC50 des extraits et de la référence testés pour la concentration 1mg/ml.

D'après les histogrammes on a remarqué que le pourcentage d'inhibition du radical libre pour les extraits était inférieur à celui de référence pour toutes les concentrations utilisées. Pour une concentration de 1mg/ml le standard (l'acide ascorbique) a révélé un pourcentage d'inhibition de DPPH de 94,62%. Concernant les Cinq extraits, et pour une concentration de 1 mg/ml, le pourcentage d'inhibition de DPPH est égale à 90,92% pour l'extrait acétate d'éthyle suivi par les extraits n-butanol et brut sont de l'ordre de 86,44% et 85,49% respectivement, tandis que l'extraits soxhlet et l'extrait chloroforme sont de l'ordre de 82,37% et 76,10% respectivement. Ces pourcentages correspondent à une inhibition totale du DPPH reflétée par la décoloration complète du DPPH du violet en jaune pâle.

La capacité antioxydante des différents extraits a été déterminée à partir de l'IC50, c'est la concentration nécessaire pour réduire 50 % du radical DPPH. Plus la valeur d'IC50 est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande.

A partir des équations des courbes, Nous avons déterminés pour chaque extrait, la concentration nécessaire pour réduire 50 % du radical libre DPPH (IC50). Les valeurs sont représentées dans le tableau 13 suivant :

Tableau 13 : Le pouvoir antioxydant des extraits avec la référence vis-à-vis au radical DPPH.

Les extraits	Pourcentage d'inhibition	IC50 (mg/ml)
Extrait chloroforme	76,10	0,4736
Extrait d'acétate d'éthyle	90,92	0,0137
Extrait n-butanol	86,44	0,2248
Extrait brut	85,49	0,2487
Extrait soxhlet	82,37	0,3524
Référence (acide ascorbique)	94,62	0,0097

D'après les résultats représentés dans le tableau 13, la valeur de l'IC50 obtenu pour l'acide ascorbique est de l'ordre (0.0097mg /ml) qui est utilisé comme une molécule de référence, elle est inférieure à celles des extraits, et selon la définition de IC50 ; Plus la valeur de l'IC50 est petite, plus l'extrait possède une bonne activité antioxydante : l'extrait d'acétate d'éthyle qui présente une IC50 (d'ordre de 0,0137 mg /ml) inférieure à celle d'extrait n-butanol (0,2248 mg/ml) et extrait brut (0,2487mg/ml) et l'extrait soxhlet (0.3524 mg/ml) enfin l'extrait chloroformique avec une valeur (0,4736mg/ml) respectivement, ce dernier est moins efficace en tant que inhibiteur en comparaison aux autres extraits.

L'observation de ces résultats, nous a permis de conclure que tous les extraits présentent un pouvoir anti radicalaire avec le DPPH. Les deux extraits acétate d'éthyle et n-butanol sont riches en flavonoïdes, ceci suggère un lien entre l'activité antioxydante des deux extraits et ces composants nous constatons que les extraits de la plante possèdent une activité antioxydante très intéressante, par rapport aux données de la littérature à cause de leurs richesses structurales en polyphénols.

V-4-1-2- Test de piégeage de cation radicalaire ABTS^{•+}

Le piégeage du radical ABTS est une excellente méthode pour déterminer l'activité antioxydante pour une large diversité de substances, comme antioxydants donateurs d'hydrogène ou piégeurs de radicaux. Ce test est basé sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique ABTS^{•+} de coloration bleu-vert en le transformant en ABTS incolore, par piégeage d'un proton par l'antioxydant.

L'activité antioxydante des différents extraits est déduite de leur capacité à inhiber le radical ABTS^{•+} obtenue à partir de ABTS (Sel d'Ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)) comparativement au produit de référence l'acide ascorbique.

Les valeurs des absorbances enregistré au cours de l'expérimentation ont permis de calculer les pourcentages d'inhibition du radical ABTS. Ces pourcentages augmentent de façon proportionnelle en fonction des concentrations des extraits. Ces résultats ont permis de tracer les différentes courbes (figure45).

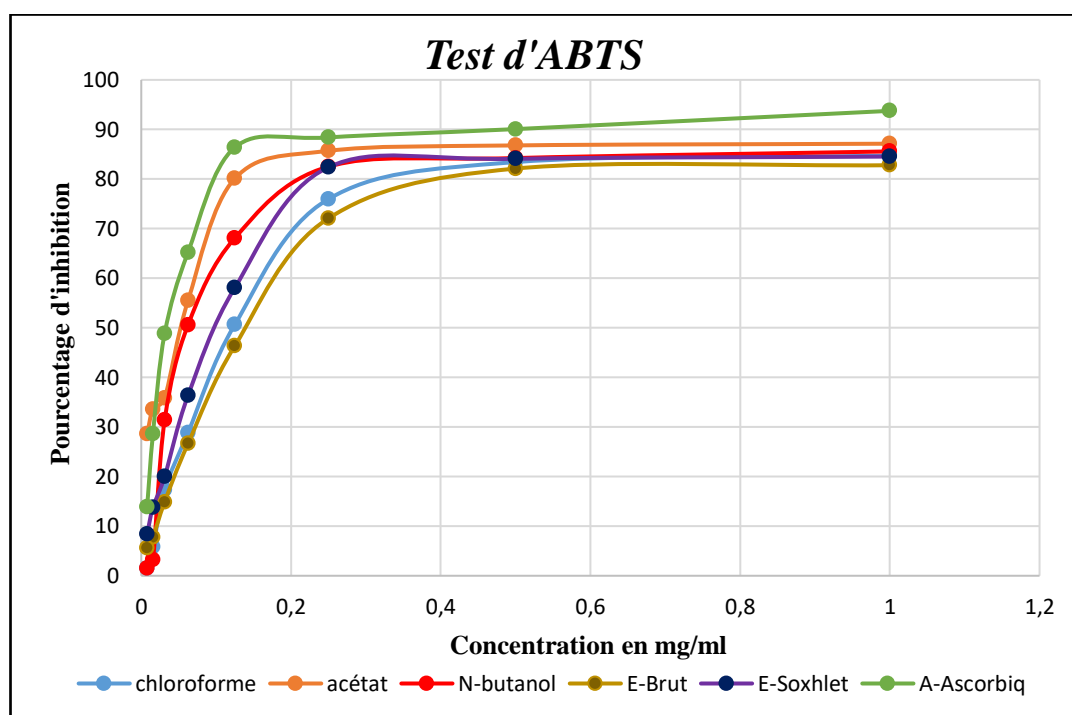


Figure 45 : Les courbes représentent les pourcentages d'inhibition du radical ABTS^{•+} de la Référence et des extraits testés.

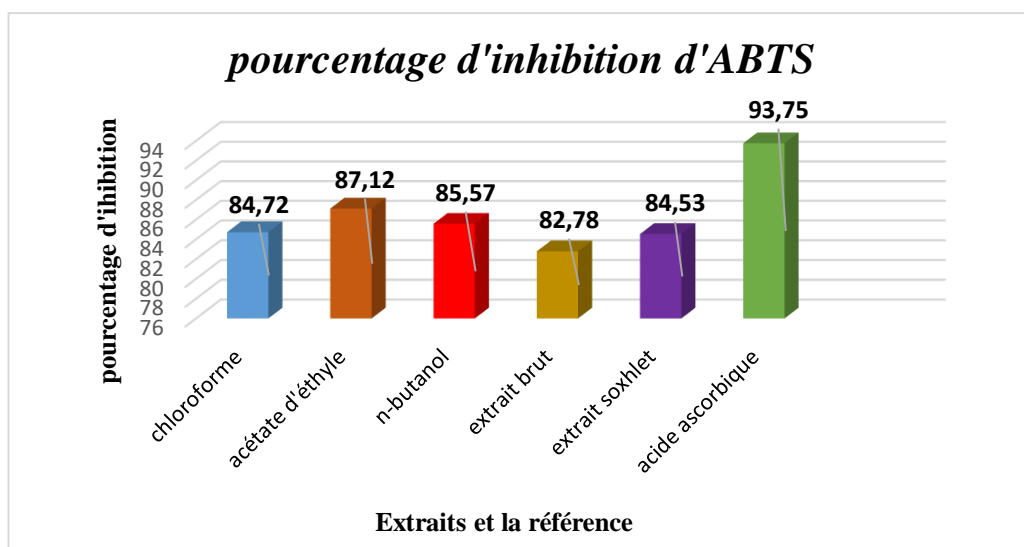


Figure 46 : Les histogrammes représentent les pourcentages d'inhibition d'ABTS⁺ de la référence et les extraits testés pour une concentration 1mg/ml.

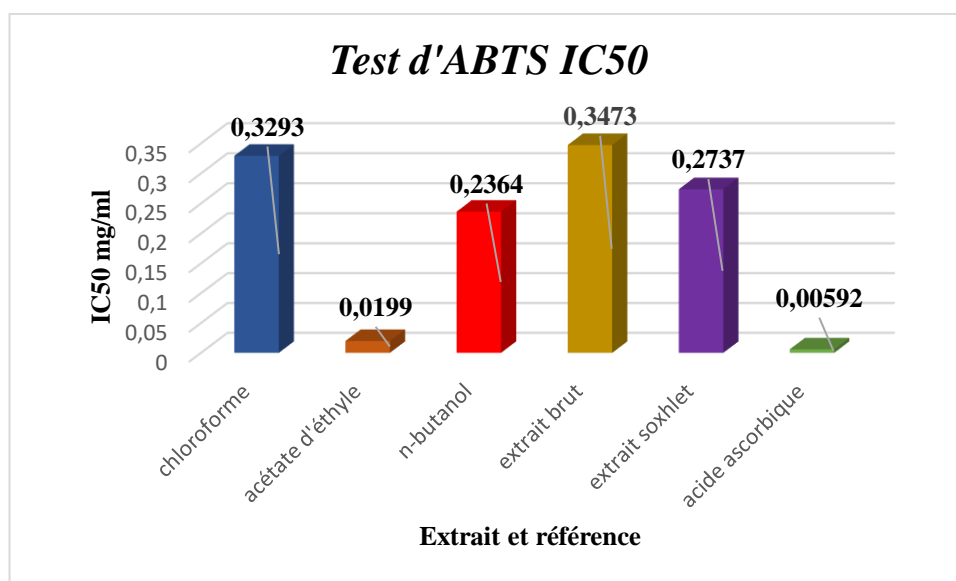


Figure 47 : Histogrammes représentent les valeurs d'IC50 de la référence et les extraits testés pour une concentration 1mg/ml.

D'après les résultats représentés dans les (figures 46 et 47), il semble que le pourcentage d'inhibition du radical augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour le standard (l'acide ascorbique) ou pour les différents extraits de la plante étudiée.

On remarque que le pourcentage d'inhibition du radical pour les extraits était inférieur à celui du standard pour toutes les concentrations utilisées. Pour une concentration 1mg/ml de la référence (acide ascorbique) a révélé un pourcentage d'inhibition d'ABTS très élevé d'ordre 93,75 %. Concernant les cinq extraits, pour la même concentration, le pourcentage d'inhibition d'ABTS est d'ordre de 87,12 % pour l'extrait d'acétate d'éthyle suivi par l'extrait n-butanol est égale à

85,57% ensuite les extraits chloroforme et soxhlet par des valeurs ordre égale à 84,72% et 84,53% respectivement et enfin l'extrait brut révèle une valeur d'ordre de 82,78%. Ces pourcentages correspondent à une inhibition totale de l'ABTS reflétée par la disparition de la coloration, ce qui nous conduit à dire que l'extrait d'acétate d'éthyle est plus efficace que celui de n- butanol et de chloroforme, brut et soxhlet.

À partir des équations des courbes, nous avons déterminé pour chaque extrait, la concentration nécessaire pour réduire 50 % du radical ABTS (IC50).

Les valeurs sont représentées dans le tableau 14 suivant :

Tableau 14 : Le pouvoir antioxydant des extraits avec la référence vis-à-vis au radical ABTS.

Les extraits	Pourcentage d'inhibition	IC50 en (mg/ml)
Extrait chloroforme	84,72	0,3293
Extrait acétate d'éthyle	87,12	0,0199
Extrait n-butanol	85,57	0,2364
Extrait brut	82,78	0,3473
Extrait soxhlet	84,53	0,2737
Acide ascorbique	93,75	0,00592

Selon les résultats présentés dans le tableau 14, Les valeurs des IC50 des différents extraits ont permis de donner une idée sur leurs efficacités. La plupart de nos extraits présente une IC50 acceptable comprise entre 0,0199 et 0,3473 mg/ml. Tandis que L'IC50 obtenu pour l'acide ascorbique qui est utilisé comme référence est égale à 0,00592mg /ml. Cette valeur est inférieur à celles des extraits donc la référence possède une activité antioxydante très élevé (selon la définition de l'IC50). L'extrait acétate d'éthyle présente une IC50 de l'ordre de 0,0199 mg /ml inférieur à celles des autres extraits : n-butanol (0,2364mg/ml) et extrait soxhlet (0,2737mg/ml) et chloroforme (0,3293mg/ml) et extrait brut (0,3473mg/ml), donc on constate que l'efficacité inhibitrice est plus élevé dans l'extrait d'acétate par rapport aux autres extraits n-butanol, soxhlet, extrait chloroforme, extrait brut.

V-4-1-3-Test du pouvoir réducteur : FRAP

En utilisant la méthode de FRAP pour évaluer l'activité antioxydante des extraits de la plante étudiée. Cette méthode est facile, simple et reproductible, pour cela elle est très utilisée pour distinguer les extraits les plus actifs chez les plantes Le test de réduction du fer a été effectué pour

mesurer l'activité antioxydante des différents extraits. La présence des réducteurs dans les extraits a donc provoqué la réduction de l'ion Fe^{3+} en ion Fe^{2+} . La relation proportionnelle entre l'augmentation de la réduction du fer et celle de la concentration a été observée à l'œil nu par une modification du couleur jaune vers le bleu vert.

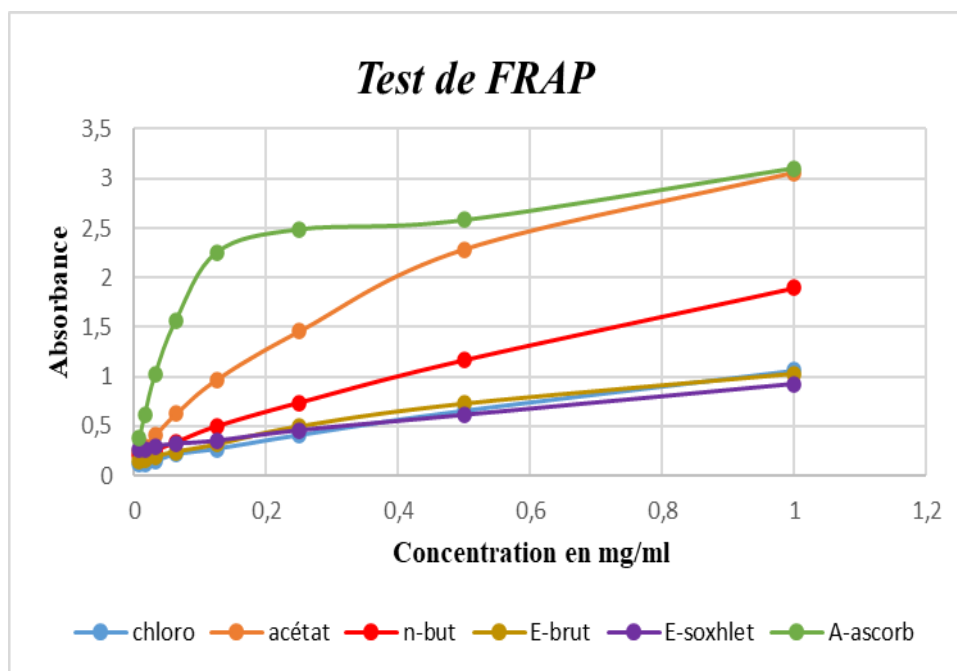


Figure 48 : Les courbes représentent l'activité antioxydante des extraits et de l'acide Ascorbique par la méthode de FRAP.

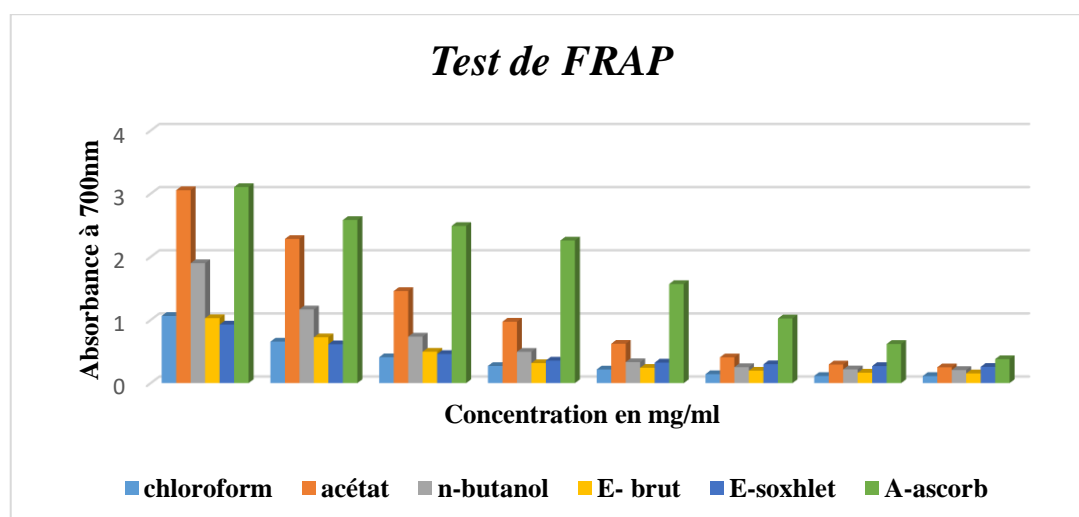


Figure 49 : Les histogrammes représentent l'activité antioxydante des extraits et l'acide ascorbique par la méthode de FRAP.

D'après les figures 48 et 49 nous avons observé une proportionnalité de l'absorbance en fonction de concentration mais ce dernier diffèrent entre les cinq extraits, donc on a remarqué que le pouvoir réducteur des extraits de la plante dépend tout d'abord de la concentration utilisé.

Les résultats obtenus montrent aussi que la capacité de la réduction du fer est dépend aussi de type d'extrait à tester, donc on remarque que la capacité de l'extrait d'acétate d'éthyle pour réduire le Fer est plus élevée à celles des autres extraits n-butanol, chloroforme, brut et soxhlet, en comparaison avec l'acide ascorbique comme référence qui révèle une efficacité très élevée.

On constate que le pouvoir réducteur est plus important dans la phase acétate d'éthyle dans toute la gamme des concentrations par rapport à les autres phases n-butanol, et chloroforme, brut et soxhlet respectivement.

Par exemple Dans la concentration 1mg/ml l'absorbance d'acétate d'éthyle est d'ordre de 3,055 suivie par l'extrait n-butanol avec une valeur d'absorbance 1,899 inférieur par rapport à la référence qui a enregistré une absorbance plus élevée d'ordre de 3,105.

Le pouvoir réducteur des extraits de la plante est probablement dû à la présence de groupement hydroxyle dans les composés phénoliques et les flavonoïdes qui peuvent servir comme donneur d'électron. Par conséquent, les antioxydants sont considérés comme des réducteurs et inactivateurs des oxydants (**Bougandoura et Bendimerad., 2012**).

V-4-1-4- Test de la capacité Antioxydante totale (CAT) :

Afin de continuer l'évaluation de l'efficacité antioxydante des extraits obtenus précédemment nous avons suivi notre étude par le quatrième test de CAT.

L'activité antioxydante totale des extraits (chloroforme, acétate d'éthyle, n-butanol, brut et soxhlet) a été évaluée par la transformation de Mo (VI) en Mo (V) pour obtenir un complexe phosphomolybdène qui peut être suivis spectrophotométriquement. C'est un test direct employé principalement pour mesurer la possibilité et la puissance des antioxydants non enzymatiques. La capacité antioxydante totale des extraits de la plante étudiée et le standard l'acide ascorbique ont caractérisé par une augmentation de l'absorbance avec l'augmentation de la concentration.

Les résultats obtenue sont représentés dans a courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique, ayant l'équation : $Y = 3,5051 x + 0,0876$ sachant que $R^2 = 0,9974$.

Les valeurs sont exprimées en milligrammes équivalents d'acide ascorbique par gramme de l'extrait sec (mg EAA/g d'extrait).

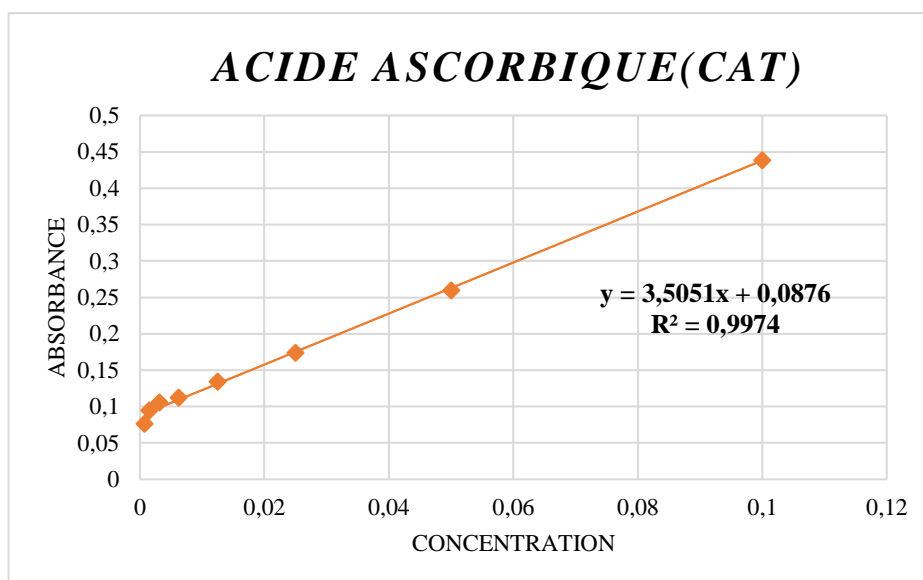


Figure 50 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique.

Les résultats de la capacité antioxydante totale des extraits sont regroupés dans la figure 51 et les valeurs sont exprimées en milligrammes équivalents d'acide ascorbique par gramme de l'extrait sec (mg EAA/g d'extrait).

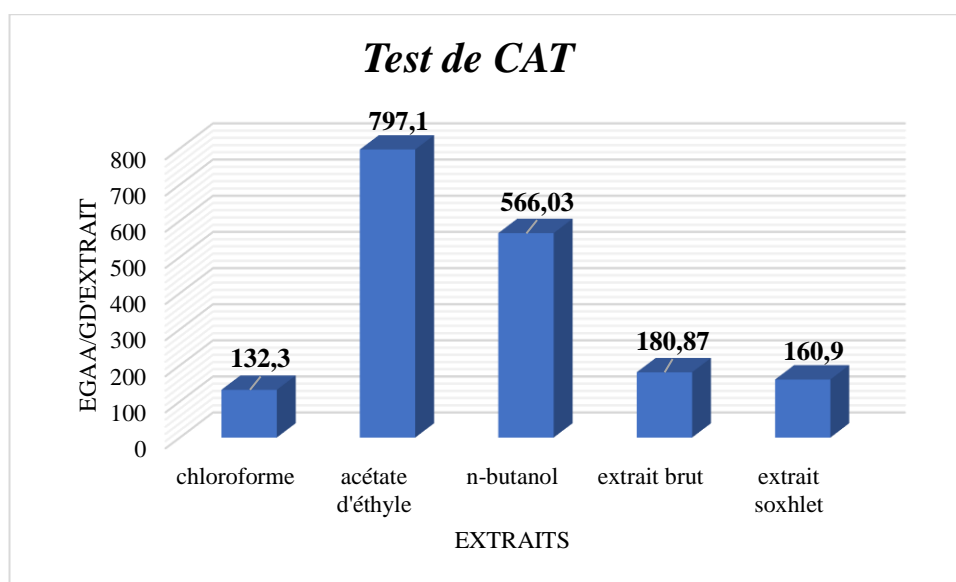


Figure 51 : Les histogrammes représentent l'activité antioxydante des extraits et l'acide ascorbique par la méthode de CAT.

Les résultats obtenus (Tableau 15) indiquent que les extraits d'acétate d'éthyle et n-butanol ont une capacité antioxydante totale d'ordre de 797,1 mg EAA/g d'extrait et 566,03 mg EAA/g d'extrait respectivement supérieure à celles des autres extraits; le brut et le soxhlet et le chloroforme avec des valeurs d'ordre de 180,87 mg EAA/g d'extrait et 160,9 mg EAA/g d'extrait et 132,3 mg EAA/g d'extrait respectivement.

Ces résultats montrent aussi que la capacité de la réduction du molybdène est dépend de type d'extrait à tester, donc on remarque que la capacité de l'extrait d'acétate d'éthyle est plus élevée à celles des autres extraits n-butanol, chloroforme, brut et soxhlet, en comparaison avec l'acide ascorbique comme référence qui révèle une efficacité très élevée.

Tableau 15 : Résultats de la teneur en polyphénol et flavonoïde des extraits exprimés en équivalent gramme de l'acide ascorbique par gramme d'extrait.

Extraits	TAC (mg EAA/g d'extrait)	Teneur en flavonoïdes	Teneur en polyphénols
chloroforme	132.3	3,43	38,1
Acétate d'éthyle	797.1	81	122,79
n-butanol	566.03	28,4	44,88
Extrait brut	180.87	66,3	20,11
Extrait soxhlet	160.90	42,8	15,87

L'examen de ces résultats permet de mettre en évidence une corrélation entre la teneur en flavonoïdes totaux et en composés phénoliques totaux et la capacité antioxydante des extraits. Ceci est logique étant donné que les flavonoïdes représentent les composés majoritaires des polyphénols. Le tableau suivant montre que la capacité antioxydante des extraits étudiés est due à la quantité totale en polyphénols et en flavonoïdes donc la capacité antioxydante des extraits augmente avec l'augmentation de la teneur des polyphénols et flavonoïdes et l'extrait d'acétate possède une capacité antioxydante plus élevée que les autres extraits.

Selon la littérature, les polyphénols possèdent des propriétés redox les plus élevées, ils agissent comme des agents réducteurs, donneur d'hydrogène en piégeant les radicaux libres et en chélatant les ions (Sylvie et al., 2014). Ces composés sont doués d'une capacité réductrice, donc ils peuvent réduire les intermédiaires oxydés lors des processus de peroxydation lipidique, de sorte qu'ils puissent agir en tant qu'antioxydant. Les composés présents dans nos extraits jouent le rôle de réducteurs induisant la réduction du complexe Fe^{3+} en Fe^{2+} . (Habibatni, 2018).

V-4-2- Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de l'HE et des extraits de la partie aérienne de la plante a été évalué *in vitro* vis-à-vis de quatre souches bactériennes par la méthode de diffusion sur disque en milieu gélosé.

L'activité antibactérienne des extraits et de l'HE a été estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les échantillons à tester vis-à-vis les quatre (4) germes ;

Staphylococcus aureus de gram + et *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebseille Pneumoniae SPP* de gram -.

Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau et les figures ci-dessous.

Tableau 16 : Résultats du test antibactérien des quatre extraits et huile essentielle.

Les phases	Concentration	Diamètre de la zone d'inhibition des Souches bactériennes (mm)			
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Klebseille Pneumoniae</i>
chloroforme	8mg/ml	14,52	12,33	13,45	8,35
	4mg/ml	13,75	11,26	-	-
	2mg/ml	11,23	9,83	-	-
	1mg/ml	-	9,70	-	-
	0,5mg/ml	-	-	-	-
	0,25mg/ml	-	-	-	-
Acétate d'éthyle	8mg/ml	10,45	11,84	13,23	-
	4mg/ml	-	11,29	-	-
	2mg/ml	-	10,23	-	-
	1mg/ml	-	-	-	-
	0,5mg/ml	-	-	-	-
	0,25mg/ml	-	-	-	-
N-butanol	8mg/ml	12,74	-	-	9,40
	4mg/ml	-	-	-	-
	2mg/ml	-	-	-	-
	1mg/ml	-	-	-	-
	0,5mg/ml	-	-	-	-
	0,25mg/ml	-	-	-	-
E. Brut	8mg/ml	23,84	18,96	11,87	9,9
	2mg/ml	16,31	9,70	11,66	8,54
	1mg/ml	-	-	9,50	-
Huile essentielle	30mg/ml	23,77	13,17	13,38	11,77
	15mg/ml	-	-	12,71	10,20
	1mg/ml	-	-	12,31	-

Ou: (-) absence d'action inhibitrice

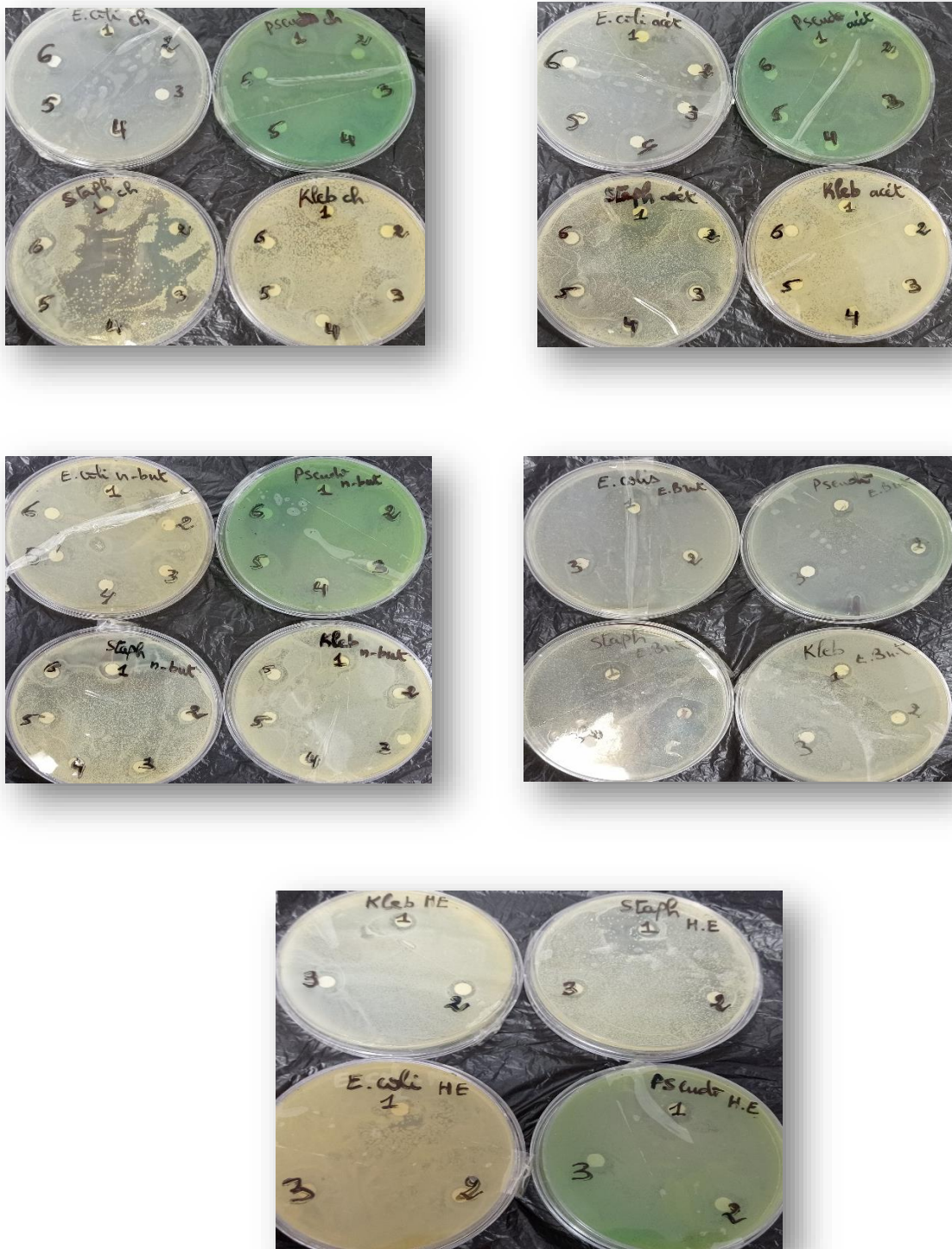


Figure 52: Photos montrant la sensibilité des bactéries avec les quatre extraits et l'huile Essentielle.

D'après les résultats présentés dans le tableau 16, La méthode de diffusion sur disques a montré la présence d'une faible, moyenne et très sensible activité pour nos extraits sur la plupart des souches bactériennes utilisées (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *KlebsiellePneumoniae*).

On constate que l'extrait chloroforme à la concentration 8, 4 et 2 mg/ml montre une activité antibactérienne (sensible) contre *Staph.aureus* avec une zone d'inhibition de 14,52, 13,75 et 11,23 mm respectivement, l'extrait chloroformique montre aussi une activité contre *E.coli* avec une zone d'inhibition de 12,33, 11,26 et 9,83 mm respectivement toujours dans les mêmes concentrations (8, 4 et 2 mg/ml), pour les souches *Pseud.aeruginosa* et *Kleb.Pneumoniae*, on remarque qu'il y a une seule sensibilité de ces souches avec l'extrait chloroformique à la concentration 8mg/ml avec une zone d'inhibition de 13,45 et 8,35 mm respectivement. Par contre aucune activité n'a été observée contre *Pseud.aeruginosa* et *Kleb.Pneumoniae* avec les autres différentes concentrations de même extrait (chloroforme).

L'extrait d'acétate d'éthyle à une concentration de 8 mg/ml montre la présence d'une activité antibactérienne contre *staph.aureus* avec une zone d'inhibition de 10,45mm, et il montre aussi la présence d'une sensibilité contre *E.coli* avec une zone d'inhibition de 11,84, 11,29 et 10,93mm respectivement avec les concentrations suivantes 8, 4 et 2 mg/ml, Pour *Pseud.aeruginosa* la sensibilité ou la zone d'inhibition a été observée uniquement avec la concentration 8mg/ml avec une zone d'inhibition de 13,23mm, par contre aucune activité n'a été observée contre *Kleb.Pneumoniae* dans les différentes concentrations de même extrait.

L'extrait n-butanol à une concentration de 8mg/ml montre une activité antibactérienne contre la souche *staph. Aureus* avec une zone d'inhibition de 12,74mm, par contre aucune activité n'a été observée contre *E.coli*, *Pseud.aeruginosa* et *Kleb. Pneumoniae* avec les différentes concentrations de même extrait, sauf pour *Kleb. Pneumoniae*, il y'a une faible sensibilité avec la concentration 8mg/ml avec une zone d'inhibition de 9,40 mm.

L'extrait brut à la concentrations de 8 et 2mg/ml respectivement, montre la présence d'une sensibilité antibactérienne contre les quatre souches étudiés, pour la *staphylococcus aureus* la zone d'inhibition de 23,84mm et 16,31mm, et pour l' *E.coli* la zone d'inhibition de 18,96 et 9,70mm et enfin *Kleb.Pneumoniae* avec une zone d'inhibition de 9,9mm et 8,54 mm. La même remarque a été observée pour la souche *Pseud. aeruginosa* avec des zone d'inhibition de 11,87 mm et 11,66 mm et 9,50mm, pour les trois concentrations 8mg/ml, 2 mg/ml et 1 mg/ml respectivement.

L'huile essentielle à une concentration de 30mg/ml montre une activité antibactérienne contre les quatre souches *staph.aureus*, *E.coli*, *Pseud.aeruginosa* et *Kleb.Pneumoniae* avec des

zones d'inhibitions de 23,77 mm et 13,17 mm et 13,38 mm et 11,77mm respectivement, Par contre à la concentration 15mg/ml on remarque que la sensibilité a été observé sauf avec *Pseud. Aeruginosa* et *Kleb.Pneumoniae* avec une zone d'inhibition de 12,71 mm et 10,20mm respectivement. Pour *Pseud. aeruginosa*, on remarque qu'il y'a une sensibilité avec l'huile essentielle à la concentration de 1mg/ml avec une zone d'inhibition de 12,31mm.

Enfin on peut dire que l'extrait brut possède une activité antibactérienne classé comme très sensible avec la plupart des souches étudiés à la concentration 8mg/ml, la même remarque pour l'huile essentielle qui possède une sensibilité très élevé vis - à- vis les souches étudiés

L'activité biologique des huiles essentielles sont généralement liés à leur profile chimique et leur potentiel à inhiber la croissance microbienne peut être partiellement expliqué par la variation de leur composition chimique.

L'activité antimicrobienne ne dépend pas seulement de la présence des composés phénoliques, mais également de la présence de divers métabolites secondaires (Kil *et al.*, 2009),

Bien que, l'éthanol et le méthanol fussent les meilleurs solvants que d'autres en extrayant les composés phénoliques, en raison de leur polarité et de leur bonne solubilité pour ces composés, les résultats ont prouvé que l'éthanol était le meilleur solvant pour extraire les composés phénoliques, suivi du méthanol et finalement par de l'eau (Mohsen et Ammar., 2009).

Certains auteurs avancent que plusieurs paramètres peuvent influencer la détermination de l'activité antibactérienne comme : le type des micro-organismes ciblés (Gram+ ou Gram-), la concentration (la résistance des souches bactériennes peut être attribué a la capacité de l'agent antibactérien de diffusé uniformément dans la gélose et aussi la charge du disques par l'agent antibactérien) le type de l'extrait utilisé, et aussi le solvant (s) utilisé pour l'extraction, enfin la partie de la plante utilisée.

V-4-3- Activité anti-inflammatoire

Afin d'évaluer l'effet anti-inflammatoire des extraits (chloroforme, acétate d'éthyle, n-butanol, brut) de la plante, un test de stabilisation membranaire de globules rouges humains a été réalisé. Ce test consiste à incuber une suspension de globules rouges humains, traitée avec une solution hypotonique, avec la référence (le dichlofenac comme anti-inflammatoire). Les résultats sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 17 : Résultats de test anti-inflammatoire des extraits

Les extraits	Concentration	Pourcentage d'inhibition (%)
Chloroforme	1mg/ml	90,04
	0,1mg/ml	94,05
Acétate d'éthyle	1mg/ml	93,20
	0,1mg/ml	94,17
N-butanol	1mg/ml	92,11
	0,1mg/ml	93,93
Brut	1mg/ml	92,11
	0,1mg/ml	92,83
Dichlofénac	1mg/ml	94,29
	0,1mg/ml	93,44

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire par la méthode de stabilisation membranaire HRBC, les extraits sont comparait avec le diclofénac, médicament de référence. D'après les résultats de tableau on remarque que lorsque la concentration diminue, le pourcentage d'inhibition augmente pour tous les extraits, contrairement à le diclofénac (référence) car ce dernier est augmenté en fonction de concentration.

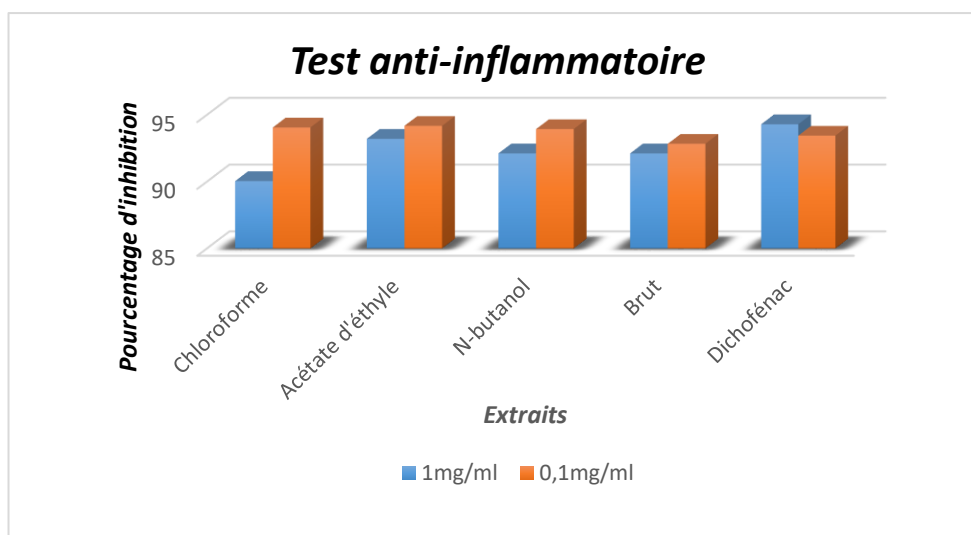


Figure 53 : Les histogrammes représentent l'activité anti-inflammatoire des extraits et le diclofénac.

D'après le tableau le pourcentage d'inhibition élevé pour le diclofénac a une valeur de 94,29 % pour la concentration de 1mg/ml suivi par 93,44% pour la concentration de 0,1mg/ml.

Contrairement, pour les extraits, on remarque que l'acétate d'éthyle a un pourcentage d'inhibition d'ordre 93,20% et 94,17% à la concentration de 1mg/ml et 0,1mg/ml respectivement, la même remarque pour l'extrait n-butanol, l'extrait chloroformique et l'extrait brut qui sont présenté un effet de stabilisation membranaire avec un pourcentage de 92,11%, 90,04% et 92,11% pour une

concentration de 1mg/ml respectivement, le pourcentage d'inhibition pour les mêmes extraits a la concentration 0,1mg/ml sont 93,93%, 94,05% et 92,83% respectivement, toujours par rapport au diclofénac.

Dans cette enquête, l'activité anti-inflammatoire des extraits de la plante *Lonicera* pourrait être due à un ou combinaison des constituants chimiques précités dont les irridoides dont deux aglycones, la loganine aglycone (log-1) et la lonicérine (log-2) et le commun connu glycoside loganine. L'étude a également fourni un dérivé de la coumarine, la 7-hydroxycoumarine (3), et un flavonoïde glycoside, lutéoline-7-O- β -D-glucoside, les flavonoïdes, les acides phénoliques, les coumarines...et les alcaloïdes (Saleh et al, 2009), et d'après les résultats du screening phytochimique de la plante on a trouvé la richesse des extraits que cette dernière par ces métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les acides phénoliques, les coumarines, et les alcaloïdes.

(Dinda et al., 2007) ont été rapporté que ces classes de composés (les flavonoïdes, les acides phénoliques, les coumarines) possédaient diverses activités pharmacologiques importantes, y compris l'activité anti-inflammatoire.

Les études antérieures ont rapporté que les glycosides iridoïdes et ses dérivés possèdent une forte activité anti-inflammatoire par l'action synergique des iridoïdes, flavonoïdes.... et les alcaloïdes (Tundis et al., 2008).

Donc on peut dire d'après ces résultats que la stabilisation des membranes des globules rouges enregistré par les extraits testés semble être due à la capacité de stabiliser les membranes lysosomales et l'inhibition de la libération de leurs constituants. Ces résultats suggèrent que ces extraits possèdent une activité anti-inflammatoire par l'inhibition de l'hémolyse des globules rouges à faible concentration.

La plante *lonicera*, comme toutes les plantes utilisées à des fins thérapeutiques, peuvent à fortes doses présenter une menace pour la santé de l'homme. Pour déterminer ces doses, un test de cytotoxicité a été réalisé sur les globules rouges humains.

Conclusion

Conclusion

Les plantes aromatiques et médicinales sont la source de la majorité des antioxydants naturels et elles restent encore sous exploitées dans le domaine médicale. Dans l'industrie pharmaceutique, sachant que les antioxydants contribuent de manière significative à la prévention des maladies, le développement de nouveaux médicaments à base d'antioxydants d'origine naturelle doit être à l'ordre du jour.

C'est dans ce contexte que nous avons entrepris notre étude qui vise ; caractérisation phytochimique des extraits d'une plante médicinales de l'espèce *Lonicera*, et la recherche de l'activité biologique et des potentialités que peuvent avoir ces extraits, à savoir les activités antioxydante, antibactérienne, anti-inflammatoire et l'identification des composés phénoliques par chromatographie sur couche mince.

Pour l'étude phytochimique, on a réalisé une extraction (liquide-liquide) des principes actifs de la plante par des solvants à différentes polarités (Ether de pétrole, chloroforme, acétate d'éthyle et n-butanol), on a trouvé que l'extrait n-butanol a un bon rendement avec un pourcentage de 4,36%.

Sur le plan screening phytochimique des parties aériennes de cette espèce pour déterminer la nature des métabolites secondaires qu'elle accumule. Cette étude a montré essentiellement la présence de coumarines, triterpènes, tanins, flavonoïdes et saponines.

L'évaluation quantitative des polyphénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu a révélé la présence de quantités importantes de polyphénols dans les extraits de la plante étudiée. Cependant, l'extrait acétate d'éthyle (122,79 µg EAG/g d'extrait) est le plus riche en polyphénols suivi par l'extrait n-butanol (44,88 µg EAG/g d'extrait), et l'extrait chloroforme (34,12 µg EAG/g d'extrait).

En parallèle, la quantification des flavonoïdes a été effectuée par la méthode de trichlorure d'aluminium. Les résultats obtenus par ce dosage nous ont permis de conclure que l'extrait acétate d'éthyle (81 µg EQ/g d'extrait) est le plus riches en flavonoïdes, suivi par l'extrait brut (66,3 µg EQ/mg d'extrait), et l'extrait brut soxhlet (42,8 µg EQ/g d'extrait), l'extrait n-butanol (28,4 µg EQ /g d'extrait), l'extrait chloroforme (3,43 µg EQ/g d'extrait).

L'activité antioxydante a été évaluée par quatre tests différents : l'inhibition du radical DPPH et l'ABTS, le pouvoir réducteur FRAP et la capacité antioxydante totale (TAC). Les résultats ont montré que les extraits possèdent une activité antioxydante et antiradicalaire importante, grâce à leurs constituants (composés polyphénoliques), et on observe que cette activité est élevée dans l'extrait acétate d'éthyle, par rapport à les autres extraits.

Les potentialités antibactériennes de différents extraits et l'huile essentielle sont évaluées par la méthode de diffusion par la gélose sur 4 souches bactériennes : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsielle Pneumoniae SPP*.

Pseudomonas aeruginosa, est sensible avec l'extrait brut et l'huile essentielle dans les différentes concentrations.

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits de la plante étudiée *in vitro* a été réalisée par l'utilisation de la méthode de l'inhibition de l'hémolyse des membranes des globules rouges dans le sang humain. Les résultats de cette étude ont été comparés par rapport à la référence (diclofénac). Les résultats obtenus indiquent que nos extraits ont un pourcentage d'inhibition important à faible concentration avec différents extraits, contrairement pour le diclofénac qui a un pourcentage d'inhibition important à une concentration élevée.

Enfin ce travail va nous ouvrir des horizons de recherche ciblés dans le domaine des plantes utilisées en médecine traditionnelle, notamment en termes de mise en évidence des principes actifs et évaluation de leurs activités biologiques.

Sachant que notre pays possède une biodiversité immense dont chaque plante se caractérise par un réservoir assez important de métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques particulières qui demandent d'être exploitées par des recherches plus approfondies. A cet effet, il est important de :

- ✚ Déterminer de nouvelles substances bioactives naturelles pouvant répondre aux différents problèmes de la santé et d'être un alternatif de médicaments synthétiques.
- ✚ Développer des médicaments antibactériens à base des plantes.
- ✚ Orienter les recherches scientifiques vers la réalisation des études approfondies et complémentaires qui seront nécessaires et devront pouvoir confirmer les performances mises en évidence.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Abadio F., F, D., B D., Kammerer R., Carle R., Tseng WH., Böser S., et Graeve L. (2012). "Antioxidant activity and characterization of phenolic compounds from bacaba (*Oenocarpus bacaba* Mart.) Fruit by HPLC-DAD-MS n." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60(31): 7665-7673.

Adlerl S., et Wink. (2001). Transfer of quinolizine alkaloids analysis of floral and vegetative tissues.

Afonso V., Champy R., Mitrovic D., Collin P et Lomri A. (2007). Reactive oxygen species and superoxide dismutases: role in joint diseases. *Joint Bone Spine*, 74(4), 324-329.

Alwash MS., Ibrahim N et Ahmad WY. (2003). Identification and mode of action of antibacterial components from *melastoma malabathricum* linn leaves. *american journal of infectious diseases*.9(2):46-58.

Andjelkovic M et al. (2006). Iron chelation properties of phenolic acids bearing catechol and galloyl groups. *Foodchem*, 98(1):23-31.

Babar Ali M., Hahn EJ., Paek KY. (2007). Methyl Jasmonate and Salicylic Acid Induced Oxidative Stress and Accumulation of Phenolics in *Panax ginseng* Bioreactor Root Suspension Cultures.

Bakasso S. (2009). Études phytochimiques et potentialités biologiques de cinq espèces d'indigofera (*fabaceae*) utilisées en médecine traditionnelle au Burkina Faso (Thèse de Doctorat), Université d'Ouagadougou.

Balasundram N., Sundram K et Samman S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-product: antioxidant activity, occurrence; and potential uses. *Food Chemistry*. 9: 191 - 120.

Basaran A., Akdemir Z., Yuruker A., and Calis I. (1988). Iridoid and secoiridoid glucosides from *Lonicera etrusca*. *Fitoterapia*, 59, 389-92.

Belfekih F., El Yahyaoui O., Chleh M., Abdellahi LO., Sammama A., Aicha L et Bengueddour R. (2017). Screening photochimique d'*Arbutus unedo* L. *American Journal of Innovative Research and Applied Sciences*. 5(3) : 237-245.

Bénard C. (2009). Etude de l'impact de la nutrition azotée et des conditions de culture sur le contenu en polyphénols chez la tomate. Thèse de Doctorat : Université de NANCY.

Benslama A., Harrar A. (2016). Free radicals scavenging activity and reducing power of two Algerian Sahara medicinal plants extracts. *International Journal of Herbal Medicine*, 4(6), 158-161.

Blanc MC., Moinard C & Cynober L. (2005). Monoxyde d'azote. Radicaux libres et stress oxydant. Paris, France : Lavoisier.

Boizot N., Charpentier JP. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Méthodes et outils pour d'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques, INRA, pp 79-82.

Bouchouka E. (2016). Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes Sahariennes (Thèse de doctorat). Université Badji Mokhtar-Annaba.

Bougandoura N et Bendimerad N. (2012). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp. Nepeta (L.)* Briq. *Nature & Technologie*. 9: 14- 19.

Bounatirou S., Smiti S., Miguel MG., Flleiro L., Rejeb MN., Neffati M., Costa MM., Figueiredo AC., Barosso JG., Pedro LG. (2007). Chemical composition and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff.et Link. *Food Chemistry* ; Vol. 105 ; pp 146-155.

Bruneton J. (1987). Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales. 1^{er} Edition. Lavoisier. TEC et DOC. Paris.

Bruneton J. (1993). Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales. 2^{ème} Edition. TEC et DOC. Paris. P. 266-271.

Bruneton J. (1993). Pharmacognosie. Phytochimie. Plantes médicinales. 1^{ère} éd. Lavoisier. Paris.

Bruneton J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales. 4^{ème} Edition. TEC et DOC. Paris. P. 1-50.

Bruneton J. (2009). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4^{ème} Ed. Paris : Tec & Doc, Lavoisier.

Buchanan B., Gruissem W & Jones R. (2000). Biochemistry & molecular biology of plants (1^e éd.). Maryland, USA: American society of plant physiologists.

Burt S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *International Journal of Food and Microbiology*. 94: 223-253.

Cabrera M., Simoens M., Falchi G., Lavaggi ML., Piro OE., Castellano EE., Vidal A., Azqueta A., Monge A., de Ceráin AL., Sagra G., Seoane G., Cerecetto H., González M. (2007). Synthetic chalcones, flavanones, and flavones as antitumoral agents: Biological evaluation and structure–activity relationships. *Bioorg. Med. Chem.* 15, 3356–3367. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2007.03.031>

Cannon CP., Cannon PJ. (2012). COX-2 inhibitors and cardiovascular risk. *Science*. 336(6087), 1386-1387.

Carillon A. (2009). Place de la phytothérapie dans les systèmes de santé au XXI^os.

Carip C. (2008). Microbiologie Hygiène, Bases microbiologiques de la diététique. Edition Tec&Doc, Lavoisier, Paris. P : 79, 102, 103.

Chira K., Such JH., Saucier C., Teissèdre PL. (2008). Les polyphénols du raisin. Ed : Springer. 6(2) :75-82.

Collin S., & crouzet j. (2011). Polyphénols et procédés, éditions, Tec et Doc, paris.

Coolborn AF et Bolatito B. (2010). Antibacterial and phytochemical evaluation of three medicinal plants. *J Nat Prod.* 3: 27-34.

Cowan MM. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clin Microbiol. Rev,* 12(4): 564- 582.

Crozier A., Clifford MN., Ashihara H. (2008). Plant secondary metabolites: occurrence,

Crozier A., Jensen E., Lean MEJ., McDonald MS. (1997). Quantitative analysis of flavonoids by reversed phase high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* 761, 315–321. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(96\)00826-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(96)00826-6)

Cuendet M. (1999). Recherche de nouveaux composés capteurs de radicaux libres et antioxydants à partir d'une plante d'indonésie, fagraea blumel (L loganiaceae) et de trois plantes d'altitude, Bartsia alpina (Scrophlariaceae), Loiseleuria procumbens (Ericaceae) et Campanula barbata (Campanulaceae), Thèse de doctorat. Faculté des sciences de l'université de Lausanne.p. 24.

Daglia M. (2012). Polyphenols as antimicrobial agents. *Curr. Opin. Biotechnol.,* 23(2): 174- 81.

Dapkevicius A., Venskutonis R., Van BTA., and Linssen JPH. (1998). Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. *Journal science food agriculture,* 77, 140-146.

Day RO., Graham GG. (2016). Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs: Overview. *Compendium of Inflammatory Diseases.* 986-993.

Debete Judith M. (2005). Etude phytochimique et pharmacologique de Cassia nigricans Vahl (Caesalpinaceae) utilisé dans le traitement des dermatoses au Tchad. Thèse de doctorat de l'université de Bamako.

Dicko MH., Gruppen H., Traoré AS., Voragen AGJ., & Van Berkel WJH. (2006). Phenolic compounds and related enzymes as determinants of sorghum for food use. *Biotechnology and Molecular Biology Review* 1 (1), 21-38.

Dinda B., Debnath S., Harigaya Y. (2007). Naturally occurring iridoids, A review, part 1, *ChemPharm Bull.,* 55:159–222.

Dreher D & Junod AF. (1996). Role of oxygen free radicals in cancer development. *European Journal of cancer,* 32(1), 30-38.

Dupont F., Guignard JL. (2012). Botanique, les familles de plantes. 15ed. France.

Duraffourd C., D'hervicourt L., et Lapraz J. (1990). Cahier de phytothérapie clinique. Examens de laboratoire galénique. Éléments thérapeutiques synergiques .2ème éd. éd. Masson.23-37.

Ekoumou C. (2003). Etude phytochimique et pharmacologique de 5 recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et de la cystite Thèse de doctorat de l'université de Bamako.

Epifano F., Genovese S., Menghini L., Curini M. (2007). Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites, Review, *Phytochemistry*; 68:939- 953.

Fabre N., Rustan I., de Hoffmann E., Quetin-Leclercq J. (2001). Determination of flavone, flavonol, and flavanone aglycones by negative ion liquid chromatography electrospray ion trap mass spectrometry. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 12, 707–715. [https://doi.org/10.1016/S1044-0305\(01\)00226-4](https://doi.org/10.1016/S1044-0305(01)00226-4)

Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi, N., Boulaaba M., Abdelly C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities .*C. R. Biologies.* Vol. 331 ; pp 372-379.

Favier A. (2003). Le stress oxydant, intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique.* P. 108-115.

Favier A. (1997). Le stress oxydant : intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. *Annales de Biologie Clinique.* 55(1) :9-16.

Ferrari J. (2002). Contribution à la connaissance du métabolisme secondaire des thymelaeaceae et investigation phytochimique de l'une d'elle : *Gnidia involucrata* Steud. A. Rich, Thèse de doctorat de l'université de Lausanne.

Ferrari J. (2002). Contribution à la connaissance du métabolisme secondaire des Thymelaeaceae et investigation phytochimique de l'une d'elles : *Gnidia involucrata* Steud. Ex A. Rich. Thèse de doctorat. Lausanne.

Fraga CG. (2009). Plant phenolics and human health: Biochemistry, Nutrition, and Pharmacology. John Wiley & Sons Edition, pp 5-13.

Ghedira K. (2005). Les flavonoïdes : structures, propriétés biologiques, rôles prophylactiques et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie.* 04: 162-169.

Gomez-Caravaca AM., Gomez-Romero M., Arraez-Roman D., Segura-Carretero A., Makoi JHJR., & Ndakidemi PA. (2007). Biological, ecological and agronomic significance of plant phenolic compounds in rhizosphere of the symbiotic legumes. *African Journal of Biotechnology,* 6, 1358-1368.

Govindappa M., Poojashri MN., Santoyo G et al. (2011). « Activité antimicrobienne, antioxydante et anti-inflammatoire in vitro et criblage phytochimique de l'extrait aqueux de *Wedelia trilobata* (L.) Hitchc », *Journal de recherche sur les plantes médicinales,* vol. 5, n° 24, p. 5718-5729.

Greuter W. (1991). Botanical diversity, endemism, rarity, and extinction in the Mediterranean area: An analysis based on the published volumes of Med-Checklist. *Botanical Chronicles* 10: 63–79.

Hammer KA., Carson CF., & Riley TV. (1999). « Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts ». *J. Appl Microbiol.* 86(6):985-990.

Harborne JB. (1998). *phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis.* Chapman & Hall Thomson Science (UK). 3^{ème} édition. P. 203-234.

Hart JH. (1981). Role of Phytostilbenes in Decay and Disease Resistance. *Annual review of Phytopathology* 19: 437–58.

Hartman T. (2007). From waste products to ecochemicals, Fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry*; 68: 2831-2846.

Haslam E. (1975). Natural Proanthocyanidins, in: *The Flavonoids.* Springer, Boston, MA, pp. 505–559. https://doi.org/10.1007/978-1-4899-2909-9_10

Haslam E. (1982). Proanthocyanidins, in: *The Flavonoids.* Springer, Boston, MA, pp. 417–447. https://doi.org/10.1007/978-1-4899-2915-0_7

Hostettmann K., Potterat O., Wolfender JL. (1998). the potential of higher plants as a source of new drugs. *Chimia.* 52, 10-17. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00102-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00102-2)

Hubert AJ. (2006). Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de soja. Etude des voies de sa valorisation en nutrition et santé humaine. Thèse de doctorat en qualité et sécurité des aliments de l'Institut National Polytechnique de Toulouse. France 174p.

Hurabielle M. (1981). Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie. Tome 1. éd. Masson .182-189.

I M. Transdisciplinaires. (2008). « Item 174- Prescription et surveillance des anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens », In : *Annales de dermatologie et de vénéréologie*, Vol. 135, p. 163-167.

Iris FF B., and Wachtel-Galor S. (2011). *Herbal medicine – Biomolecular and clinical aspects.* 2^{ème} édition, CRC Press, Taylor and Francis Group, 1-10.

Joshi S., Shrestha et Bajracharya DM. (2013). Secondary metabolite variation in some species of *Senecio L.* from Nepal Himalaya. *The Pharma Innovation.* 2(1) : 2277-7695.

Julve Ph. (2021). Baseflor. Index botanique, écologique et chorologique de la flore de France. <https://www.tela-botanica.org/projets/phytosociologie>

Kar B., Kumar RS., Karmakar I et al. (2012). « Antioxidant and in vitro anti-inflammatory activities of *Mimusops elengi* leaves », *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, vol. 2, no 2, p. 976-980.

Kassis-Chikhani N. (2012). *Klebsiella pneumoniae* pathogène nosocomial résistance et virulence, thèse de doctorat, Université Pierre et Marie Curie, Paris 6, pp 9-63.

Katano N., Yamamoto H., Iio R., and Inoue K. (2001). 7-Deoxyloganin 7- hydroxylase in *Lonicera japonica* cell cultures. *Phytochemistry*, 58, 53-58.

- Kessel L., Tendal B., Jørgensen KJ., Erngaard D., Flesner P., Andresen JL., Hjortdal J. (2014).** Post-cataract prevention of inflammation and macular edema by steroid and nonsteroidal anti-inflammatory eye drops: a systematic review. *Ophthalmology*. 121(10), 1915-1924.
- Khadidja R. (2002).** « Etude du mécanisme de l'action bactéricide de HE sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum* », Thèse de Doctorat d'état. En biologie cellulaire et moléculaire appliquée à l'environnement et la santé. Fès.
- Kim HP., Son KH., Chang HW., Kang SS. (2004).** Anti-inflammatory plant flavonoids and cellular action mechanisms. *Journal of pharmacological sciences*. 96(3), 229- 245.
- Klejdusa B., Kopecký J., Benesová L., and Vaceka J. (2009).** Solid-phase/supercritical-fluid extraction for liquid chromatography of phenolic compound in freshwater microalgae and selected cyanobacterial species. *Journal of chromatography a*, 1216, 763-771.
- Kumar S., Sati OP., Semwal VD., Nautiyal M., Sati S., and Takeda Y. (2005).** Iridoid glycosides from *Lonicera quinquelocularis*. *Phytochemistry*, 53, 499-501.
- Kurkin VA. (2003).** Phenylpropanoids from medicinal plants: distribution, classification, structural analysis, and biological activity. *Chemistry of Natural Compounds*, 39(2) :123-153.
- Lamendin H. (2004).** Huiles essentielles en diffusion atmosphérique. *Chir. Dent. Fr*, 1185, 78-80.
- Leclerc H., Gaillard JL., Simonet M. (1995).** Microbiologie générale, la bactérie et le monde bactérien. Doin Editeurs, Paris.
- Lee JY., Park HR., Moon SO., Kwon YJ., Rhee SJ., Choi SW. (2004).** Identification and quantification of anthocyanins and flavonoid in mulberry (*Morus sp.*) cultivars. *Food Sci. Biotechnol.*
- Li X., Li N., Sui Z., Bi K., Li Z. (2017).** An investigation on the quantitative structure-activity relationships of the anti-inflammatory activity of diterpenoid alkaloids. *Molecules*. 22(3), 363.
- Li-Mei L., Xiao-Guang Z., Jing-Jing Z., Hui-Min G., Zhi-Min W., and Wei-Hao W. (2008).** Two new triterpenoid saponins from the flowers and buds of *Lonicera japonica* J. *Asian Nat. Prod Res.*, 10, 925-929.
- Lorrain E. (2013).** 100 questions sur la phytothérapie. Ed. La Boétie, Italie.
- Macheix JJ., Fleuriet A and Jay-Allemand C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed. Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne, p. 4-5.
- Madigan MT., Martinko JM & Parker J. (1997).** *Biology of Microorganisms*. Prentice Hall Upper Saddle River Press, London. 8th Ed 986 pp.
- Manthey JA. (2000).** Biological properties of flavonoids pertaining to inflammation. *Microcirculation*, 7(S1).
- Marc T., Gerard W., Denis L. (2001).** Classification des anti-inflammatoires in *Guide pharmacologie*. Etudiants et professionnels paramédicaux. 4ème Edition. P 426.

- Marouf A. (2011).** « Plantes natives d'Algérie » <http://www.algerianativeplants.net>.
- Martin D., Bolling B. (2017).** Anti-inflammatory Activity of Aronia Berry Polyphenols in Jurkat T Cells. *The FASEB Journal*. 31(1), 166-4.
- Martin S & Andriantsitohaina R. (2002).** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. In *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie* (Vol. 51, No. 6, pp. 304-315). Elsevier Masson.
- Mattila P and Helstrom J. (2007).** Phenolic acids in potatoes, vegetables and some of their products. *J. Food Compos. Anal.*, 20(3-4):152-160.
- Mbarek LA., Mouse HA., Elabbadi N., Bensalah M., Gamouh A., Aboufatima R0., Benharref A., Chait A., Kamal M., Dalal A., Ziad A. (2007).** Anti-tumor properties of blackseed (*Nigella sativa* L.) extracts. *Brazilian Journal of Medicinal and Biological Research*. 40: 839-847.
- Meltzer HM., et Maltrud. (1997).** Caudal influence the development of coronary heart disease. *Scand. J. Nutr.*
- Mérillon JM., Fauconneau B., Waffo Teguo P., Barrier L., Vercauteren J., and Huguet F. (1997).** Antioxidant Activity of the Stilbene Astringin, Newly Extracted from *Vitis vinifera* Cell Cultures. *Clinical Chemistry* 43: 1092–1093.
- Mollavali M., Bolandnazar SA., Schwarz D., Rohn S., Riehle P., Zaare Nahandi F. (2016).** Flavonol glucoside and antioxidant enzyme biosynthesis affected by mycorrhizal fungi in various cultivars of onion (*Allium cepa* L.). *J. Agric. Food Chem.* 64, 71–77.
- Monti D., Chetoni P., Burgalassi S., Najarro M0., Sætton MF., & Boldrini E. (2002).** Effect of different terpene-containing essential oils on permeation of estradiol through hairless mouse skin. *International Journal of Pharmaceutics*, 237: 209-214.
- Moore P., Ginwala R., Revuri N., Kranz VA., Houle JD., Khan ZK., Jain P. (2017).** Nutraceutical Apigenin: mechanism of action associated with its anti-inflammatory activity and regulation of dendritic cell metabolism. *Journal of Immunology*. 198 (1), 219.
- Moulin M. (1998).** Pharmacologie. Masson, Paris, p 708.
- N'gaman Kohué CC. (2009).** Sur la composition en métabolites secondaires et l'activité antioxydante d'extraits Bruts de *Gmelina Arborea Roxb.* (Verbanaceae) de Côte d'Ivoire, Afrique de l'Ouest : Analyse par Chromatographie en Couche Mince. *Euro Journals Publishing*. 36(2) : 161-171.
- N'Guessan K., Kadja B., Zirihi G., Traoré D et Aké-Assi L. (2009).** Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Sciences & Nature*. 6(1).
- Ohinishi M., Morishita H., Iwahashi H., Shizuo T., Yoshiaki S., Kimura M., Kido R. (1994).** Inhibitory effects of chlorogenic acids on linoleic acid, peroxidation and haemolysis. *Phytochemistry* 36: 579–583.

Oussou KR. (2009). Etude chimique et activités biologiques des huiles essentielles de sept plantes aromatiques de la pharmacopée Ivoirienne. Doctorat de l'Université de Cocody-Abidjan, 241p.

Pastre J. (2005). Intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques (Doctoral dissertation).

Patel K., Panchal N., Ingle P. (2019). Techniques Adopted for Extraction of Natural Products, Extraction Methods: Maceration, Percolation, Soxhlet Extraction, Turbo distillation, Supercritical Fluid Extraction. *International Journal of Advanced Research in Chemical Science (IJARCS)*, 6(4): 1-12.

Pibiri M. (2006). Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de doctorat, école polytechnique fédérale de Lausanne. P 161.

Pisoschi AM., Cheregi MC., Danet AF. (2009). Capacité antioxydante totale de quelques jus de fruits commerciaux : approches électrochimiques et spectrophotométriques. 14(1) :480-93.

Ponce AG., Fritz R., Del Valle C et Roura SI. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWI-Food Science Technology*. 36(7) : 679-684.

Prouillac C. (2009). Synthèse et évaluation de nouveaux composés organique et phosphorés contre les effets des rayonnements ionisants. Etude de leur mécanisme d'action in vitro. Thèse de doctorat, Université Paul Sabatier Toulouse III.

QUEZEL P., SANTA S. (1962). *La nouvelle flore de l'Algérie et des régions méridionales désertiques*. 2T. Guide illustré de la flore algérienne Description des plantes natives d'Algérie, p 61.

Ramamoorthy S., Cidlowski JA. (2016). Corticosteroids: mechanisms of action in health and disease. *Rheumatic Disease Clinics*. 42(1), 15-31.

Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M et Rice-Evans C. (1999). Antioxydant activity applying and inapoved ABTS radical cation decolorization assay free radical biology and medicine, 26: 1231-1237.

Ref'at AA., Takruri HR., and Al-Sayyed H. (2008). Tannin Contents of Selected Plants Used in Jordan.

Ren W., Qian Z., Wang H., Zhu L., Zhang L. (2003). Flavonoids: Promising anticancer agents. *Medicinal Res Rev*, 23(4), 519–534.

Renaud SC., and De Lorgeril M. (1992). Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet*, 339, 1523-1526.

Richard LN and Stussman BJ. (2009). Costs of Complementary and Alternative Medicine (CAM) and Frequency of Visits to CAM Practitioners: United States, 2007. National Health Statistics Reports. 18, 15.

Robert D., & Catesson AM. (2000). Biologie végétale : caractéristiques et stratégie évolutives des plantes. Organisation végétative. Wolters Kluwer France Edition, Volume2, p 320.

Roulier G. (1992). « Les huiles essentielles pour votre santé. Traité pratique d'aromathérapie : propriétés et indications thérapeutiques des essences de plantes ». Edt. Dangles. France.

Ryma LABIOD. (2016). Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calamintha nepeta* : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide (Doctoral dissertation, Université BADJI Mokhtar Annaba).

Sabri FZ., Belarbi M., Sabri S., Alsayadi MA. (2012). Pytochemical screening and identification of some compounds from Mallow. *Scholars Research Library*. 2(4):512- 516.

Sadique J., Al-Rqobahs WA., Bughaith EI et al. (1989). « The bioactivity of certain medicinal plants on the stabilization of RBC membrane system », *Fitoterapia.*, vol. 60, no 6, p. 525-532.

Saffidine K. (2015). Etude analytique et biologique des flavonoïdes extraits de *Carthamus caeruleus* L. et de *Plantago major* L (Thèse de Doctorat). Université Farhat Abbes de Sétif.

Saleh I. Alqasoumi., Adnan J. Al-rehaily., and Maged S. Abdel-Kader. (2009). Constituents of the Aerial parts of *Lonicera etrusca* Growing in Saudi arabia. *Natural product sciences*, 15(3) :121-124.

Salle JL., et Pelletier J. (1991). Les huiles essentielles. Synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie. Ed. Frison-Roche.19-45.

Salvador A., Alberto C. (2007). Analysis of Cosmetic Products. Elsevier London: 217p.

Sanchez S. (2015). *Antibiotics*. Caister Academic Press. saponoside from *Scabiosa rotata*. J. Fac. Pharm. Gazi. Univ. 14, 31-36.

Savithamma N., Rao ML et Suhrulatha D. (2011). Screening of medicinal plants for secondary metabolites. *Middle-East Journal of Scientific Research*. 8(3): 579-584.

Senhaji O., Faid M., Elyachioui M et Dehhaoui M. (2005). Étude de l'activité antifongique de divers extraits de cannelle. *Journal de Mycologie Médicale*. 15(4) : 220-229.

Siani AC., Ramos MF., Menezes-de-Lima OJR., Ribeiro-dos-Santos R., Fernadez-Ferreira E., Soares RO., Rosas EC., Susunaga GS., Guimarae AC., Zoghbi MG., &Henriques MGC. (1999). Evaluation of anti-inflammatory-related activity of essential oils from leaves and resin of *Protium*. *Journal of Ethnopharmacology*. 66: 57-69.

Singleton P. (1999). Bactériologie. 4ème édition, Dunod, Paris. P: 387, 391, 392.

Škerget M et Al. (2005). Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxydant activities. *Foodchem.*, 89(2) :191-198.

Sofowora A. (2010). Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. Académie suisse des sciences naturelles : Karthala.

Solène J. (2012). La qualite des huiles essentielles et son influence sur leur eficacite et sur leur toxicite. Thèse de diplôme d'état de docteur en pharmacie, faculte de pharmacie, Université de Lorraine.

Strack D., Wray V., Metzger JW., Grosse W. (1992). Two anthocyanins acylated with gallic acid from the leaves of *Victoria amazonica*. *Phytochemistry, the International Journal of Plant Biochemistry* 31, 989–991. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(92\)80054-I](https://doi.org/10.1016/0031-9422(92)80054-I)

Structure and role in the human diet. John Wiley & Sons.

Tabuti JRS., Lye KA., Dhillon SS. (2003). Traditional herbal drugs of Bulamogi, Uganda: plants, use and administration. *J. Ethnopharmacol.* 88, 19-44.

Takeuchi K. (2012). Pathogenesis of NSAID-induced gastric damage: importance of cyclooxygenase inhibition and gastric hypermotility. *World journal of gastroenterology: WJG.* 18(18), 2147.

Thao NP., Luyen BTT., Tai BH., Woo MH., Manzoor Z., Ali I., Kim YH. (2017). A new saponin from *Acanthopanax koreanum* with anti-inflammatory activity. *Archives of pharmacal research.* 40(3), 311-317.

Thomas A., South S., Lucero J., Prasad C., Imrhan V., Vijayagopal P., Juma S. (2017). Anti-Inflammatory effects of tart cherry polyphenols in RANKL-Stimulated RAW 264.7 murine macrophages. *The FASEB Journal.* 31(1), 972-14.

Thomas D. (2016). Les antioxydants de nos jours : définition et applications (Doctoral dissertation, Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, Université de Limoges).

Tundis R., Loizzo MR., Menichini F., Statti GA., Menichini F. (2008). Biological and pharmacological activities of iridoids: recent developments, *Mini Rev. Med. Chem.*, 8.

Turkoglu A., Duru ME., Mercan N., Kivrak I., Gezer K. (2007). Antioxidant and antimicrobial activities of *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill. *Food Chemistry.* 101(1), 267-273.

Umezawa T. (2003). *Phytochem. Rev.* 2, 371–390.

Umezu T. (1999). Anticonflict effects of plant-derived essential oils. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 64: 35-40.

Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin MT., Mazur M., Telser J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 39; 44-84.

Valko M., Rhodes CJ., Moncol J., Izakovic M et Mazur M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions.* 160:1-40.

Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160(1), 1-40.

Vermerris W., Nicholson R. (2006). Phenolic compound biochemistry, Springer, Dordrecht, ISBN : 1001-4020-5163-8.

Vivas de Gaulejac N. (2002). Manuel de Tonnellerie. Bordeaux : Féret.

Wegrzyn R., and Lamendinh H. (2005). Huiles essentielles et aromathérapie bucco-dentaire. *Le Chirurgien-dentiste de France*, 1225, 62-66.

Willfor SM., Smeds AI., Holmbom BR. (2006). *J. Chromatogr. A*, 1112, 64–77.

Wollgast J., Anklam E. (2000). Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification, *Food Research International*, 33, 423-447.

Wu P., Gao H., Liu JX., Liu L., Zhou H., Liu ZQ. (2017). Triterpenoid saponins with anti-inflammatory activities from *Ilex pubescens* roots. *Phytochemistry*. 134, 122-132.

Xin-Hua Chen., le -Xian Xia., Hong-Bo Zhou and Guan Zhou Qiu. (2010). Chemical composition and antioxidant activities of *Russula griseocarnosa* sp .nov, agricultural and food chemistry 58,6966-6971.

Zhao RJ., Koo BS., Kim GW., Jang EY., Lee JR., Kim MR., Kim SC., Kwon YK., Kim KJ., Huh TL., Kim DH., Shim I., Yang CH. (2005). The essential oil from *Angelica gigas* NAKAI suppresses nicotine sensitization. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 28: 2323-2326.

Zhilong W., Jianhua W., Yinshi S., Shengbo L., and Hanzhong W. (2008). Purification of caffeic acid, chlorogenic acid and luteolin from *Caulis Lonicerae* by high-speed counter-current chromatography. *Separation and Purification Technology*, 63, 721-724.

Zhishen J., Mengcheng T., Jianming W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem*. 64, 555–559.

Zhou Q., Lin FF., Liu SM., Sui XF. (2017). Influence of the total saponin fraction from *Dioscorea nipponica* Makino on TLR2/4-IL1R receptor signal pathway in rats of gouty arthritis. *Journal of ethnopharmacology*. 206, 274-282.

Zuhal G., Hilal O., Ayse K., Cavit K., Omur D. (2012). Chemical constituents of *Lonicera estrusca*. *Chemistry of natural compounds*, vol. 48, No. 4.

Résumé

Le genre *Lonicera* appartient à la famille caprifoliaceae est une plante riche en métabolite secondaire tel que les huiles essentielles et composés phénoliques

Notre étude a été axée sur l'étude phytochimique de cette plante : l'évaluation de la teneur en polyphénol et flavonoïde totaux de cette plante, et l'étude de leur activité biologique tel que l'activité antioxydante, l'activité antibactérienne et l'activité anti-inflammatoire.

La teneur en polyphénol et en flavonoïde ont été réalisées grâce à la réaction de colorimétrie. On a trouvé que l'extrait le plus riche est celui de l'acétate d'éthyle avec une valeur de (122,79µg EAG/g d'extrait) pour les polyphénols, et (81 µg EQ/g d'extrait) pour les flavonoïdes respectivement. L'activité antioxydant a été évaluée par les méthodes suivantes (DPPH, ABTS, FRAP et TAC), Les résultats ont montré que les extraits ont un pouvoir antioxydant important, grâce à leurs richesse en constituants polyphénoliques, on a trouvé que l'extrait acétate d'éthyle est le plus puissant par rapport aux autres extraits. L'évaluation de l'activité antibactérienne a été réalisée par la méthode de diffusion sur la gélose, les résultats obtenus montrent que les huiles essentielles et l'extrait brut ont une activité antibactérienne très intéressante avec des zone d'inhibition d'ordre 23,84mm et 23,77mm pour la *staph aureus* à la concentration 8 mg/ml et 30mg/ml respectivement. L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits de la plante étudiée *in vitro* a été réalisée par l'utilisation de la méthode de l'inhibition de l'hémolyse des membranes des globules rouges dans le sang humain on a trouvé que les extraits de notre plante ont une activité anti-inflammatoire à faible concentration.

Mots clés : caprifoliaceae, polyphénols, activité antioxydante, activité antibactérienne, huiles essentielles.

Abstract

The genus *Lonicera* belongs to the caprifoliaceae family is a plant rich in secondary metabolite such as essential oils and phenolic compounds.

Our study focused on the phytochemical study of this plant: the evaluation of the total polyphenol and flavonoid content of this plant, and the study of their biological activity such as antioxidant activity, antibacterial activity and anti-inflammatory activity. The polyphenol and flavonoid content were determined using colorimetry reaction. It was found that the richest extract is that of ethyl acetate with a value of (122.79µg EAG/g of extract) for polyphenols, and (81µg EQ/g of extract) for flavonoids respectively. The antioxidant activity was evaluated by the following methods (DPPH, ABTS, FRAP and TAC), The results showed that the extracts have a significant antioxidant power, thanks to their richness in polyphenolic constituents, it was found that the acetate extract ethyl is the most potent compared to other extracts. The evaluation of the antibacterial activity was carried out by the method of diffusion on the agar, the results obtained show that the essential oils and the crude extract have a very interesting antibacterial activity with zones of inhibition of order 23,84 mm and 23,77 mm for *staph aureus* at the concentration of 8mg/ml and 30mg/ml respectively. The evaluation of the anti-inflammatory activity of the extracts of the plant studied *in vitro* was carried out using the method of inhibition of hemolysis of the membranes of red Blood cells in human blood it was found that the extracts from our plant have anti-inflammatory activity at low concentrations.

Key word : caprifoliaceae, polyphenols, antioxidant activity, antibacterial activity, essential oils.

المخلص

ينتمي نبات *Lonicera* الى عائلة caprifoliaceae وهو نبات غني بمركبات الميتابوليزم الثانوي مثل الزيوت الاساسية والمركبات الفينولية. ركزنا في دراستنا هذه على الدراسة الفيتوكيميائية لهذا النبات: من بينها تقييم المحتوى الكلي من مادة البوليفينول والفلافونويد، ودراسة نشاطها البيولوجي مثل: نشاط مضادات الاكسدة والنشاط المضاد للبكتيريا والنشاط المضاد للالتهابات. تم تحديد محتوى البوليفينول والفلافونويد باستخدام تقاعلات قياس الالوان، وجد ان اغنى مستخلص هو اسيتات الايثيل بقيمة (122,79 ميكروغرام مكافئ /جم من المستخلص) للبوليفينول ، (81 ميكروغرام مكافئ / غرام من المستخلص) للفلافونويد على التوالي. تم تقييم النشاط المضاد للاكسدة بالطرق التالية، (DPPH, ABTS, FRAP) وأظهرت النتائج ان المستخلصات لها قوة كبيرة كمضاد للاكسدة ، وذلك بفضل ثراءها في مكونات البوليفينول ، ووجد ان خلاصة الاسيتات الايثيل هي الاكثر قوة مقارنة بالمستخلصات الاخرى .تم اجراء تقييم النشاط المضاد للبكتيريا من خلال طريقة الانتشار على الجيلوز، وأظهرت النتائج التي تم الحصول عليها ان الزيوت الاساسية و المستخلص الخام لهما نشاط مضاد للجراثيم مثير للاهتمام بقطر تثبيط بالترتيب 23,84مم و23,77 مم للمكورات العنقودية بتركيز 8ملغ/مل و 30ملغ/مل على التوالي.تم اجراء تقييم النشاط المضاد للالتهابات لمستخلصات النبات المدروس في المختبر باستخدام طريقة تثبيط انحلال الدم لا غشبية خلايا الدم الحمراء في دم الانسان، ووجد ان المستخلصات من نباتنا لها نشاط مضاد للالتهابات بتركيز منخفضة.

الكلمات المفتاحية: متعدد الفينولات، عائلة caprifoliaceae، نشاط مضاد الاكسدة، نشاط مضاد البكتيريا، الزيوت الاساسية.