

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
جامعة عمار تليدجي بالأغواط  
UNIVERSITÉ AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم  
FACULTE DES SCIENCES  
قسم البيولوجيا  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



## Mémoire

*En vue de l'obtention du diplôme de Master*

*Filière : Sciences Biologiques*

*Option : Biochimie Appliquée*

## THEME

---

**Contribution à l'étude des activités antioxydante et antimicrobienne  
des feuilles , fruits et fleurs de l'espèce  
*Erysimum gramineum pomel***

---

Présenté par :

- *Boudelàa wiam roufaida*
- *Djedouel meriem*

Devant le jury composé de :

M. ZERROUK Salim	MCA (Université Amar Téliidji, Laghouat)	Président
Mlle. ZAKHROUF Zohra	MAA (Université Amar Téliidji, Laghouat)	Examinatrice
Mme ELHOUITI Fatiha	MCA (Université Amar Téliidji, Laghouat)	Rapporteur
Mme NEBEG Halima	MCB (Université Amar Téliidji, Laghouat)	Co-Rapporteur

**Soutenu publiquement le 29 juin 2022**

## Résumé

Les extraits naturels de plantes contiennent une variété de composés biologiquement actifs. Dans la présente étude nous avons tenté d'évaluer l'activité antioxydant et antimicrobienne de l'espèce *Erysimum gramineum* pomel connue par le nom « عشبة كل بلية ». plusieurs extractions avec des solvants à polarités croissantes (Hexane , Acétat d'éthyl , Méthanol ) sont effectuées sur trois partie de la plante (feuille, fleur et fruit) .Les résultats obtenus montrent que l'extrait de l'acétate d'éthyle de la fraction des fruits présente un rendement plus au moins important (2,418%). Alors que, la teneur en tocophérols dans l'extrait hénanique des feuilles (3,48 g / 100 g d'Es) est relativement plus élevée par rapport à la fraction des fruits. L'estimation quantitative des phénols totaux (par la méthode de Folin-Ciocalteu), a montré que l'extrait méthanolique de la fraction des fruits (43,70 mg/g d'Es) est le plus riche en phénols totaux et le plus puissant comme un bon antioxydant. Le test de l'activité antibactérienne et antifongique révèle que les extraits d'*Erysimum gramineum* pomel sont dotés d'un pouvoir antibactérien élevé vis-à-vis des bactéries à Gram (-) et faible vis-à-vis La bactérie à Gram (+), et un pouvoir antifongique très élevé contre *candida albicans* 10 et *candida albicans* 26.

**Mots clés :** *Erysimum gramineum* pomel, Composés phénoliques, activité antibactérienne- activité antifongique-Activité antioxydante.

## Abstract

Natural plant extracts contain a variety of biologically active compounds. In this study we tried to evaluate the antioxidant and antimicrobial activity of the plant *Erysimum gramineum* pomel known as “عشبة كل بلية”. Several extractions with solvents with increasing polarities (Hex, Ac-O-Et, MeOH) are carried out on three parts of the plant (leaf, flower and fruit). The results showed that the ethyl acetate extract from the fruit fraction had a more or less high yield (2.418%). On the other hand, the tocopherol content in the hexane extract of the leaves (3.48 g/100 g d'Es) was relatively higher relative to the fruit fraction. Quantitative estimation of total phenols (by the Folin-Ciocalteu method) showed that the methanolic extract of the fruit fraction (43.70 mg/g Es) was the richest in total phenols and the most potent as a good antioxidant. The antibacterial and antifungal activity test showed that *Erysimum gramineum* P extracts had a high antibacterial potency against Gram (-) bacteria and a low antibacterial potency against Gram (+) bacteria, and a very high anti-fungal potency against *candida albicans* 10 and *candida albicans* 26.

**Key words:** *Erysimum gramineum* pomel, Phenolic compounds, Antibacterial activity-Antifungal activity, Antioxidant activity.

## ملخص

تحتوي المستخلصات النباتية الطبيعية على مجموعة متنوعة من المركبات النشطة بيولوجيا. في هذه الدراسة تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة والنشاط المضاد للميكروبات لنبات *Erysimum gramineum pomel* المعروف باسم "عشبة كل بلية". تم إجراء الاستخراج عن طريق النقع المتتالي للمذيبات مع زيادة القطبية (اكزان- اسيتات الايثيل-ميثانول) لثلاثة أجزاء من النبات ( أوراق زهور وفاكهة). تظهر النتائج المتحصل عليه ان مستخلص اسيتات الايثيل من جزء الفاكهة له عائد اعلى يقدر 2,418 بالمائة بالإضافة الى ذلك فان مستخلص الاكزان المستخرج من الأوراق يحتوي على 3,48 مغ / غ حيث تعتبر اعلى نسبيا مقارنة بجزء الفاكهة . اظهر التقدير الكمي للفينولات الاجمالية بطريقة Folin-Ciocalteu ان مستخلص الميثانول من جزء الفاكهة هو الاغني 43,70 مغ / غ في اجمالي الفينولات . يكشف اختبار النشاط المضاد للميكروبات ان النبتة تتمتع بنشاط مضاد للبكتيريا مقابل بكتيريا- Gram ومنخفض مقابل بكتيريا+ Gram و قدرة عالية ضد السلالات الفطرية . 10 *candida albicans* و 26 *candida albicans*

## كلمات مفتاحية

المركبات الفينولية , نشاط مضاد للفطريات , نشاط مضاد للأكسدة, نشاط مضاد للبكتيريا  
*Erysimum gramineum pomel*

## *Dédicaces*



*Avec l'aide de Dieu Tout-Puissant,  
J'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie À :*

*Mes parents ; que Dieu les protège. Ils m'ont toujours poussée à aller plus loin ; je leur suis très reconnaissante.*

*Mes chères sœurs khadidja, Aicha, soumia, Affaf, imane et leurs adorables enfants*

*À ma chère grand-mère et mes tantes*

*À Mes cher (s) amis (es) mes chères collègues de la promotion 2022 pour tous les bons moments qu'on a vécus ensemble*

*À ma binôme Meriem avec qui j'ai vécu des beaux moments au cours de cette année, ainsi qu'à sa famille.*

*À tous ceux qui ont cru en moi et pour toute personne avec qui je partage un beau souvenir.*



## *Dédicaces*



*Je dédie ce travail à :*

*Mes chers parents*

*De m'avoir laissé libre dans mes choix*

*D'avoir prié pour moi*

*Je leurs exprime ma profonde reconnaissance pour leur amour,  
Leur confiance, leur Soutien moral ainsi que pour leurs efforts, sacrifices et*

*Encouragements durant tout*

*Mon parcours*

*A ma sœur Aida*

*A mon frère Djalal*

*A mes cousins et cousines et toute ma famille.*

*A mes collègues ainsi que ma binôme Wiam Roufaïda*

*A Tout ce qui m'aiment et A tout ce que j'aime.*

**Meriem**

## *Remerciement*



Tout d'abord nous tenons à remercier DIEU tout puissant  
De nous avoir Donnés le courage et La volonté de terminer ce travail.

Merci infiniment à notre encadreur Mme Elhouiti Fatiha et notre Co-encadreur Mme Nebeg de nous avoir dirigées avec une grande rigueur scientifique, leur patience, leurs conseils, leur grande disponibilité tout au long de la réalisation de ce mémoire, ainsi pour le temps qu'elle nous a consacré et sans elles ce mémoire n'aurait jamais vue le jour.

Nous exprimons nos profonds remerciements aux membres de jury qui vont juger notre Recherche :

A Monsieur Zarrouk, qui nous fait l'honneur de présider ce jury.

A Madame Zokhrouf, d'avoir accepté d'examiner ce mémoire.

Nous tenons aussi à remercier zegrir anfel pour ses efforts avec nous et docteur Tahri djillali pour la récolte de la plante.

Nous remercions également toute l'équipe du laboratoire des sciences fondamentales,  
Université de Laghouat.

Nous tenons à remercier vivement Monsieur Harrat Mohammed nous ne saurions dire à quel point nous avons eu le plaisir à discuter avec lui et combien nous avons apprécié ses Multiples compétences et ses qualités humaines d'écoute et de compréhension tout au long de ce travail nous avons beaucoup appris avec lui.

Une pensée particulière pour l'ensemble des enseignants ayant contribué à notre formation durant notre cycle d'étude et à tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail qu'ils trouvent ici notre sincère et profonde gratitude.

Nous tenons aussi à remercier tous nos collègues de la promotion 2021/2022

Et nous leur Souhaitons beaucoup de réussite.

# Table des matières

<i>Liste des tableaux</i> .....	<i>iii</i>
<i>Liste des figures</i> .....	<i>iv</i>
<i>Liste des abréviations</i> .....	<i>v</i>
<i>Introduction</i> .....	<i>2</i>
<b>I Etudes bibliographique</b> .....	<b>4</b>
<b>I.1 La phytothérapie et les plantes médicinales</b> .....	<b>4</b>
I.1.1.1 Les plantes médicinales.....	4
I.1.1.2 Généralités .....	4
I.1.1.3 Utilisation et importance des plantes médicinales .....	4
I.1.2 La phytothérapie.....	4
I.1.2.1 Les différentes thérapies à base de plantes médicinales.....	4
I.1.2.2 Les limites de la phytothérapie .....	5
<b>I.2 Classification des composés phytochimiques</b> .....	<b>5</b>
I.2.1 Les métabolites secondaires.....	6
<b>I.3 Activités biologiques</b> .....	<b>9</b>
I.3.1 L'activité antioxydante.....	9
I.3.1.1 Le stress oxydatif .....	9
I.3.1.1.1 Conséquences du stress oxydant .....	10
I.3.1.2 Les radicaux libres .....	10
I.3.1.3 Les antioxydants .....	11
I.3.2 L'activité antimicrobienne.....	13
<b>I.4 Autres activités biologiques</b> .....	<b>13</b>
<b>II Matériel et méthodes</b> .....	<b>16</b>
<b>II.1 Matériel Biologique</b> .....	<b>16</b>
II.1.1 La plante étudiée <i>Erysimum gramineum</i> P .....	16
II.1.1.1 Famille des Brassicaceae .....	16
II.1.1.2 Caractéristiques botaniques .....	17
II.1.1.3 Échantillonnages .....	17
II.1.2 Les souches microbiennes .....	17
<b>II.2 Méthodes expérimentales</b> .....	<b>18</b>
II.2.1 Extraction.....	19
II.2.1.1 Le procédé d'extraction.....	19
II.2.1.2 Détermination du rendement .....	21
<b>II.3 Dosage de polyphénols totaux</b> .....	<b>21</b>
II.3.1 Principe.....	21
II.3.1.1 Mode opératoire .....	21

<b>II.4</b>	<b>Etude des tocophérols .....</b>	<b>22</b>
II.4.1	Dosage spectrophotométrique des tocophérols totaux .....	22
II.4.1.1	Principe.....	22
II.4.1.2	Protocole.....	22
<b>II.5</b>	<b>L'évaluation de l'activité antioxydante.....</b>	<b>22</b>
II.5.1	Principe du test DPPH.....	23
II.5.2	Le protocole expérimental .....	24
<b>II.6</b>	<b>L'étude de l'activité antimicrobienne .....</b>	<b>26</b>
II.6.1	La mise en culture .....	26
II.6.2	L'évaluation de l'activité antimicrobienne .....	26
II.6.3	Activité antifongique .....	30
<b>II.7</b>	<b>L'analyse statistique .....</b>	<b>30</b>
<b>III</b>	<b>Résultats et discussion.....</b>	<b>32</b>
<b>III.1</b>	<b>Rendement d'extraction et propriétés des extraits obtenues.....</b>	<b>32</b>
III.1.1	Rendement d'extraction .....	32
III.1.1.1	Les propriétés des extraits Obtenus.....	33
<b>III.2</b>	<b>Dosage des polyphénols totaux .....</b>	<b>33</b>
<b>III.3</b>	<b>Dosage des tocophérols .....</b>	<b>35</b>
<b>III.4</b>	<b>Résultats de l'activité anti-oxydante .....</b>	<b>37</b>
<b>III.5</b>	<b>Résultats de l'activité antimicrobienne .....</b>	<b>40</b>
III.5.1	Résultat du contrôle positif (antibiogramme).....	40
III.5.2	Résultats de contrôle négatif .....	42
III.5.3	Résultat du test du pouvoir antimicrobien .....	44
III.5.4	Les résultats de la détermination de la CMI par la méthode de microdilution.	
	53	
	<b>Conclusion générale.....</b>	<b>60</b>
	<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>63</b>
	<b>Annexe .....</b>	<b>70</b>

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1 :</b> Produits phytochimiques bioactifs dans les plantes médicinales. ....	14
<b>Tableau 2:</b> Systématique de la plante <i>Erysimum gramineum</i> P. ....	17
<b>Tableau 3:</b> Les propriétés de la plante étudiée. ....	17
<b>Tableau 4:</b> Références des microorganismes testés dans notre étude. ....	18
<b>Tableau 5:</b> Les propriétés des différents extraits de la plante <i>Erysimum gramineum</i> P. ....	33
<b>Tableau 6:</b> Les teneurs en phénols totaux des deux extraits. ....	34
<b>Tableau 7:</b> Teneur en tocophérols dans la plante <i>Erysimum gramineum</i> P. ....	36
<b>Tableau 8:</b> Les activités antioxydantes VEEAC des extraits de la plante <i>Erysimum gramineum</i> P. ....	38
<b>Tableau 9:</b> les activités antioxydantes VCEAC des extraits de la plante <i>Erysimum gramineum</i> P. ....	39
<b>Tableau 10:</b> Diamètre de zone d'inhibition en mm en présence de quelques antibiotiques. ....	41
<b>Tableau 11:</b> Les diamètres des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne de la partie des feuilles de la plante <i>Erysimum gramineum</i> P. ....	44
<b>Tableau 12:</b> Les diamètres des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne de la partie des fruits et fleurs de la plante <i>Erysimum gramineum</i> P. ....	45
<b>Tableau 13:</b> Les diamètres des zones d'inhibition de l'activité antifongique de la partie des feuilles de la plante <i>Erysimum gramineum</i> P. ....	48
<b>Tableau 14:</b> Les diamètres des zones d'inhibition de l'activité antifongique de la partie des fruits et fleurs de la plante <i>Erysimum gramineum</i> P. ....	48
<b>Tableau 15:</b> les CMI (mg/ml) et les CMB (mg/ml) obtenues par la méthode de microdilution vis-à-vis les cinq souches bactériennes. ....	54
<b>Tableau 16:</b> les CMI (mg/ml) et les CMF (mg/ml) obtenues par la méthode de microdilution vis-à-vis les deux levures. ....	56

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Les classes des métabolites secondaires.....	6
<b>Figure 2</b> :Classification des polyphénols.....	7
<b>Figure 3</b> :Exemple d'alcaloïde : la caféine.....	8
<b>Figure 4</b> :Les principales sources d'ERO (endogène et exogène) et les systèmes antioxydants naturels. ....	9
<b>Figure 5</b> :Le passage de l'état stable au radical libre et sa stabilisation de nouveau par l'anti-oxydant.....	10
<b>Figure 6</b> : Les sources des radicaux libres. ....	11
<b>Figure 7</b> : Classification des antioxydants .....	12
<b>Figure 8</b> : Photographie illustrant l'espèce <i>Erysimum gramineum</i> P. ....	16
<b>Figure 9</b> : Les souches microbiennes étudiées.....	18
<b>Figure 10</b> :Organigramme expliquant les principales étapes de notre travail. ....	19
<b>Figure 11</b> :Les étapes expérimentales de l'extraction.....	20
<b>Figure 12</b> : Structure de 2-2 Diphényl (1-1) picrylhydrazyl libre et sa forme réduite.....	24
<b>Figure 13</b> : Les étapes expérimentales du test DPPH. ....	25
<b>Figure 14</b> :Technique de diffusion.....	28
<b>Figure 15</b> : Méthode de détermination de la CMI par la méthode de microdilution. ....	29
<b>Figure 16</b> : Histogramme présentant le rendement de l'extraction .....	32
<b>Figure 17</b> : La courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	34
<b>Figure 18</b> : Histogramme représentant les teneurs en polyphénols dans les différents extraits.....	35
<b>Figure 19</b> : Courbe d'étalonnage de la vitamine E.....	36
<b>Figure 20</b> : Histogramme représentant les teneurs en tocophérols dans les deux organes ..	37
<b>Figure 21</b> : Courbe représentant la variation du pourcentage d'inhibition I% en fonction de la concentration en Vitamine C et en Vitamine E. ....	38
<b>Figure 22</b> : Histogramme représentant les activités anti-oxydantes des différents extraits. ....	40
<b>Figure 23</b> :l'effet des antibiotiques sur différentes souches microbiennes. ....	42
<b>Figure 24</b> : Effet de DMSO sur la croissance des bactéries et des levures .....	43
<b>Figure 25</b> :L'effet des extraits du <i>Erysimum gramineum</i> P sur les différentes souches bactériennes. ....	51
<b>Figure 26</b> : L'effet des extraits du <i>Erysimum gramineum</i> pomel sur les deux levures testées .....	53
<b>Figure 27</b> : Détermination de la concentration minimale inhibitrice des extraits de feuille d' <i>Erysimum gramineum</i> pomel vis-à-vis des souches pathogènes . ....	57
<b>Figure 28</b> : Détermination de la concentration minimale inhibitrice des extraits de fruits et fleurs d' <i>Erysimum gramineum</i> P vis-à-vis des souches pathogènes .....	58

## Liste des abréviations

**Hex** : Hexane

**AC-O-Et** : Acétate d'éthyle

**MeOH** : Méthanol

**AG** : Acide Gallique

**EAG** : Equivalent en acide gallique

**EVA** : Equivalent en vitamine E

**EVC** : Equivalent en vitamine C

**A** : Absorbance

**DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle

**VCEAC** : capacité antioxydant équivalente en vitamine C

**VEEAC** : capacité antioxydant équivalente en vitamine E

**I (%)** : Pouvoir d'Inhibition

**FRAP**: Ferric ion Reducing Antioxidant Parameter

**ABTS** : sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique

**ERO** : Espèces réactifs de l'oxygène (Reactive oxygen species).

**MH**: Mueller-Hinton

**DMSO**: Dimethylsulfoxyde

**INT**: Iodonitrotetrazolium chloride

**ATCC**: American Type Culture Collection

**D.O**: Densité Optique

**UFC** : Unité Formant Colonie

**Fr/FI** : fruits/fleurs

**CMI** : Concentration minimale inhibitrice.

**CMB** : Concentration minimale bactéricide.

**CMF** : concentration minimale fongicide

# *Introduction*

## Introduction

Le monde végétal est si vaste et varié qu'il est presque impossible de connaître les espèces végétales qui en font partie. L'homme a su profiter de cette biodiversité en puisant dans ses ressources pour se nourrir, se soigner et se protéger (**Chaib, 2015**).

Depuis l'antiquité, Les plantes médicinales sont utilisées, pour soulager et guérir les maladies Humaines. En effet, leurs propriétés thérapeutiques sont dues à la présence de milliers de composés naturels bioactifs appelés métabolites secondaires.

Actuellement, le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques et la toxicité des antioxydants synthétiques ont conduit les chercheurs à puiser dans le monde végétal et particulièrement aux extraits bruts des plantes qui commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives. Ils font l'objet d'études pour leur éventuelle utilisation comme alternative pour le traitement des maladies infectieuses (**Yakhlef et al., 2011**).

L'objectif de notre étude est d'exploiter les richesses de notre pays et s'inscrit dans le cadre de la valorisation des propriétés antioxydantes, antibactériennes et antifongiques de la partie aérienne de la plante *Erysimum gramineum* pomel, parmi les plantes sahariennes qui n'ont pas encore fait l'objet de travaux antérieurs.

Ainsi notre travail sera réparti en quatre parties :

La première partie relative à l'étude bibliographique sur la phytothérapie, les plantes médicinales, les métabolites secondaires et de leurs activités biologiques.

La deuxième partie est réservée à l'étude des principales étapes expérimentales relatives à l'analyse quantitative de la plante étudiée et l'évaluation de l'activité antioxydante par le test de DPPH et antimicrobienne *in vitro* de ses extraits par différent procédé.

La troisième partie présente les résultats obtenus suivie de leurs discussions et enfin la quatrième et dernière partie où nous présentons une conclusion générale et des perspectives issues de nos recherches.

# *Étude bibliographique*

## **I Etudes bibliographique**

### **I.1 La phytothérapie et les plantes médicinales**

#### **I.1.1.1 Les plantes médicinales**

##### **I.1.1.2 Généralités**

Les plantes médicinales représentent une source impressionnante de molécules actives qui peuvent être utilisées à titre préventif ou curatif. Elles sont considérées comme source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments (Harrar, 2018).

##### **I.1.1.3 Utilisation et importance des plantes médicinales**

Depuis des milliers d'années, dans toutes les cultures du monde la phytothérapie est la médecine de première intention pour le traitement des plaies, des infections, des maladies et des blessures. Les humains ont appris à reconnaître, transformer et utiliser les ressources botaniques de leur environnement (Alotaibi *et al.*, 2021).

#### **I.1.2 La phytothérapie**

Le terme « phyto » provient du grec ancien « python » qui signifie « végétal ». Par conséquent, la phytothérapie est la « thérapie par le végétal ». En d'autres termes, elle, consiste à utiliser des plantes à but thérapeutique (Chaib, 2015).

##### **I.1.2.1 Les différentes thérapies à base de plantes médicinales**

###### **❖ L'aromathérapie**

L'aromathérapie, la branche de la phytothérapie qui met à profit les propriétés médicales des huiles essentielles. Elles présentent un grand intérêt dans divers secteurs industriels comme la pharmacie et la cosmétologie : par leurs propriétés médicinales ; pouvoirs antiseptique, analgésiques, antispasmodique, digestives, cicatrisantes, antifongiques, antibiotiques... ces activités sont dues surtout à leurs constituants terpéniques.

###### **❖ La gemmothérapie**

La gemmothérapie utilise exclusivement les tissus embryonnaires frais des plantes, arbres et arbustes, c'est-à-dire les bourgeons. Comme pour tout embryon, les bourgeons contiennent de façon concentrée toutes les cellules qui composeront la future plante ou fleurs. Les bourgeons abritent en effet des acides aminés, futures protéines, de nombreux

micronutriments, des poly phénols, des antioxydants, des enzymes, ainsi que des phytohormones de croissance, absentes de la plante mature.

❖ **L'homéopathie**

L'homéopathie a été mise au point par le médecin allemand Samuel Hahnemann., c'est à dire on administre au patient une dose infinitésimale d'une substance (animale, minérale, ou végétale) produisant expérimentalement chez une personne saine des symptômes semblables à ceux présentés par la personne affectée.

❖ **La phytobalnéothérapie**

Appeler également la thérapie de KNEIPP mit au point il y a une centaine d'années, elle consiste à verser des additifs d'extraits de plantes dans les bains chauds (**Oullai et Chamek ,2018**).

### **I.1.2.2 Les limites de la phytothérapie**

La phytothérapie peut être dangereuse et même mortelle, selon la plante et la dose appliquée, « *Rien n'est poison, tout est poison : seule la dose fait le poison* ». *Paracelse*. Car le principe actif d'une plante peut contenir plusieurs molécules qui peuvent interagir entre elles et avec d'autres substances. Des fois, la composition chimique d'une même plante varie d'un organe à l'autre, ou d'une saison à l'autre. Des erreurs liées à la ressemblance entre les espèces ou sur la partie de la plante à utiliser peuvent aussi avoir lieu (**Mearad et Mahiout, 2019**).

## **I.2 Classification des composés phytochimiques**

Les composés issus des végétaux sont des composés biologiquement actifs. Ces substances végétales sont divisées en métabolites primaires et secondaires (**Alqethami et Aldhebiani, 2021**).

Les métabolites primaires sont des molécules organiques localisées dans toutes les cellules de l'organisme de la plante et qui assurent sa survie. Ils sont impliqués dans sa croissance, son développement et sa reproduction. Ces métabolites regroupent entre autres, les glucides, les lipides et les acides aminés. Inversement, les métabolites secondaires sont très dispersés dans la plante et très différents selon les espèces (**Triaux ,2019**).

### I.2.1 Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques synthétisées par les végétaux à partir de métabolites primaires par diverses voies. Ils n'ont pas de fonctions apparentes impliquées dans la croissance et le développement. Produit dans différentes familles de plantes, dans des tissus, des cellules ou dans des stades spécifiques tout au long du développement de la plante (Singh, 2015 ; Gnatta *et al.*, 2016).

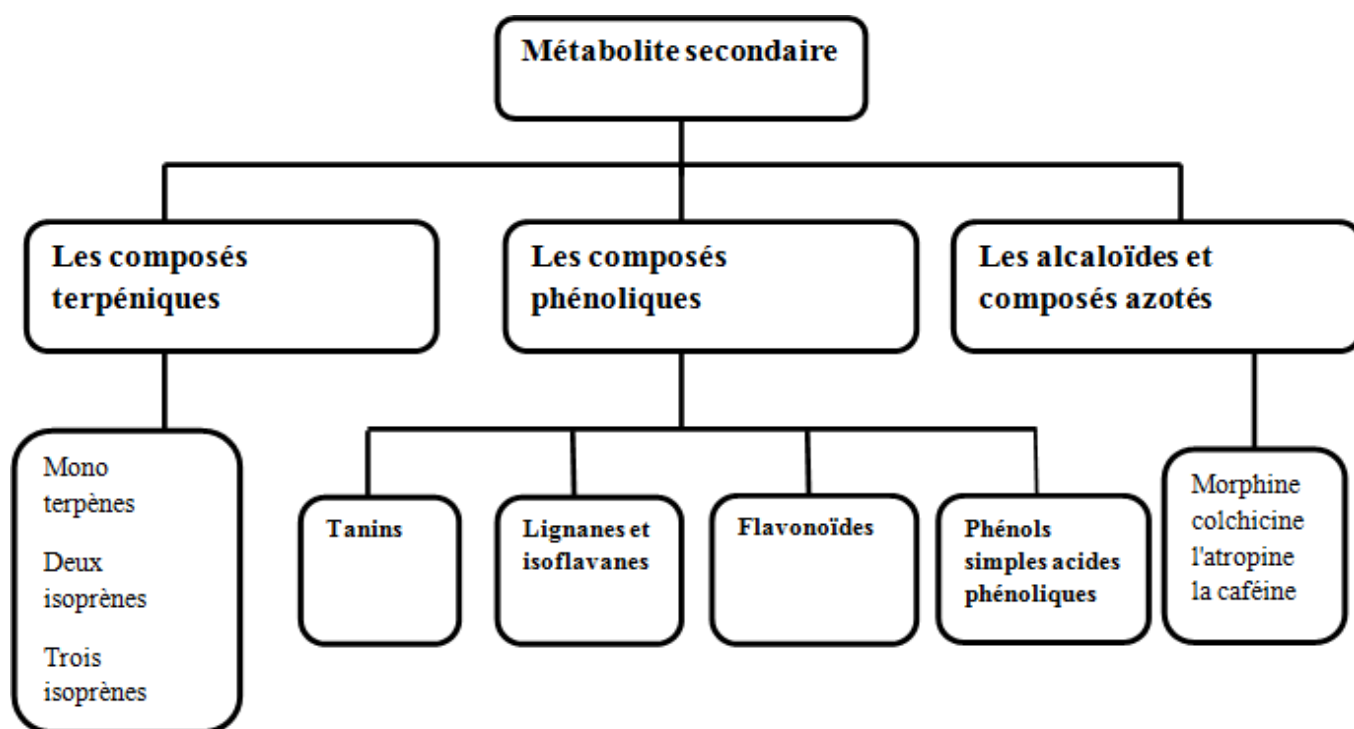


Figure 1 : Les classes des métabolites secondaires (Singh, 2015 ; Gnatta *et al.*, 2016).

#### a. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires qui constituent un des groupes le plus représenté et largement distribué dans le monde végétal avec plus de 8000 structures phénoliques. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction (Sahli, 2017).

Cette classe de composés est très diversifiée et comprend plusieurs sous-groupes de composés phénoliques (figure 7), on trouve des substances qualifiées d'élémentaires, comme les acides phénoliques et les stilbènes, mais aussi des molécules polymérisées complexes telles que les tanins, qui sont dérivés des composés élémentaires (Cutrim et Cortez, 2018).

La figure suivante représente les différentes classes des polyphénols (Rosa *et al.*, 2019).

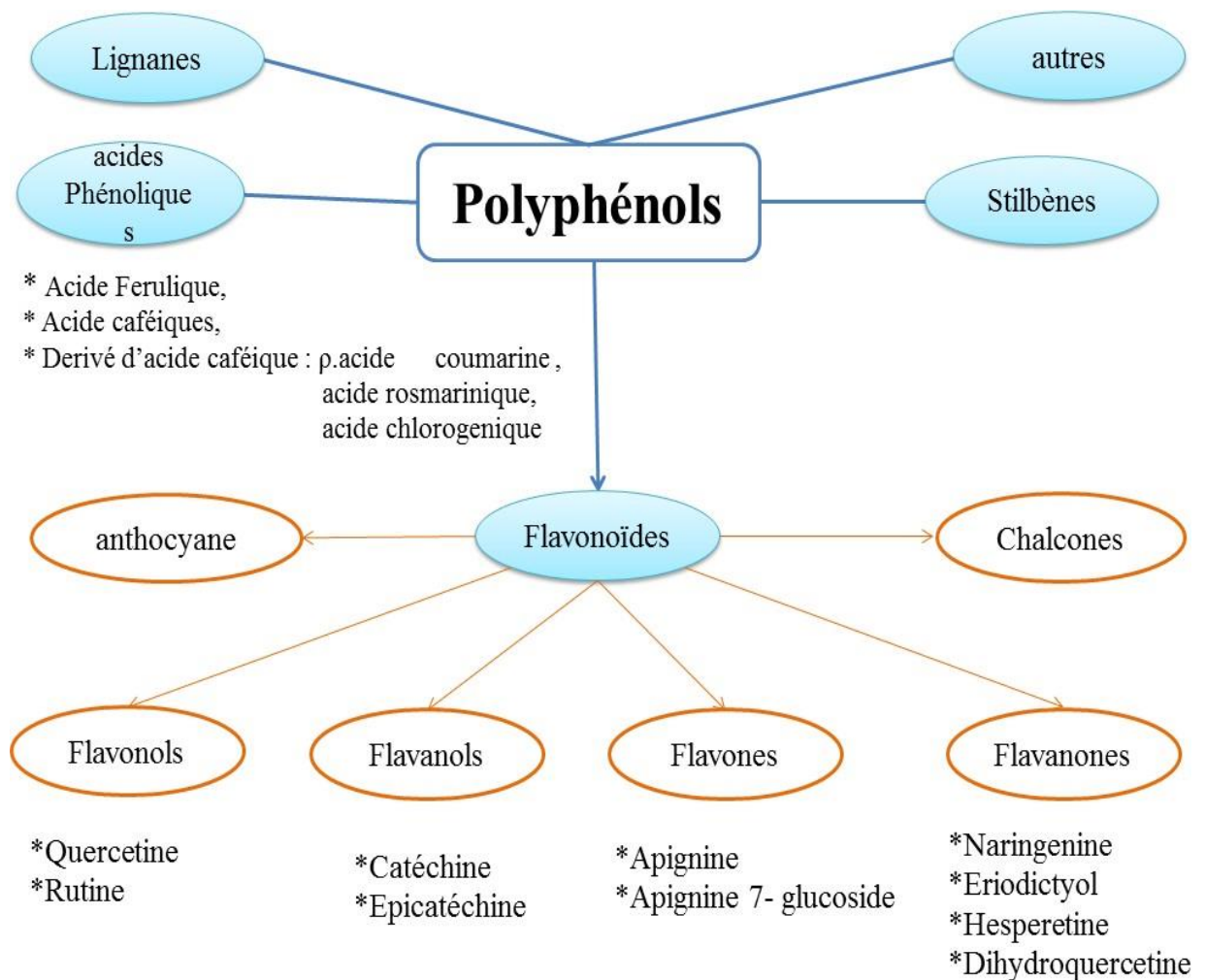


Figure 2:Classification des polyphénols (Rosa *et al.* , 2019).

## b. Les alcaloïdes

### ❖ Définition

Les alcaloïdes sont une classe de composés organiques azotés dérivés d'acides aminés de faible poids moléculaire, qui sont principalement contenus dans divers organismes vivants, tels que les bactéries, les champignons, les plantes et les animaux. Chez les plantes, les alcaloïdes sont des métabolites secondaires produits en réponse aux modulations environnementales et au stress biotique ou abiotique, qui confèrent aux alcaloïdes une diversité de structure et des activités biologiques importantes (Peng *et al.*, 2019).

On distingue généralement :

- **Alcaloïdes vrais**, dérivés d'acides aminés, et qui présentent au moins un hétérocycle.

- **Proto-alcaloïdes**, qui dérivent d'acides aminés, dont l'azote n'est pas inclus dans le système hétérocyclique.

- **Pseudo-alcaloïdes**, présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais mais ne sont pas des dérivés des acides aminés (**Beddou, 2015**).



**Figure 3:**Exemple d'alcaloïde : la caféine (**Beddou, 2015**).

#### ❖ Propriétés physico-chimiques

Ils sont peu solubles dans l'eau et presque toujours capables de dévier la lumière (**Djaman, 2013**). Certains sont employés dans la médecine pour leurs propriétés analgésiques comme la morphine (**Bruneton, 2009 ; Muanda, 2010**).

Ils provoquent chez l'homme, diverses réponses physiologiques et psychologiques parce qu'ils interfèrent avec les neurotransmetteurs. A forte dose la plupart des alcaloïdes sont très toxiques, mais à faible dose, ils peuvent avoir une valeur thérapeutique (**Hopkins, 2003**).

### c. Les terpénoïdes

#### ❖ Définition

Les terpènes sont les principaux constituants des inclusions huileuses rencontrées dans les tissus sécréteurs des plantes. Ils sont souvent volatils et se vaporisent donnant des essences aux lesquelles beaucoup de plantes doivent leur parfum. On leur donne souvent le nom d'huiles essentielles (**Morot-Gaudry et Prat, 2009**).

#### ❖ Propriétés des terpénoïdes

Les terpènes sont des substances généralement lipophiles et très sensibles à la lumière (**Muanda, 2010**). Leur grande diversité trouve son origine dans le nombre d'unités de base qui composent la chaîne ainsi que dans les divers modes d'assemblage ; la formation de

structures cycliques, la conjugaison avec des sucres ou d'autres molécules peuvent rendre leurs structures complexes (Hopkins, 2003).

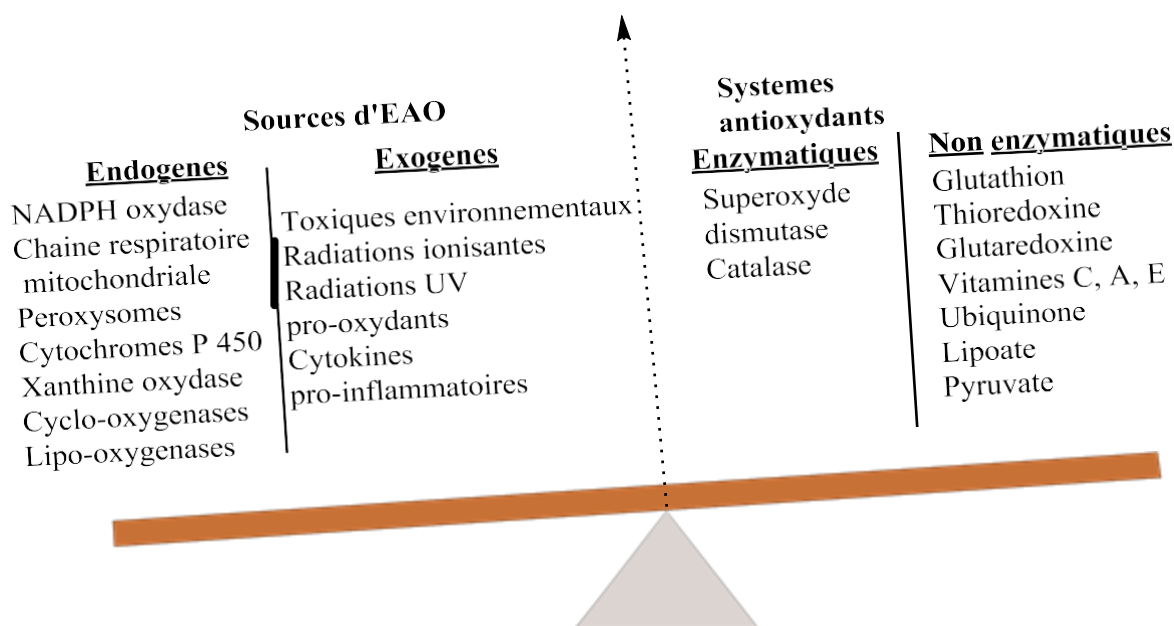
### I.3 Activités biologiques

Le rôle physiologique issu des extraits du règne végétal reste méconnu, mais en vue de la diversité moléculaire des métabolites qu'elles possèdent, elles acquièrent divers rôles et des propriétés biologiques (Safia, 2018).

#### I.3.1 L'activité antioxydante

##### I.3.1.1 Le stress oxydatif

Un stress oxydant, est un déséquilibre entre la production d'ERO et les capacités cellulaires antioxydantes. **Figure04.**



**Figure 4:** Les principales sources d'ERO (endogène et exogène) et les systèmes antioxydants naturels.

Les situations lors desquelles l'organisme est soumis à un stress oxydant lorsqu'au moins une des trois phénomènes suivants est présente :

- ✚ Production exagérée des espèces réactives.
- ✚ Capacités cellulaires antioxydantes insuffisantes (endogènes et exogènes).
- ✚ Mécanismes de réparation des dommages insuffisants (l'association de ces deux phénomènes précédents (Gardes-Albert, 2003).

### **I.3.1.1.1 Conséquences du stress oxydant**

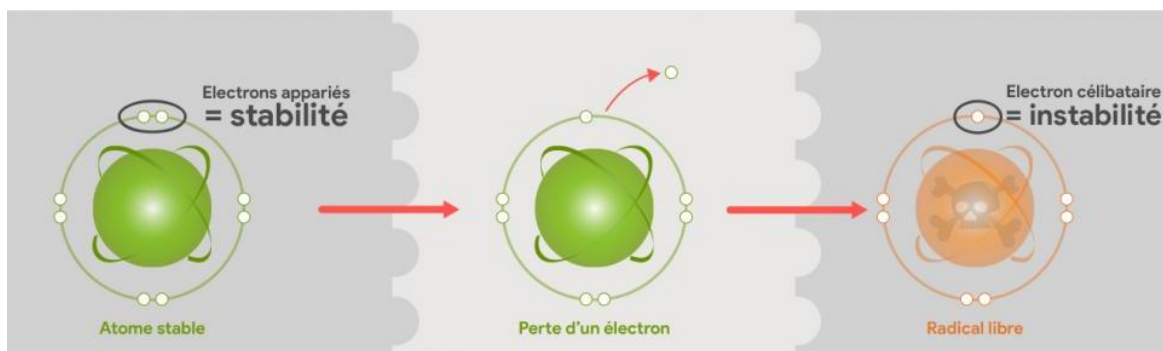
De nombreuses autres anomalies biologiques sont induites par le stress oxydant : mutation, carcinogénèse, malformation de fœtus, dépôt de protéines anormales, fibrose, formation d'auto-anticorps, dépôt de lipides oxydés, immunosuppressions.

Les conséquences de toutes ces agressions concourent au vieillissement et à l'apparition de plusieurs maladies, comme le cancer, la cataracte, la sclérose latérale amyotrophique, le syndrome de détresse respiratoire aigüe, l'œdème pulmonaire, le diabète, la maladie d'Alzheimer, les Rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (**Favier, 2003**).

### **I.3.1.2 Les radicaux libres**

#### **❖ Définition**

Un radical libre est une espèce chimique possédant un ou plusieurs électrons non appariés sur sa couche externe. La présence d'un électron célibataire confère à ces molécules une grande instabilité (**Figure05**). Pour rechercher la stabilité, les radicaux libres ont tendance à voler un électron de n'importe quelle molécule qui les entoure. Les antioxydants sont des molécules qui fournissent au radical libre l'électron manquant. On appelle antioxydant n'importe quelle substance qui prévient ou ralentit le processus d'oxydation (**Elkolly, 2016**).



**Figure 5:**Le passage de l'état stable au radical libre et sa stabilisation de nouveau par l'anti-oxydant.

Les radicaux libres peuvent avoir des sources endogènes ou exogènes (Figure06) (Elkolli, 2016).

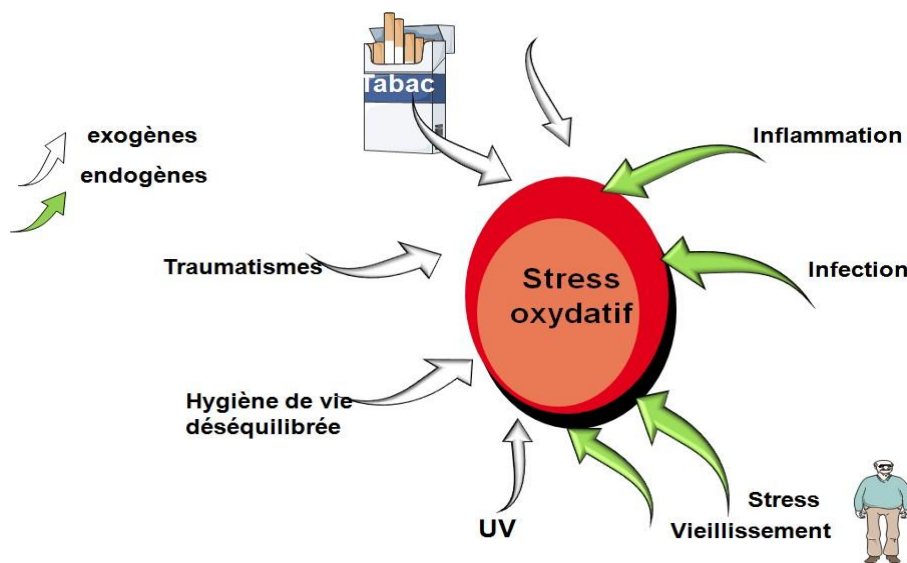


Figure 6: Les sources des radicaux libres (Elkolli, 2016).

### I.3.1.3 Les antioxydants

#### ❖ Définition

Un antioxydant est défini comme toute substance ayant la capacité de retarder, prévenir ou inhiber la génération d'un oxydant toxique, d'arrêter ceux qui sont déjà produits et de les inactiver, bloquer de ce fait la réaction en chaînes de propagation produite par ces oxydants (Tang et Halliweli, 2010).

#### ❖ Mécanismes d'action des antioxydants

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant :

- ✓ Le captage de L'oxygène singulier,
- ✓ La désactivation des radicaux par réaction d'addition Covalente,
- ✓ La réduction de radicaux ou de peroxydes,
- ✓ La chélation des métaux de Transition.

D'une manière générale, un antioxydant peut empêcher l'oxydation d'un autre substrat en s'oxydant lui-même plus rapidement que celui-ci. (Favier, 2006).

#### ❖ Classification des antioxydants

Les antioxydants peuvent être classés selon leur mode d'action, leur localisation cellulaire et leur origine. On distingue deux grandes classes (figure07) : antioxydant de synthèse et antioxydant naturelle qui est partagé en antioxydant enzymatique et non enzymatique.

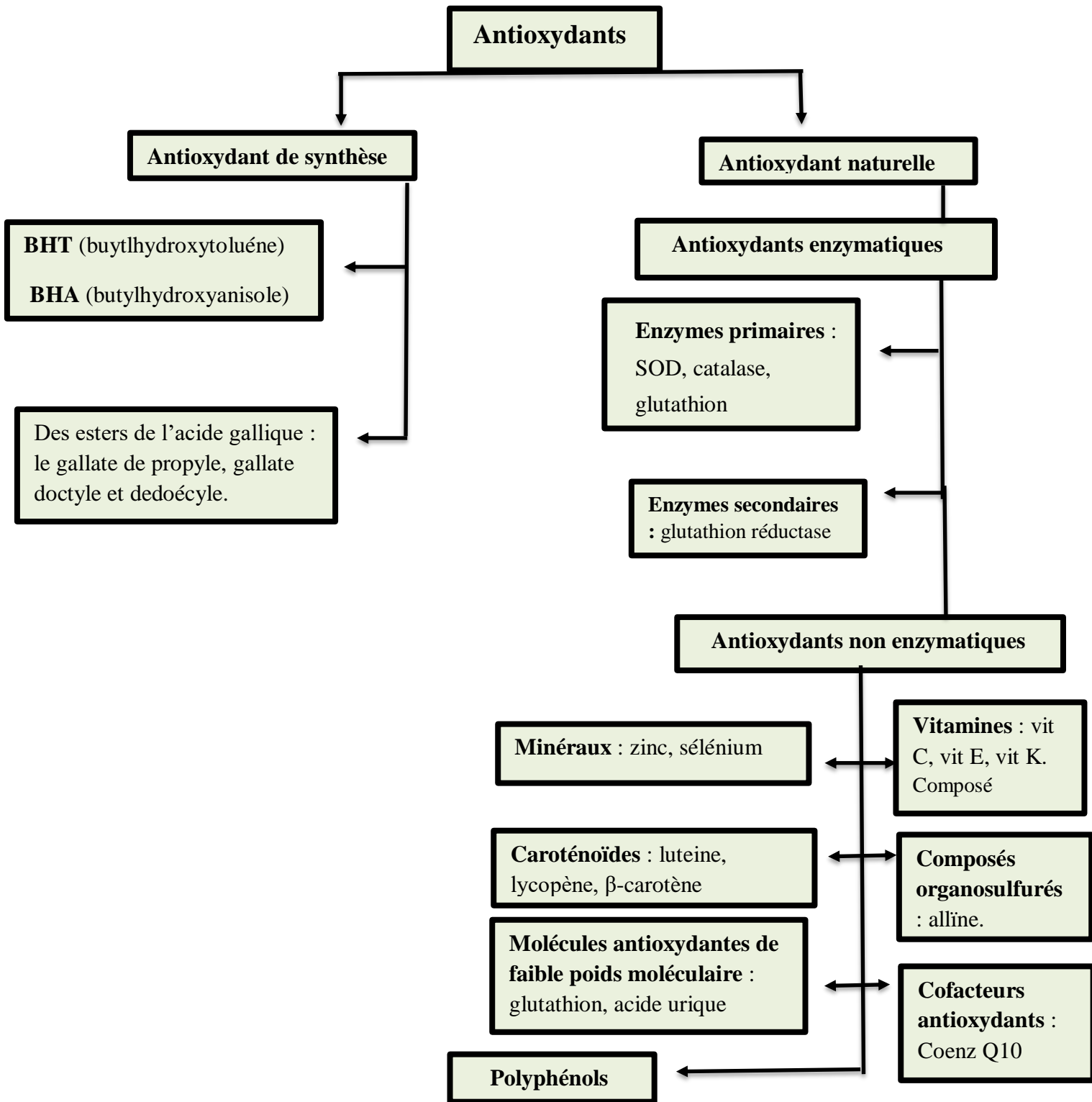


Figure 7: Classification des antioxydants

### **I.3.2 L'activité antimicrobienne**

Ces dernières années, les recherches se sont concentrées sur la caractérisation de nouveaux agents antimicrobiens d'origine naturelle, tels que les molécules bioactives dans les plantes, qui peuvent remplacer les antibiotiques conventionnels ou agir en synergie avec eux.

Les plantes synthétisent divers métabolites secondaires avec une activité antibiotique, mais cette activité est inférieure face aux antibiotiques d'origine microbienne (**Kordali et al., 2008**).

De nombreux chercheurs ont étudié l'activité antimicrobienne des extraits des plantes médicinales, ils ont constaté que ces extraits sont actifs non seulement contre les bactéries mais aussi contre les champignons, les levures et les virus (**Jürgen et al., 2009**).

### **I.4 Autres activités biologiques**

#### **Activité anticancéreuse**

Les plantes ont une longue histoire dans le traitement du cancer. La chimiothérapie moderne commence dans les années 1940 et jusque dans les années 1980, on observe un monopole de la nature dans la recherche de nouvelles substances "anticancéreuses". En effet, la majorité des programmes de recherche est articulée autour du criblage des plantes.

#### **Activité anti-inflammatoire**

On retrouve de nombreuses plantes anti-inflammatoires recensées par les pharmacopées traditionnelles africaines. La plupart d'entre elles contiennent des composés phytochimiques qui agissent en bloquant les voies de la cyclooxygénase et de la lipoxygénase (**Adepo, 2018**).

#### **Activité antidiabétique**

La détermination des effets antidiabétiques de plantes médicinales et la recherche de principes actifs sont une façon prometteuse pour découvrir de nouveaux produits antidiabétiques, tel que certains terpènes, des sulfites, des polysaccharides, des vitamines, des alcaloïdes, des saponines et d'autres composés (**Boubaker, 2019**).

Le tableau ci-après représente les Produits phytochimiques bioactifs dans les plantes médicinales (**Saxena et al., 2013**).

**Tableau 1** : Produits phytochimiques bioactifs dans les plantes médicinales (**Saxena et al., 2013**)..

<b>classification</b>	<b>Principaux groupes de composés</b>	<b>Fonction biologique</b>
<b>Antibactérien, antifongique</b>	Terpénoides, Alcaloïdes	Inhibiteurs de micro-organismes, Réduisent le risque d'infection fongique
<b>antioxydants</b>	Flavonoïdes Tocophérols Acide ascorbique,	Désactivation radicalaire de l'oxygène, Inhibition de la peroxydation lipidique
<b>anticancéreux</b>	Caroténoïdes, Polyphénols, flavonoïdes	Inhibiteurs de tumeur, Développement inhibé du cancer du poumon, activité anti-métastatique
<b>Autre</b>	Alcaloïdes, Terpénoides, Composés aromatiques volatils	Agents neuropharmacologiques, Antioxydants, Chimio prévention du cancer

# *Matériel et méthodes*

## II Matériel et méthodes

### II.1 Matériel Biologique

#### II.1.1 La plante étudiée *Erysimum gramineum* pomel .

Plante herbacée annuelle. Feuilles basales et caulinaires, simples, aux marges entières. Fleurs encore plus petites ; feuilles subfiliformes ; siliques grêles à nervures peu marquées, tétragone, en grappes longues (Battandier et Trabut, 1888).

##### II.1.1.1 Famille des Brassicaceae

Sont l'une des familles de plantes les plus diverses , les espèces ont des caractères phénotypiques qui les distinguent des autres familles, comme une corolle en forme de croix , six étamines et une capsule qui a souvent un septum. La famille comprend 49 tribus, 321 genres et plus de 3660 espèces, y compris de nombreuses espèces de cultures économiquement importantes ( Alshehbaz, 2012 ).



**Figure 8** : Photographie illustrant l'espèce *Erysimum gramineum* pomel.

A. fleur et fruit B. feuille (Djillali, 2021).

### II.1.1.2 Caractéristiques botaniques

Ce tableau présente la systématique d'*Erysimum gramineum* pomel selon la classification de Cronquist (1981) (**Tableau 2**).

**Tableau 2:** Systématique de la plante *Erysimum gramineum* pomel.

<b>Règne</b>	<b>Plantae</b>
<b>Classe</b>	<b>Magnoliopsida</b>
<b>Ordre</b>	<b>Brassicales</b>
<b>Famille</b>	<b>Braceaceae</b>
<b>Genre</b>	<b>Erysimum</b>
<b>Espèce</b>	<b><i>Erysimum gramineum</i> P</b>
<b>Nom vernaculaire</b>	افلوة ( عشبة كل بلية )

### II.1.1.3 Échantillonnages

Les conditions de récolte de la plante étudiée sont réunies dans le **Tableau 3**

**Tableau 3:** Les propriétés de la plante étudiée.

Nom botanique	Date de récolte	Lieu de collecte	Organe	Distribution	Référence
<i>Erysimum gramineum</i> pomel	12/06/2021	Laghoutat (Aflou)	Feuille , fleur et fruit	L'Atlas Saharien oranais, ElGhicha, Gueltat Sidi Saad, Itima	(Djilali ,. 2021)

## II.1.2 Les souches microbiennes

L'activité antibactérienne a été évaluée vis-à-vis d'un panel de bactéries (Gram+ et Gram-) à caractère Pathogène. Notre choix d'étude s'est porté sur plusieurs cibles bactériennes, car chacune d'elle possède des structures cellulaires et un métabolisme particulier.

Ces souches pathogènes utilisées sont parmi celles qui causent les maladies les plus courantes, ce sont des contaminants fréquents, provoquant ainsi des infections importantes.

Nous avons utilisé dans cette étude des souches de référence ATCC (figure 9), qui sont mentionnées dans le tableau suivant :

Tableau 4: Références des microorganismes testés dans notre étude .

	Souches bactériennes	Références
Gram (-)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Escherichia coli</i>.</li> <li>• <i>Pseudomonas aeruginosa</i></li> <li>• <i>Klebsiella pneumoniae</i></li> <li>• <i>Yersinia enterocolitica</i></li> </ul>	ATCC 25922 ATCC 27853 ATCC 70603 ATCC 9610
Gram (+)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Staphylococcus aureus</i></li> </ul>	ATCC 25923
Levure		
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Candida albicans</i></li> <li>• <i>Candida albicans</i></li> </ul>	ATCC 10231 ATCC 26790



Figure 9: Les souches microbiennes étudiées.

## II.2 Méthodes expérimentales

L'objectif de notre travail consiste à tester une technique d'extraction des différents composants contenus dans les parties aériennes de la plante *Erysimum gramineum* pomel (fleurs et fruit, feuille) par sonication, en utilisant trois solvants à polarité croissante (Hexane, Acétate d'éthyle, méthanol), à température ambiante, pendant 15min.

La réalisation de cette étude se déroule en plusieurs étapes représentées dans la **figure** ci-après :

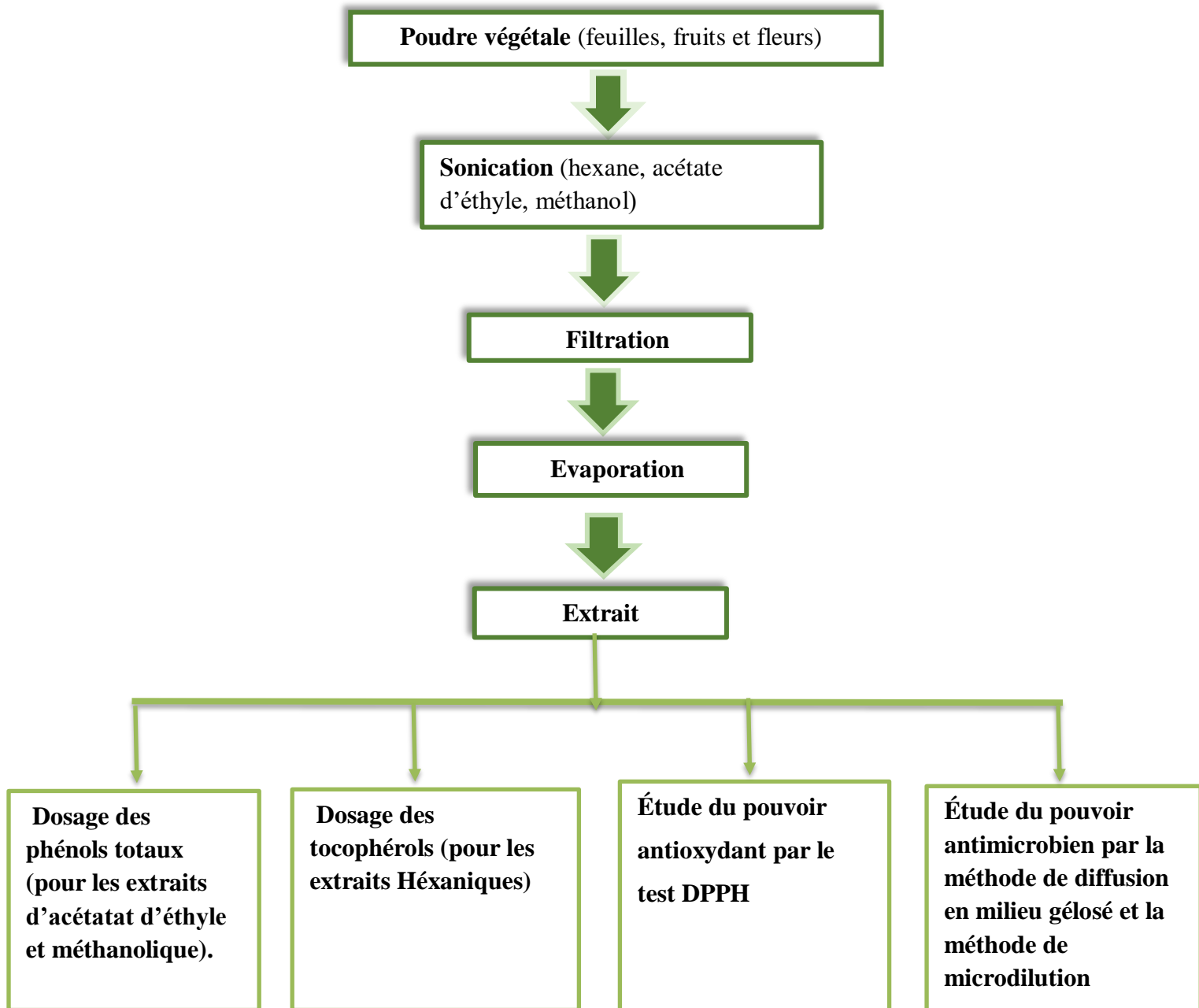


Figure 10: Organigramme expliquant les principales étapes de notre travail (Original, 2022).

## II.2.1 Extraction

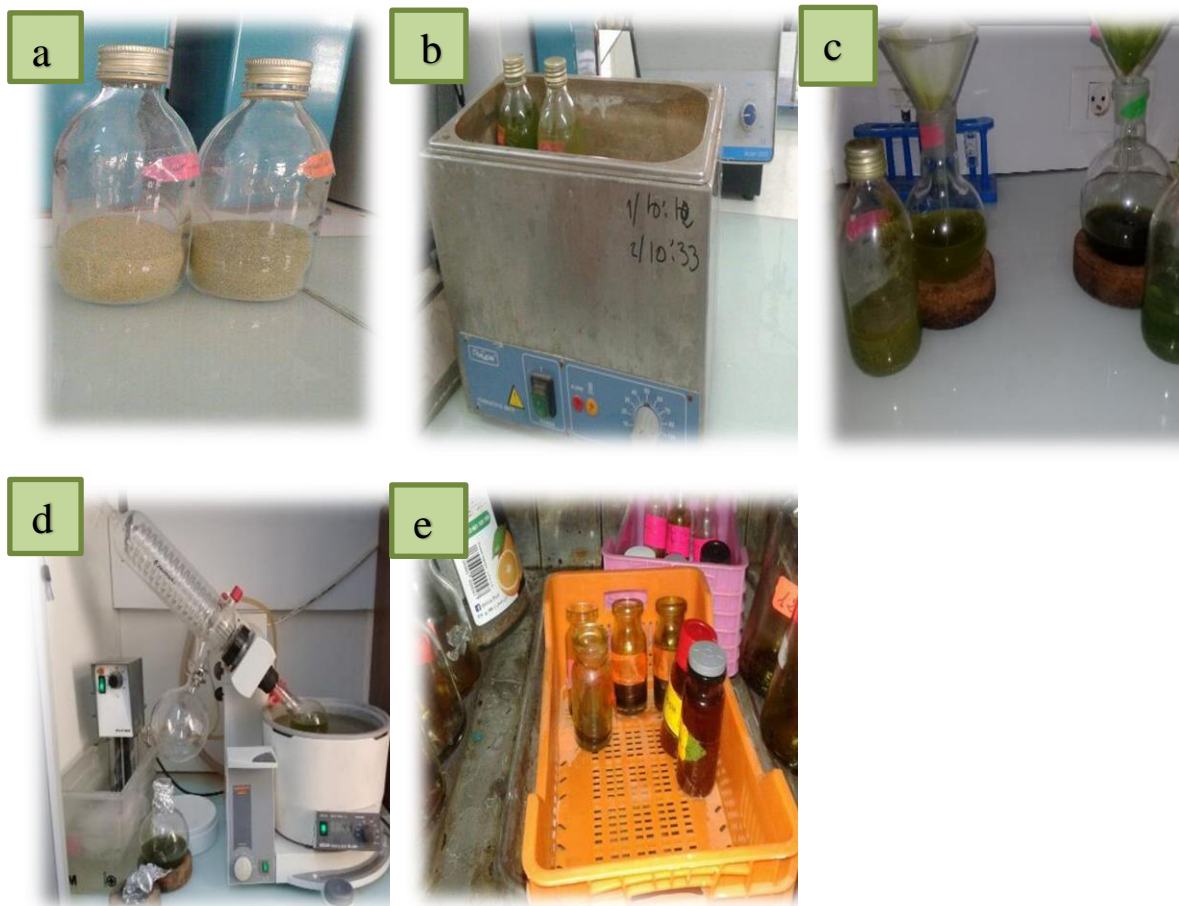
La méthode utilisée pour l'extraction des métabolites est la sonication, en raison de sa simplicité : un gain de temps, une température ambiante ainsi que des quantités plus faibles de solvant utilisé et une grande reproductibilité (Rezaire, A. 2012).

### II.2.1.1 Le procédé d'extraction

Au cours de cette étude, et afin de solubiliser un maximum de composés, trois solvants de polarités différentes (Hexane, Acétate d'éthyle et Méthanol) sont employés.

L'extraction était réalisée par sonication, en plaçant pour 40g de la poudre des feuilles, et 30g de la poudre des fruits dans 150 ml de solvant (Figure 11a), l'extraction est réalisée pendant 15 min et à la température de 35 °C (Figure 11b). Avant l'utilisation d'un nouveau solvant, la poudre végétale doit être séchée du solvant précédent (Figure 11c). Après la filtration des extraits organiques ont été concentrés sous vide aux températures de 45 C° (Figure 11d). Après la concentration, ces extraits ont été séchés dans l'étuve (Figure 11e). On a obtenu pour chaque partie de plante trois extraits bruts : feuille (Hexane feuille, Ac-O-Et feuille, MeOH feuille), et fruit et fleur (Hexane fruit et fleur, Ac-O-Et fruit et fleur, MeOH fruit et fleur).

La figure suivante représentées les différentes étapes de l'extraction par la méthode de sonication :



**Figure 11:** Les étapes expérimentales de l'extraction.

### **II.2.1.2 Détermination du rendement**

Le poids de l'extrait sec est déterminé par la différence entre le poids de ballon plein (après évaporation) et le poids du ballon vide (avant évaporation).

$$\mathbf{R\ (\%) = (M\ ext / M\ éch) \times 100}$$

Où :

**R** : le rendement en (%) ;

**Mext** : la masse de l'extrait après évaporation du solvant en (g) ;

**Méch** : la masse sèche de l'échantillon végétal en (g).

## **II.3 Dosage de polyphénols totaux**

En raison de l'hétérogénéité des composés phénoliques naturels et la possibilité de leur interférence avec d'autres substances facilement oxydables, plusieurs méthodes sont utilisées pour la détermination des composés phénoliques totaux mais aucune n'est parfaite.

Le dosage des polyphénols totaux dans les extraits des fleurs et feuilles de *Erysimum gramineum* P est effectué selon la méthode de Folin Ciocalteu. Cette méthode est la plus employée pour doser les polyphénols totaux. (**Kahkonen et al., 1999**).

### **II.3.1 Principe**

Les polyphénols ont été déterminés par spectrophotométrie selon la méthode de Folin-Ciocalteu (**Singleton et al., 1999**) ; Ce réactif de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif Folin-Ciocalteu en un complexe ayant une couleur bleu constitué d'oxyde de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés (**Boizot et al., 2006**).

#### **II.3.1.1 Mode opératoire**

Pour établir la courbe d'étalonnage de l'acide gallique, une gamme des solutions diluées d'acide gallique a été préparée à partir d'une solution étalon. Deux cents cinquante microlitres de réactif de Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois) ont été ajoutés à 50 µl de chaque solution diluée de l'acide gallique ou de l'extrait végétal après 2 min, 1 ml de carbonate de sodium Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> à 4% (m/v) ont été ajoutés, ces solutions ont été maintenues à l'obscurité pendant 30 min à température ambiante. La lecture de l'absorbance de chaque solution est

effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre de Shimadzu 1601 à une longueur d'onde de 760 nm contre un blanc (ce qui nous a permis de tracer la courbe d'étalonnage de l'acide gallique et de doser les phénols totaux dans nos extraits).

## **II.4 Etude des tocophérols**

La vitamine E est un terme générique qui désigne l'ensemble des tocophérols et tocotriénols, ce sont des antioxydants puissants, parmi l'ensemble de ces composés ; l'alpha tocophérol qui possède l'activité biologique la plus importante (**Bandt,1996**).

### **II.4.1 Dosage spectrophotométrique des tocophérols totaux**

#### **II.4.1.1 Principe**

La méthode adoptée pour ce dosage est celle d'Emmerie-Engel (**Emmerie et Engel, 1939**). Cette méthode colorimétrique est basée sur la réaction d'oxydoréduction entre les tocophérols et le fer ferrique ( $Fe^{3+}$ ) qui est réduit en fer ferreux ( $Fe^{2+}$ ). Ce dernier, en présence phénanthroline forme un complexe rouge-orangé stable dont le coefficient d'extinction molaire à 510 nm est très élevé (**Nebeg,2019**).

#### **II.4.1.2 Protocole**

Une droite d'étalonnage est tracée à partir du tocophérol commercial, permet de relier la densité optique. À partir d'une solution commerciale de la vitamine E, nous avons préparé dans l'hexane différentes dilutions. Par la suite, 1 ml de réactif phénanthroline et 0.5 ml  $FeCl_3$  (solutions éthanoliques) sont ajoutés à 1 ml de chaque solution fille. Après 3 min on mesure l'absorbance à 510 nm.

Le contenu en tocophérols totaux dans l'extrait d'*Erysimum gramineum* pomel est déterminé de la même façon en répétant ce test trois fois pour chaque échantillon, La concentration en tocophérols est obtenue à partir de la courbe d'étalonnage.

## **II.5 L'évaluation de l'activité antioxydante**

Un antioxydant est une substance qui, ajoutée à faibles doses à un produit naturellement oxydable, est capable de ralentir le phénomène d'oxydation, en augmentant le temps d'apparition d'une altération du produit.

Plusieurs méthodes *in vitro* ou *in vivo* ont été développées pour mesurer " l'activité antioxydante totale ". Parmi eux, la capacité de réduction de l'oxygène /antioxydant (FRAP) ou les radicaux ABTS• ainsi que la méthode utilisant le radical libre DPPH•. Ces méthodes

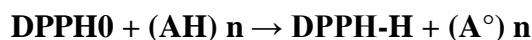
sont basées ; soit sur une réaction de transfert d'électrons simple ; soit sur une réaction de transfert d'atomes d'hydrogène du groupement hydroxyle entre un oxydant et un radical libre.

Généralement, le test DPPH• est recommandé pour évaluer l'activité antioxydante des composés contenant au moins l'un des groupes (SH-, NH- et OH-). De plus, il s'effectue à température ambiante, ceci permettant d'éviter tout risque de dégradation thermique des molécules thermolabiles (Popovici *et al.*, 2010).

### **II.5.1 Principe du test DPPH**

Cette méthode est rapide et facile à réaliser, largement utilisée pour évaluer et comparer l'activité antioxydante de grand nombre des composés ou des extraits, ces derniers permettant à réagir avec un radical stable coloré (violet foncé), qui possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote centré. La solution de DPPH• avec le méthanol ou l'éthanol ou l'eau est caractérisée par une bande absorbante à environ (517 nm).

Lorsqu'une molécule antioxydante réduit le radical DPPH, la couleur violette disparaît rapidement pour donner une couleur jaune pâle, selon la réaction suivante (Pokorny *et al.*, 2001).



Où : (AH)<sub>n</sub> : représente une molécule capable de réduire (céder un atome d'hydrogène au radical DPPH°), le radical DPPH-H violet au DPPH-H (DPPH réduit) d'une couleur jaune pâle (figure 12).



**Figure 12:** Structure de 2-2 Diphenyl (1-1) picrylhydrazyl libre et sa forme réduite (Pokorny *et al.*,2001).

### II.5.2 Le protocole expérimental

Une quantité de 0,5 ml d'une solution méthanoïque de DPPH de concentration 250 $\mu$ m a été ajoutée à 0,5 ml d'extrait phénolique de concentration croissantes. Après une incubation de 30 min, nous avons effectué la lecture à l'aide du spectrophotomètre à 517 nm (Nebeg, 2019).

La figure suivante représente les étapes expérimentales du test de DPPH.



**Figure 13 :** Les étapes expérimentales du test DPPH.

**Après avoir tracé la courbe d'après la formule suivante :**

$$I (\%) = [1 - (A / A_0)] 100$$

Sachant que :

I (%) : le pourcentage d'inhibition en %.

A : absorbance de la solution de DPPH en présence de l'extrait.

A<sub>0</sub> : absorbance de la solution de DPPH en absence de l'extrait.

## **II.6 L'étude de l'activité antimicrobienne**

### **II.6.1 La mise en culture**

Les principaux milieux de culture utilisés sont : le milieu Mueller Hinton solide et liquide (pour les bactéries), milieu Sabouraud solide et liquide (pour les levures).

#### **❖ La préculture des souches et préparation des suspension**

Chaque microorganisme a été repiqué à partir des milieux de conservation sur des boîtes de pétri contenant un milieu vierge, puis incubées durant la nuit, à 37°C, 18 à 24 heures d'incubation, pour les bactéries et 24 à 48 heures pour les levures. Quelques colonies ont été prélevées de ces cultures et diluées dans de l'eau physiologique stérile pour atteindre une densité optique de 0,08 à 0,1, à 625 nm ; ce qui correspond à une concentration de 10<sup>8</sup> cellules/ml

(Hammer *et al.*, 1999 ; Faleiro *et al.*, 2003 ; Lahloo, 2004).

#### **❖ Préparation des différentes concentrations des extraits**

Des dilutions successives dans le DMSO, pour préparer une gamme de dilution (C<sub>0</sub>, C<sup>1/2</sup>, C<sub>1/5</sub>) à partir des extraits et fractions (12,5 mg/ml) pour tous les extraits à l'exception de l'extrait hexanique des fleurs (6,65 mg/ml).

### **II.6.2 L'évaluation de l'activité antimicrobienne**

Deux méthodes différentes sont employées pour l'évaluation de l'effet antimicrobien des différents extraits bruts de feuille et de fruit de la plante.

- La méthode de diffusion sur milieu solide qui évalue l'activité antimicrobienne des différents extraits.

- La méthode de microdilution qui a pour objectif la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI), bactéricide et fongicide (CMB et CMF) à partir d'une gamme de concentrations de produit dans le milieu de culture.

#### **A. Le mode opératoire de méthode de diffusion sur gélose**

A partir une suspension bactérienne préparée dans l'eau physiologique et ajustée à  $10^8$  Cellules/ml, nous avonsensemencé par un écouvillon une gélose Muller-Hinton (pour les bactéries) et Sabouraud (pour *Candida* 10 et 26), puis des disques stériles ont été appliqué sur la gélose. Ces disques sont formés par du papiers wattman n° 3 de 5 mm de diamètre (**El-Houiti, 2010 ; Ayadi *et al*, 2011 ; Benabed, 2011**).

Nous avons imbibé chaque disque d'un volume fixe de 10  $\mu$ l de l'extrait ; l'opération a été répétée 3 fois pour chaque dilution (3 disques de la même dilution par concentration).

Finalement, les boîtes de Pétri ont été incubées pendant 18 à 24 heures à 37°C (**figure 14**).

Des témoins sans extrait ont été préparés :

- \*contrôle - : des disques imprégnés par le DMSO (sans extrait).
- \*contrôle+ : par l'antibiotique Amikacine et Amphotéricine-B.

A la fin de l'incubation, nous avons noté l'activité des extraits, en mesurant les zones d'inhibition, claire, autour des disques, à l'aide d'un pied à coulisse. Les résultats de la lecture sont exprimés selon trois niveaux d'activité :

- Résistant ( $D = 6$  mm)
- Intermédiaire ( $6 \text{ mm} < D < 13\text{mm}$ )
- Sensible ( $D > 13\text{mm}$ ) (**Billerbeck, 2007**).

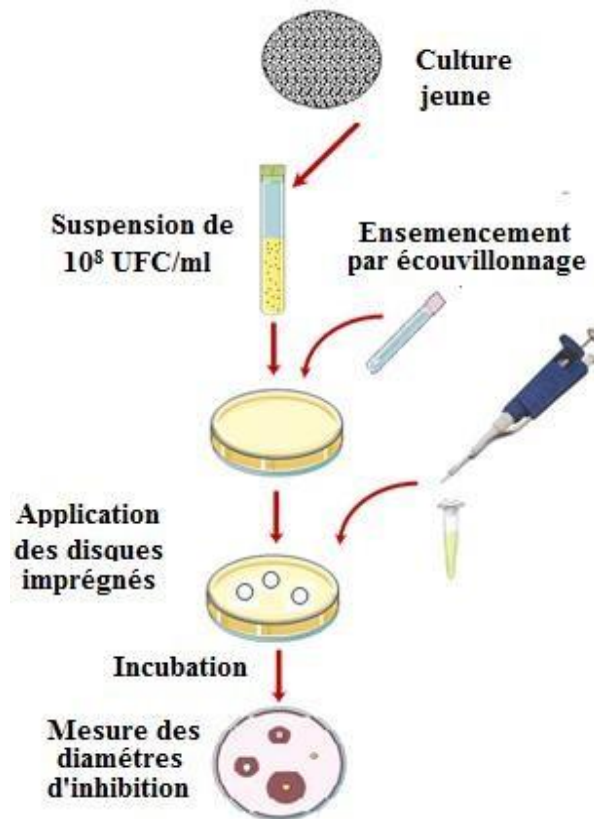


Figure 14: Technique de diffusion (Elkooli, 2016).

### B. La détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La CMI est définie comme étant la première concentration inhibant toute croissance bactérienne visible à l'œil nu, après 18 à 24 heures d'incubation (Caquet, 2004).

#### Mode opératoire

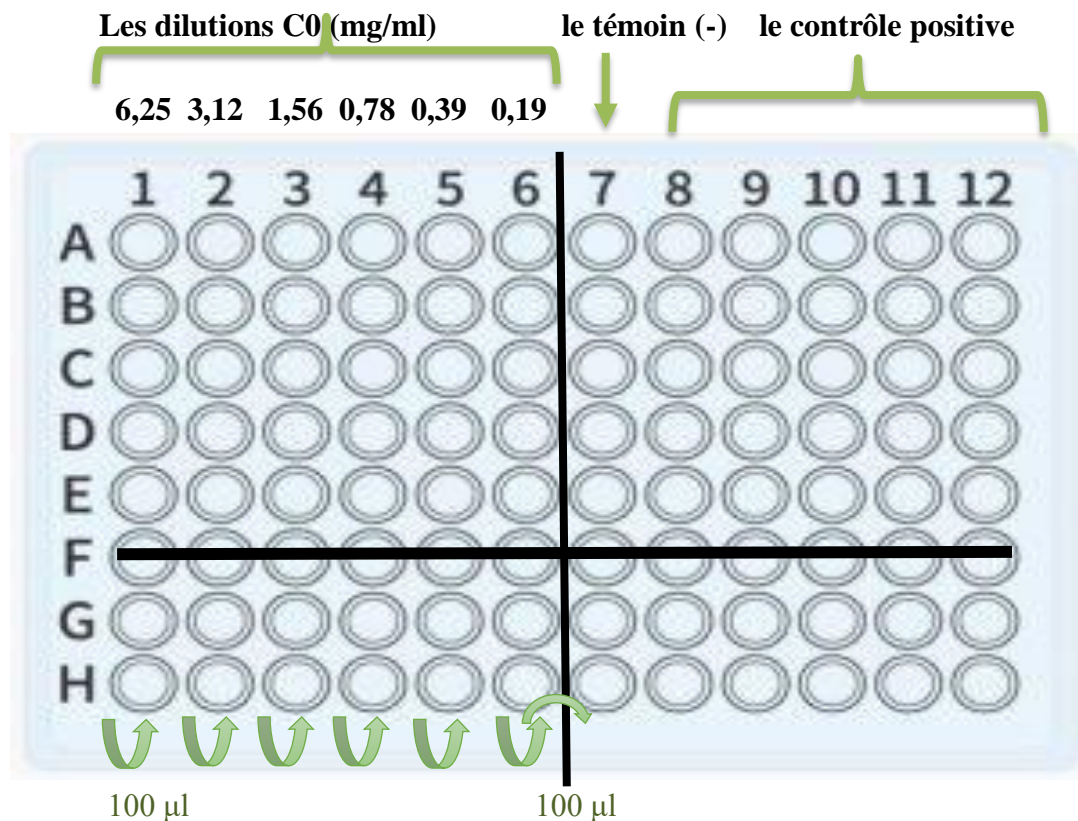
La détermination de la CMI est réalisée par la technique de microdilution en utilisant une Microplaque stérile de 96 puits. En faisant une dilution successive de l'extrait testé afin d'avoir différentes concentrations décroissantes à partir de la solution  $C_0$ .

Nous avons ajouté 100  $\mu$ l de bouillon Muller dans les puits de rangée A à E et le bouillon Sabouraud (pour le *Candida*) de rangée G et H ; puis un volume de 100  $\mu$ l de la solution mère pure ( $C_0$ ) ont été ajoutés puis dilués en série de la colonne 1 à 6 et rangés A à H de concentration décroissante de (6,25 à 0,195 mg/ml) pour chaque extrait sauf pour l'extrait hexanique de fruit pour une gamme de dilution de (3,32 à 0,103 mg/ml).

Un puit servant de témoin négatif sans extrait de volume 100  $\mu$ l de milieu de culture et 100  $\mu$ l de la souche bactérienne, dans le rangée A à H et la colonne 7 (Figure 15).

Nous avons ajouté ensuite les suspensions bactériennes avec une charge  $10^8$  UFC/ml, le volume étant 100  $\mu$ l dans toute la plaque.

Les rongée A à H colonne 8 à 12 ont été conservées pour le contrôle positif de l'antibiotique ; volume de 100  $\mu$ l à concentration décroissante (1000 à 31,25 mg /ml). Un volume excédant de 100  $\mu$ l dans le dernier puit a été jeté (le rongée F est vide). La microplaque est couverte et incubé à 37°C pendant 24h,



**Figure 15:** Méthode de détermination de la CMI par la méthode de microdilution (Original ,2022).

**A.** *E. Coli* **B.** *P. aeruginosa* **C.** *S. aureus* **D.** *Y. enterocolitica* **E.** *K. pneumoniae* **G.** *C. albicans* 10 **H.** *C. albicans* 26.

➤ **Evaluation des résultats**

Les résultats sont notés à l'œil nu après l'ajout de la solution d'Iodonitrotetrazolium chloride (INT) volume de 40  $\mu$ l (0.2mg/ml) à chaque puit et la plaque a été incubée pendant 5 à 30 minutes à 37°C dans l'étuve, jusqu'à ce qu'il y ait un changement de couleur.

Les cellules viables réduisent le réactif à une couleur rose / violette, alors qu'aucun changement de couleur indique une inhibition de la croissance bactérienne.

### **C. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB) en milieu solide**

La CMB (c'est la plus faible concentration pour laquelle 99,99% de l'inoculum initial a été tué (Canillac *et al.*, 2001 ; May *et al.*, 2000 ; Ayadi *et al.*, 2011).

Les puits ayant un aspect clair ont été ensemencés à la surface de la gélose Muller pour les bactéries et le milieu Sabouraud pour l'espèce *Candida* afin de déterminer la CMB.

Après incubation à 37°C pendant 24 heures, Les valeurs de CMB ont été déterminées selon la présence ou l'absence de la croissance des souche bactériennes.

### **II.6.3 Activité antifongique**

Les mêmes opérations sont effectuées avec les souches des champignons, mais dans ce cas le milieu de culture utilisé est le milieu Sabouraud (**voir l'Annexe**).

La CMF (définie comme étant la plus faible concentration d'extrait détruisant de champignon ; c'est une action fongicide) a été déterminée par la réponse (absence de croissance) du repiquage à partir de cultures, de 7 j, n'ayant donné aucune croissance fongique.

### **II.7 L'analyse statistique**

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne  $\pm$  erreur standard (Means  $\pm$  standard error (S.E.M) calculé sur la moyenne de trois expériences pour chaque cas (le calcul est réalisé à l'aide du logiciel Microsoft Excel 2016).

# *Résultats et discussion*

### III Résultats et discussion

#### III.1 Rendement d'extraction et propriétés des extraits obtenues

##### III.1.1 Rendement d'extraction

L'extraction est une étape très importante pour l'isolement et l'identification des principes actifs à haute valeur à partir de la matière végétale.

A notre connaissance, il n'existe pas de travaux publiés sur l'étude des différentes parties de la plante *Erysimum gramineum* pomel.

Dans notre travail, nous avons opté pour la préparation des extraits à partir de la partie aérienne (feuille, fruits et fleurs), l'extraction a été effectuée par des solvants à polarité croissante (de l'hexane, acétate d'éthyle et méthanol). Cette extraction a permis d'obtenir six extraits bruts : extrait hexanique (feuilles, fleurs et fruits), extrait acétate d'éthyle (feuilles, fleurs et fruits), extrait méthanolique (feuilles, fleurs et fruits).

Les rendements d'extraction ainsi obtenus de la plante *Erysimum gramineum* pomel sont présentés dans l'histogramme suivant :

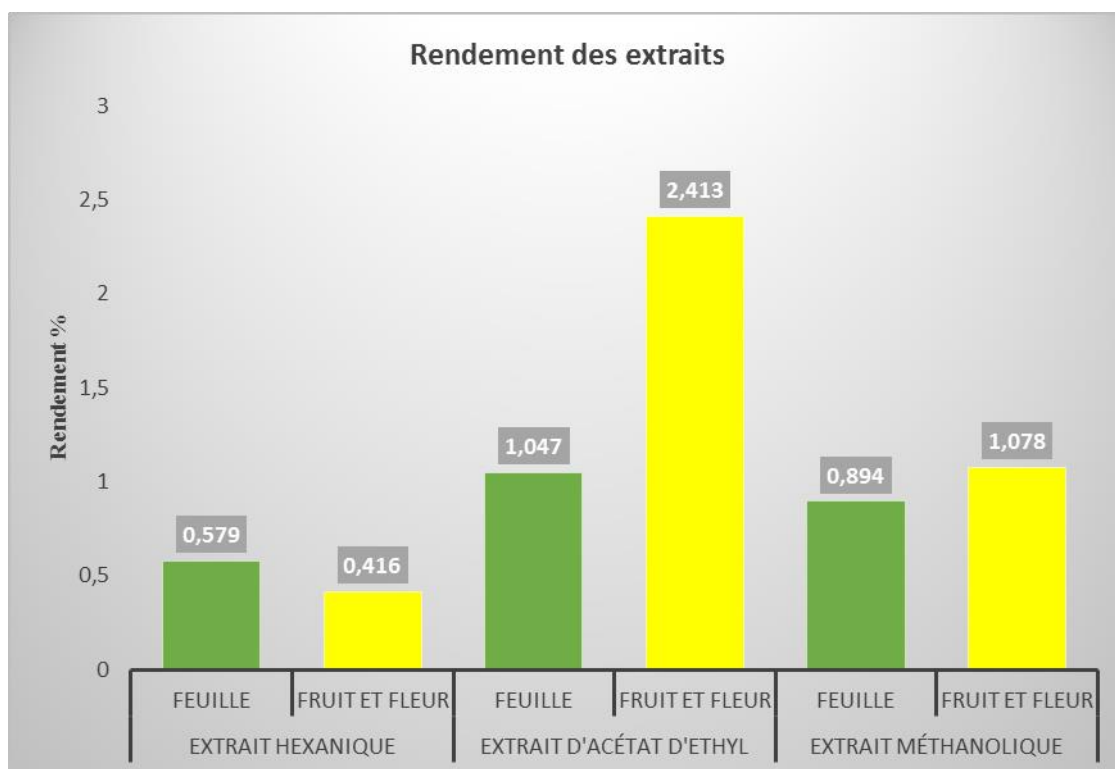


Figure 16: Histogramme présentant le rendement de l'extraction

Les résultats obtenus montrent que l'extrait de l'acétate d'éthyle donne le meilleur rendement (1,047% « feuille » et 2,413% « fruit et fleur »), suivi par le méthanol (0,894% « feuille » et 1,078% « fruit et fleur »). En revanche un faible rendement a été obtenu avec de l'hexane (0,579% « feuille » et 0,416% « fruit et fleur »).

Le taux d'extraction ainsi que la nature des composés extraits sont influencés par les Conditions de l'extraction, à savoir le type de solvant, la polarité des métabolites extraits, l'état du matériel végétal et les conditions thermiques de l'extraction, ainsi que l'organe étudié (Karima, 2010).

### III.1.1.1 Les propriétés des extraits Obtenus

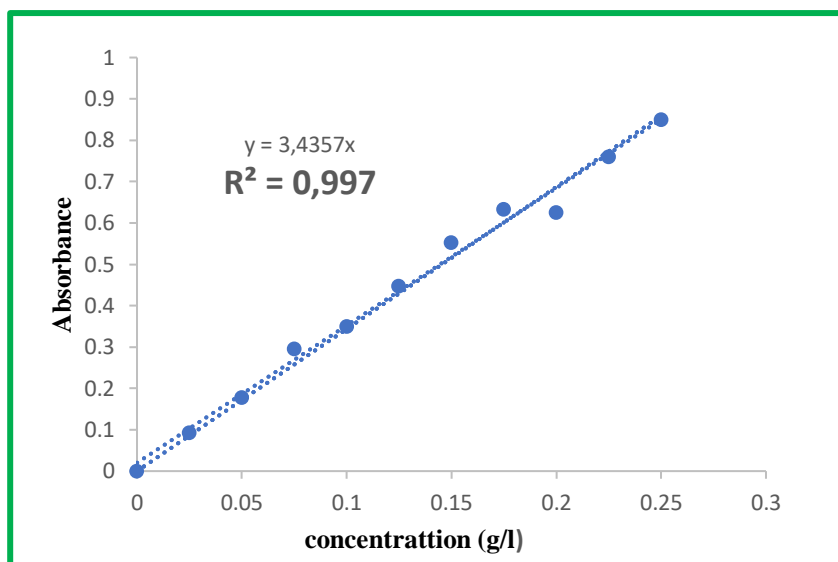
Chaque extrait a été caractérisé par sa couleur et son rendement. Ces éléments sont représentés dans le Tableau 5.

**Tableau 5:** Les propriétés des différents extraits de la plante *Erysimum gramineum* P.

Partie de plante	Extrait	Aspect	Couleur	Odeur	Rendement
Feuilles	Hexane	Pâteux	Vert foncé	Piquante	0,579%
	Ac-O-Et	Pâteux	Vert foncé	Piquante	1,047%
	MeOH	Pâteux	Vert foncé	Piquante	0,894%
Fruits/Fleurs	Hexane	Pâteux	Vert olive	Parfumé	0,416%
	Ac-O-Et	Pâteux	Vert olive	Parfumé	2,413%
	Me OH	Pâteux	Vert olive	Parfumé	1,078%

## III.2 Dosage des polyphénols totaux

Les teneurs en composés phénoliques totaux des différents extraits de la plante étudiée ont été calculées à partir de l'équation de la courbe d'étalonnage d'acide gallique (Figure 17).



**Figure 17:** La courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Les teneurs sont exprimées en g d'équivalent d'acide gallique (GAE)/100 g d'extrait sec. Tous les essais ont été répétés au moins trois fois. Les résultats sont mentionnés dans le tableau (6) :

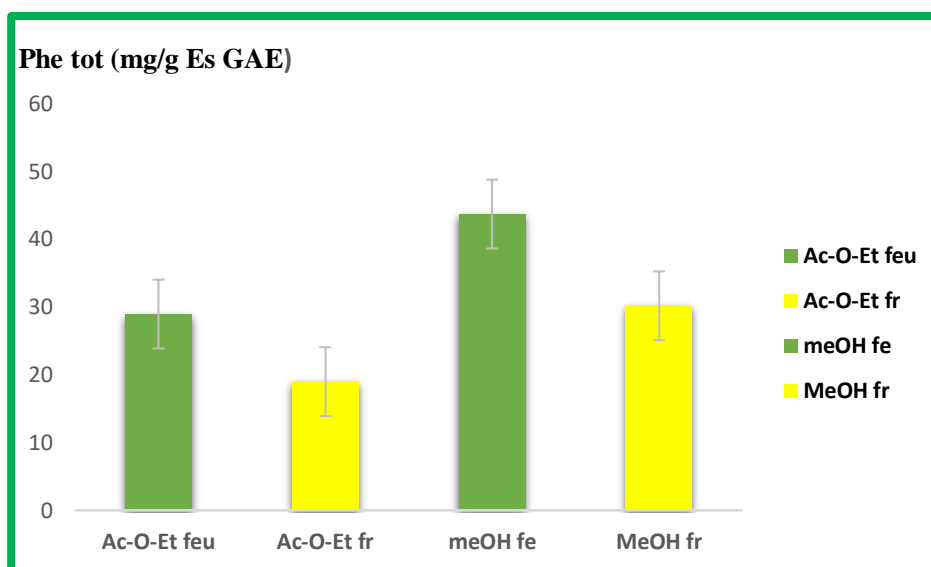
**Tableau 6:** Les teneurs en phénols totaux des deux extraits.

Organe	Acétate d'éthyle	Méthanol
Feuilles	28,95±2,01	30,17±1,09
Fruits /Fleurs	18,99±0,42	43,70±2,28

Nous constatons que la teneur en phénols totaux s'échelonne entre 18,99 et 43,70 mg/g d'extrait sec .la valeur maximale a été enregistré dans l'extrait méthanolique, par contre la valeur minimale a été enregistré dans l'extrait d'acétate d'éthyle des fruits et fleurs 18,99 mg/g d'extrait sec.

Le méthanol est un bon solvant pour extraire les phénols totaux car les solvants alcooliques donnent des meilleurs taux d'extraction et sont hautement sélectifs pour les polyphénols, et les résultats obtenus dans ce travail confirmé ça, comme ils nous donnent aussi une idée sur la richesse de la partie aérienne de cette plante en composés phénoliques polaires.

Les résultats nous permettent de classer nos extraits par ordre décroissant en contenu de phénols totaux : **MeOH Fr > MeOH Fe > Ac-O- Et Fe > Ac-O- Et Fr (Figure 18).**



**Figure 18:** Histogramme représentant les teneurs en polyphénols dans les différents extraits.

En comparant ces résultats avec ceux obtenus par (Nasereddine, 2021) qui a trouvé que les teneurs en phénols totaux des extraits méthanoliques et des extraits d'acétate d'éthyle d'*Aristolochia longa* sont 24,48 mg/g et 32,55 mg/g d'Es d'extrait sec respectivement. Ces résultats sont inférieurs à nos résultats mais généralement dans la même fourchette.

Une autre étude réalisée par (Nebeg, 2019), qui a trouvé que les teneurs en phénols totaux des extraits de l'acétate d'éthyle et méthanolique de *Thapsia garganica* sur la fraction des feuilles sont (30,76 mg/g et 41,28 mg/g d'ES) respectivement. Des résultats qui sont nettement supérieurs à nos résultats.

La quantité des composés phénoliques dans un extrait végétal est influencée par la nature chimique des composés, ainsi que la méthode d'analyse, la sélection des standards et la présence de substances interférentes (Nacz et Shahidi, 2006). La teneur phénolique d'une plante dépend aussi d'un certain nombre de facteurs tel que : les conditions climatiques, le moment de la récolte, le solvant et la méthode d'extraction, les conditions de stockage.

### III.3 Dosage des tocophérols

Les tocophérols sont des constituants importants dans la fraction lipidique à cause de leurs actions vitaminiques et anti-oxydantes.

Nous avons effectué le dosage de tocophérols des extraits hénanique, et le taux en tocophérols totaux est déterminé à partir de la courbe d'étalonnage de la vitamine E (Figure 19).

Les valeurs sont exprimées en milligramme en équivalent en  $\alpha$ -tocophérol (vitamine E) par un gramme d'extrait (mg EVE /g Es) (Tableau 7).

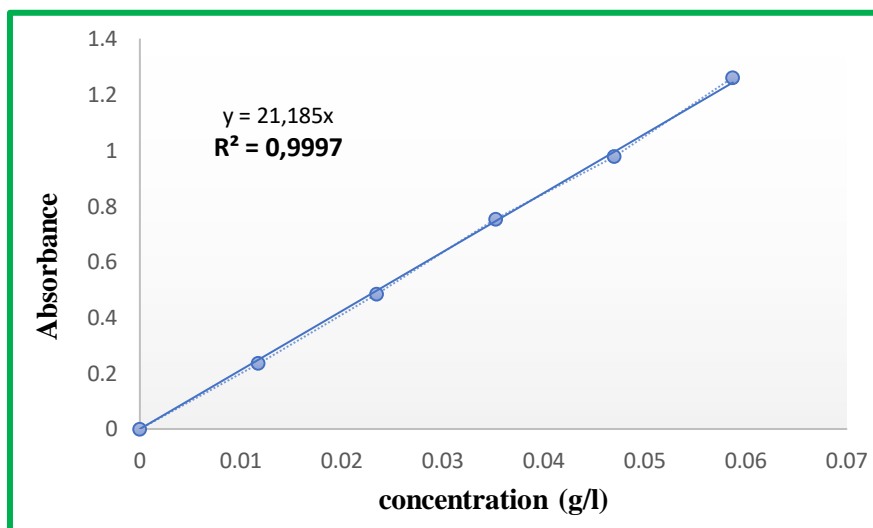
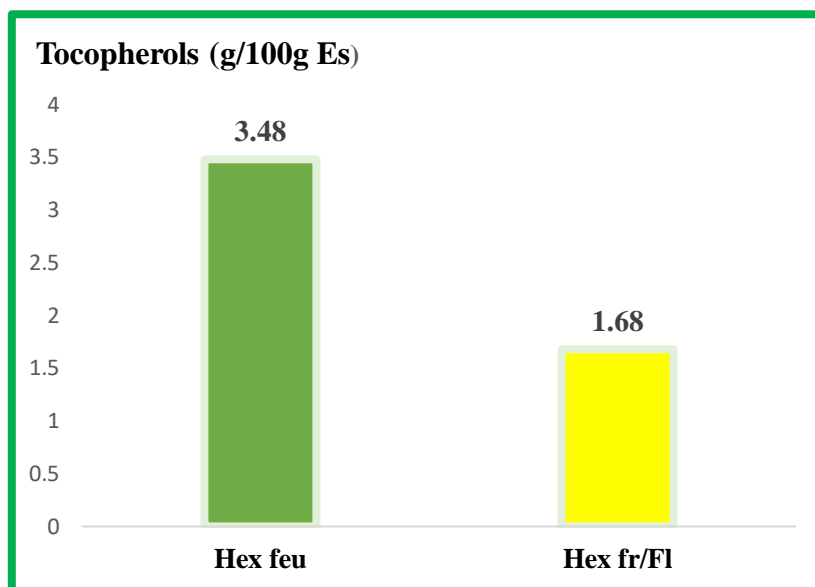


Figure 19: Courbe d'étalonnage de la vitamine E.

Tableau 7: Teneur en tocophérols dans la plante *Erysimum gramineum* pomel.

Les extraits	Teneur en tocophérols (g/100g d'Es)
Feuilles	3,48±0,56
Fruits /Fleurs	1,68±1,13

Les valeurs des tocophérols s'échelonnent entre 1,68 et 3,48 g/100g d'Es, la plus petite valeur a été enregistrée pour l'extrait hénanique des fruits et fleurs (Figure 20).



**Figure 20:** Histogramme représentant les teneurs en tocophérols dans les deux organes

Si nous comparons ce résultat avec les travaux de **Nebeg ,2019**, qui a trouvé une teneur en tocophérols dans les feuilles de *Thapsia garganica* de 0,24g /100g d'huile, nous pouvons dire que les feuilles d'*Erysimum gramineum* pomel sont très riche en tocophérols.

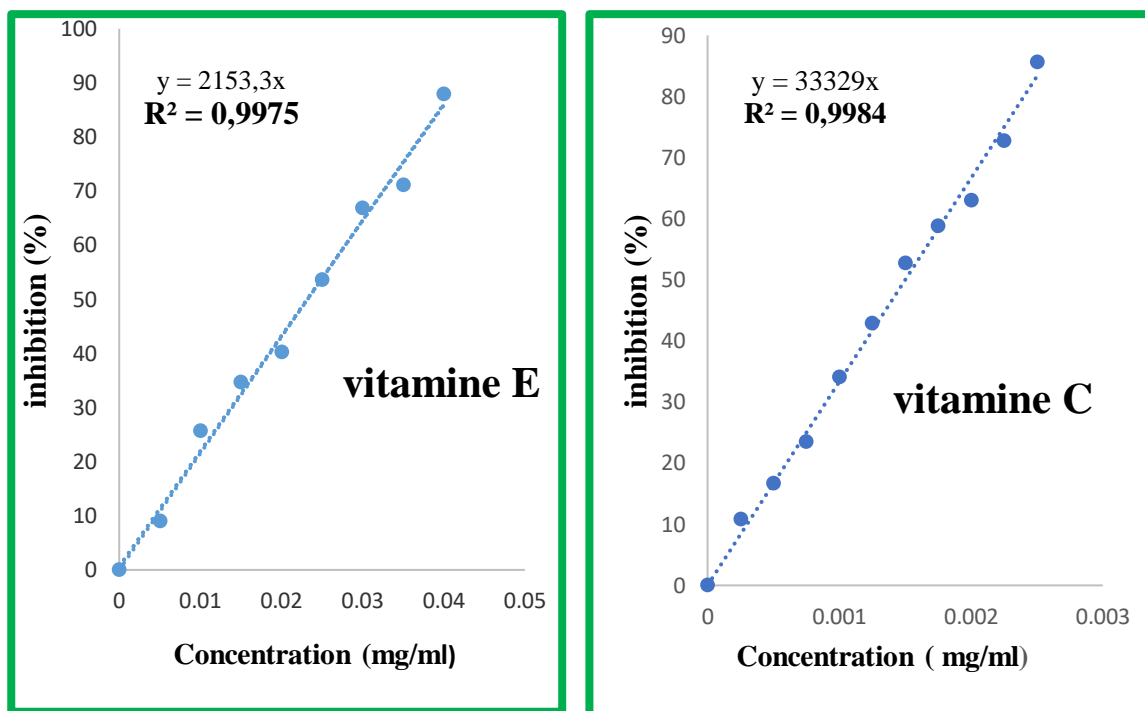
Une autre étude réalisée par nos collègues, **BEN SAHRAOUI et al,2022**, sur les fruits d'*Artemisia campestris*, a montré des teneurs en tocophérols de 0,68 g/100g d'Es, et qui est un résultat nettement inférieur à ce trouvé dans ce travail.

Et afin de mieux connaître la composition qualitative et quantitative en tocophérols, une analyse par chromatographie en phase liquide à haute performance des tocophérols est nécessaire.

### III.4 Résultats de l'activité anti-oxydante

L'activité antioxydante de nos extraits a été déterminée par le test de piégeage du radical libre DPPH, qui est simple et rapide. A l'aide des courbes d'étalonnage de la vitamine C et de la vitamine E (figure 21), nous avons évalué l'activité anti-oxydante des différents extraits.

La capacité anti-oxydante est exprimée par VEEAC (mg/g d'extrait sec) pour les fractions hénanique, et VCEAC (mg/g d'extrait sec) pour les autres extraits, ce paramètre est défini comme la masse ( en mg) de la vitamine E et/ou la vitamine C ayant la même capacité anti-oxydante d'une quantité de 1g de l'extrait étudié.



**Figure 21:** Courbe représentant la variation du pourcentage d’inhibition I% en fonction de la concentration en Vitamine C et en Vitamine E.

Afin de fractionner les molécules en fonction de leurs polarités, et tester leurs capacité anti-oxydante, plusieurs systèmes de solvants à polarités différentes ont été utilisés.

A partir de la courbe d’inhibition de la vitamine E, nous avons calculé les valeurs de VEEAC présentés dans le tableau 8.

**Tableau 8:** Les activités antioxydantes VEEAC des extraits de la plante *Erysimum gramineum* pomel.

Extraits Héxanique	
Organe	VEEAC (mg /g Es)
Feuille	18,08±0,31
Fruit et fleur	5,58±0,00

Les valeurs de VEEAC s’échelonnent entre 5,58 et 18,08 mg/g d’extrait sec pour les extraits Héxanique des feuilles, des fruits et fleurs respectivement, plus la valeur de VEEAC augmente, la capacité anti-oxydante de l’extrait augmente aussi, donc nous pouvons dire que l’extrait Héxanique des Feuilles est plus active que l’extrait Héxanique des fleurs et fruits.

Tous les extraits lipidiques sont moins actifs que la vitamine E, à titre d'exemple l'extrait hénanique des feuilles qui est le plus puissant est presque 56 fois moins actifs que la vitamine E, mais ces résultats restent promeneuse vue que la vit E est un antioxydant de référence pour les matières grasses.

Nous avons essayé de comparer nos résultats avec ceux qui est disponible dans la littérature. Malheureusement aucune étude n'a été publiée sur l'activité anti-oxydante des fractions hénanique des deux parties « feuille, fruit et fleur » de la plante *Erysimum gramineum* pomel . Donc nous avons obligés de comparer nos résultats avec le travail mené par nos collègues, qui ont trouvés que l'activité antioxydante VEEAC des extraits hénanique de la fraction des fruits d'*Artemisia campestris* est de 34,95 mg/g d'Es ; donc nous avons noté que notre extrait Hénanique des fruits est moins actif à celle obtenue par nos collègues.

A partir de la courbe d'inhibition de la vitamine C, Nous avons calculé les valeurs de VCEAC exprimées en mg/g d'extrait sec présentées dans le tableau 9.

**Tableau 9:** les activités antioxydantes VCEAC des extraits de la plante *Erysimum gramineum* pomel.

Organe	Extraits	VCEAC (mg /g Es)
Feuilles	Hénanique	1,10±0,03
	Acétate d'éthyle	1,53±0,20
	Méthanol	2,28±0,23
Fruits, Fleurs	Hénanique	0,10±0,00
	Acétate d'éthyle	0,25±0,18
	Méthanol	3,81±0,10

Les valeurs de VCEAC varient entre 0,10 et 3,81 (mg/g d'extrait sec) pour la fraction des fruits et fleurs, et entre 1,10 et 2,28 mg/g d'Es pour la fraction des feuilles. Plus la valeur de VCEAC est grande plus l'extrait est un bon anti-oxydant. Sur cette base nous avons classé nos extraits par ordre décroissant de la capacité anti-oxydante (figure 22) :

**MeOH Fr > MeOH Fe > Ac-O- Et Fe > Hex Fe > Ac-O- Et Fr > Hex Fr**

Ce classement ne varie pas dans le même ordre avec celui en contenu en phénols totaux, et ce pourrait être expliqué par le fait que la capacité anti-oxydante ne dépend pas seulement des teneurs en phénols totaux mais aussi des structures chimiques des antioxydants.

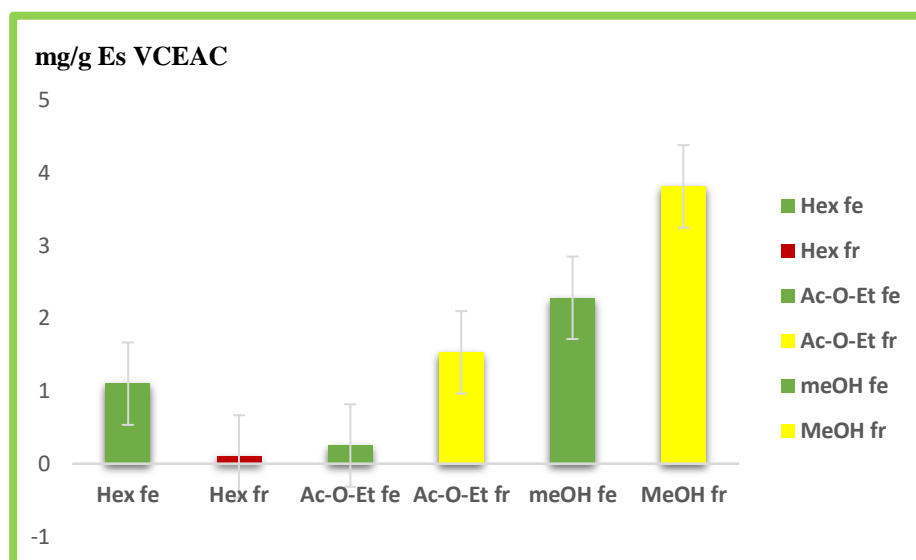


Figure 22: Histogramme représentant les activités anti-oxydantes des différents extraits.

En comparant ces résultats avec nos collègues (ADDA et al,2022) qui ont trouvées que l'activité antioxydante VCEAC de l'extrait méthanolique des fractions aériennes de *Thymelaea viragata* est de 8,258 mg/g d'Es. Ce résultat est supérieur à celui obtenu dans notre étude.

### III.5 Résultats de l'activité antimicrobienne

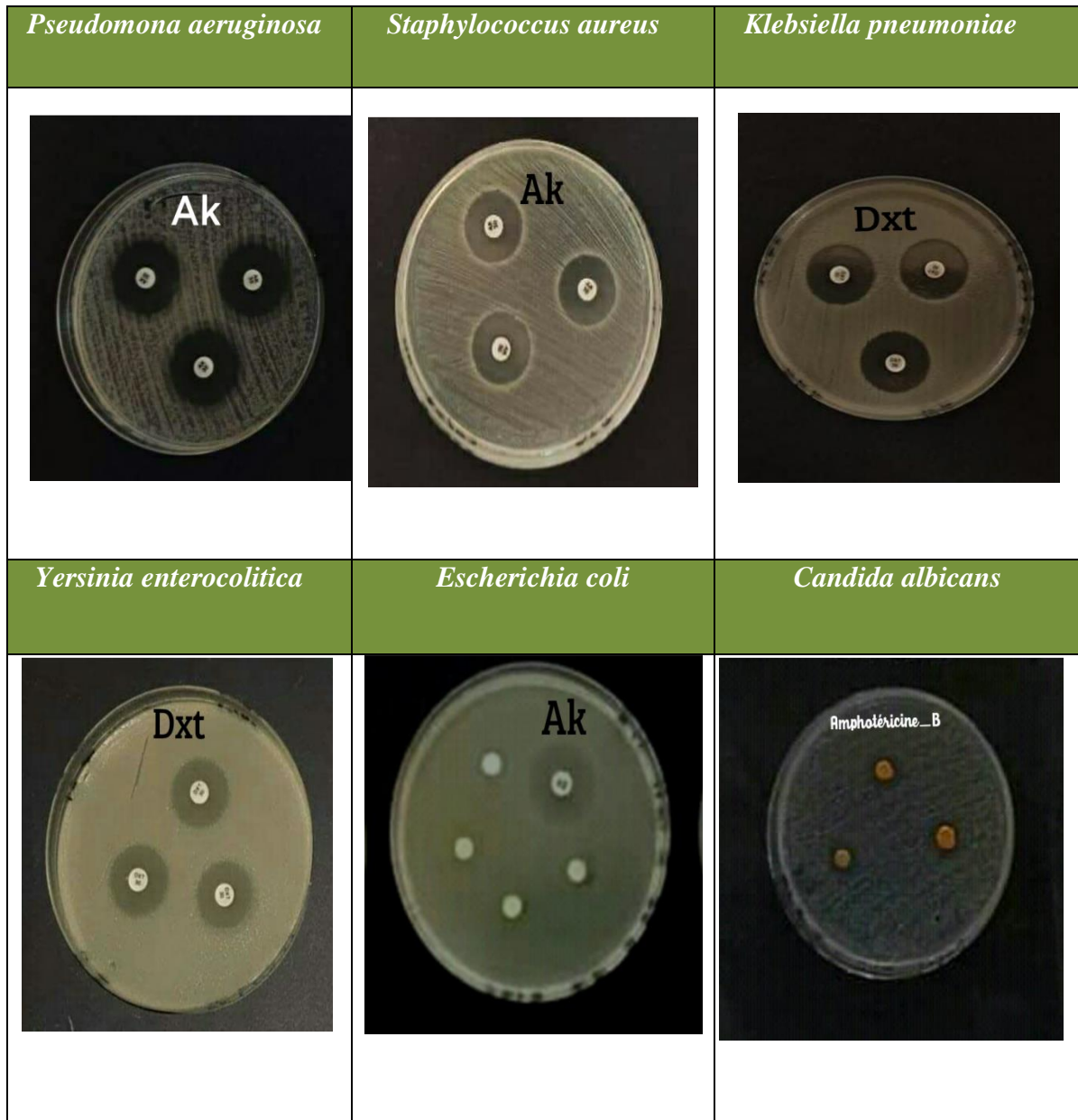
L'activité antibactérienne des différents extraits de la plante *Erysimum gramineum* pomel contre les bactéries et les levures testées est expérimentée par la méthode de diffusion sur milieu solide et la méthode de microdilution sur microplaque. Le potentiel antibactérien est évalué par la mesure du diamètre des zones d'inhibition et la détermination des valeurs de CMI.

#### III.5.1 Résultat du contrôle positif (antibiogramme)

L'antibiogramme consiste à chercher la sensibilité des souches vis-à-vis des antibiotiques utilisés comme contrôle positif, Cette sensibilité est exprimée par l'apparition des zones d'inhibition autour de ces disques (Figure 23) afin de les comparer avec l'effet antimicrobien de nos extraits. Les résultats sont représentés dans le tableau 10.

**Tableau 10:** Diamètre de zone d'inhibition en mm en présence de quelques antibiotiques.

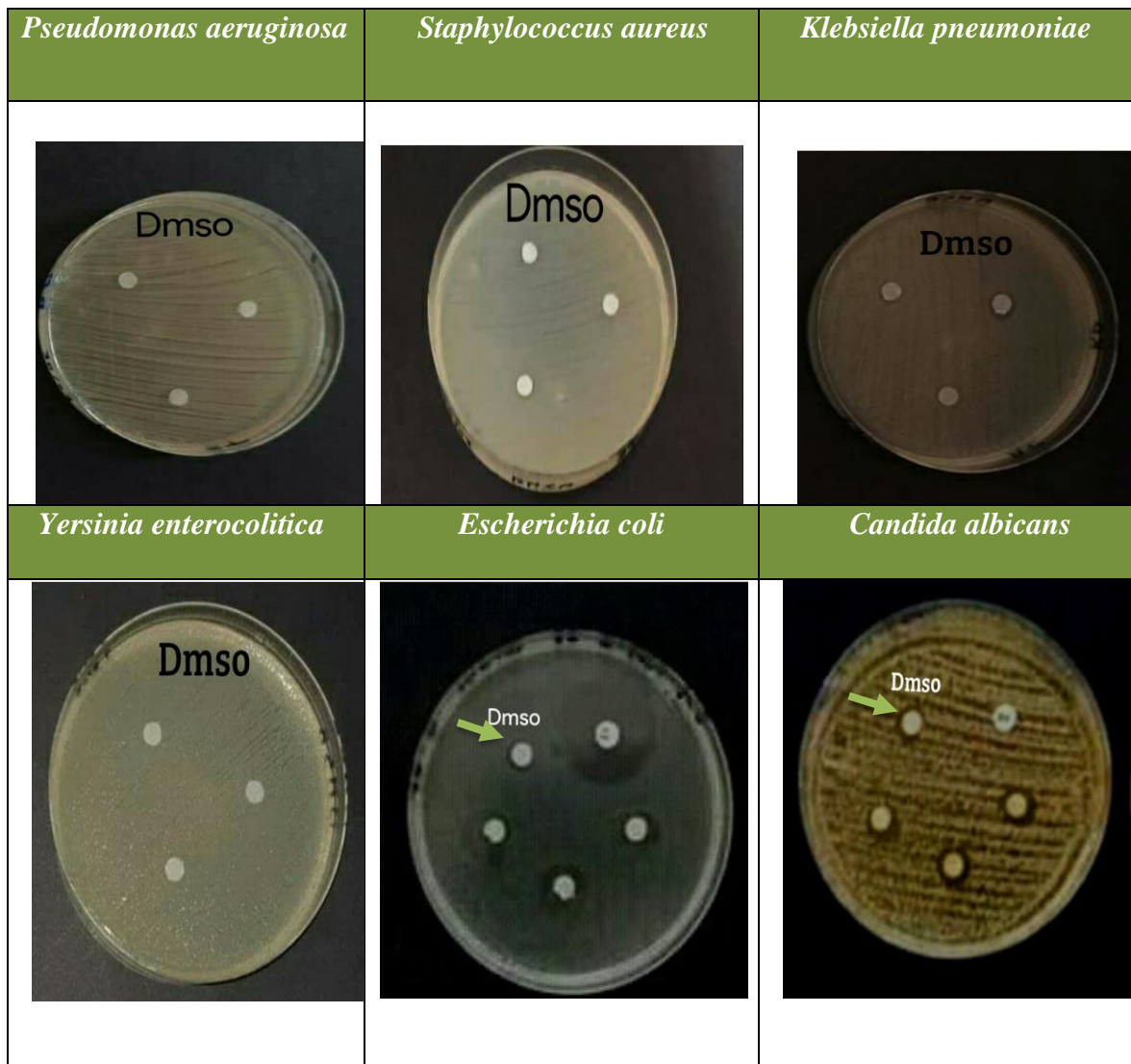
Les souches	AMK	SR	DXT	SP	AMPHO
<i>E. Coli</i>	25	/	/	/	/
<i>P. aeruginosa</i>	33	/	30	5	/
<i>S. aureus</i>	20	/	30	5	/
<i>Y. Enterocolitica</i>	/	/	20	/	/
<i>K. Pneumoniae</i>	/	14	22	/	/
<i>C. albicans</i> 10	/	/	/	/	15
<i>C. albicans</i> 26	/	/	/	/	17



**Figure 23:** l'effet des antibiotiques sur différentes souches microbiennes.

### III.5.2 Résultats de contrôle négatif

Le DMSO n'exerce aucun effet sur la croissance des toutes les bactéries et les levures au milieu gélosé. La figure ci-après représente les résultats des contrôles négatifs.



**Figure 24:** Effet de DMSO sur la croissance des bactéries et des levures

### III.5.3 Résultat du test du pouvoir antimicrobien

Au cours de cette étude, nous avons utilisé la méthode de Vincent afin d'effectuer un antibiogramme pour déterminer la sensibilité des microorganismes, vis-à-vis nos extraits. Après l'incubation, les diamètres des zones d'inhibitions des souches inoculées avec les extraits purs et les deux dilutions (1/2 et 1/5) sont notés et exprimés en millimètres.

Les résultats obtenus dans le test de l'activité antibactériennes par la méthode de diffusion sont représentés dans le tableau 11 et 12.

**Tableau 11:** Les diamètres des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne de la partie des feuilles de la plante *Erysimum gramineum* pomel .

Les concentrations des extraits / Les souches	Extrait feuille Héxanique pure	Extrait feuille Héxanique 1/2	Extrait feuille Héxanique 1/5	Extrait feuille Acétate d'éthyle pure	Extrait feuille Acétate d'éthyle 1/2	Extrait feuille Acétate d'éthyle 1/5	Extrait feuille Méthanolique pure	Extrait feuille Méthanolique 1/2	Extrait feuille Methanolique1/5
<i>Escherichia coli</i>	13,5±1,15	11,66±0,70	10,33±0,57	11±1	9,66±1,15	5±0	12,5±0,70	12±0	5±0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	12,5±0,70	12±0	7±1,73	12,33±1,15	12±1,41	11,33±0,57	11±1	8,66±1,52	6±1
<i>Yersinia enterocolitica</i>	10,66±1,15	8,33±0,57	6±0	7±1	6±0	5±0	6±1	5±0	5±0
<i>Pseudomonas areuginosa</i>	9,66±1,15	8,66±0,57	9±0	9,33±1,15	6±0	5±0	9,33±0,57	8,66±1,15	8,33±0,57
<i>Staphylococcus aureus</i>	10,33±1,15	9,33±1,52	9±1	6,66±0,57	5,33±0,57	5±0	7,66±1,15	5,66±0,57	5±0

**Tableau 12:** Les diamètres des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne de la partie des fruits et fleurs de la plante *Erysimum gramineum* pomel.

Les concentrations des extraits / Les souches	Extrait Fr/F1 Héxanique pure	Extrait Fr/F1 Héxanique 1/2	Extrait Fr/F1 Héxanique 1/5	Extrait Fr/F1 Acétate d'éthyle pure	Extrait Fr/F1 Acétate d'éthyle 1/2	Extrait Fr/F1 Acétate d'éthyle 1/5	Extrait Fr/F1 Méthanolique pure	Extrait Fr/F1 Méthanolique 1/2	Extrait Fr/F1 Méthanolique 1/5
<i>Escherichia coli</i>	11±1	9,5±0,70	6±0	13±1	13±1,41	12,5±0,70	17±1	12±1	11±0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	12,33±1,52	8±0	8±1	9,66±0,57	7,33±0,57	7,33±0,57	13,5±0,70	9,66±1,15	7,66±1,15
<i>Yersinia enterocolitica</i>	13±1	13±0	9,33±1,52	12±1	12±1	11,66±0,57	14±1	12,5±0,70	10,66±0,57
<i>Pseudomonas areuginosa</i>	6,66±0,57	6,33±0,57	5±0	13±1	10±0	9±0	8,33±1,15	7,3±0,57	6,66±0,57
<i>Staphylococcus aureus</i>	9,33±1,15	8±2	5±0	12,66±1,15	7,66±0,57	5±0	9,66±0,57	5,33±0,57	6±0

L'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits (Héxanique, d'acétate d'éthyle, méthanolique) des deux parties (feuilles, fruits et fleurs) de la plante *Erysimum gramineum* pomel, par l'estimation du diamètre de la zone d'inhibition, exprimé en mm, a montré que ces extraits manifestent une activité qui varie en fonction de la sensibilité des souches testées. Ces dernières possèdent des structures cellulaires et un métabolisme particulier. Les résultats sont représentés dans les tableaux 11 et 12.

La variation de l'activité antimicrobienne des extraits s'explique par les variations de leurs compositions chimiques., ce qui nous donne une variation dans le diamètre des zones d'inhibition des extraits (Héxanique, d'acétate d'éthyle, méthanolique) allant de 6 à 13,5 mm, de 5 à 12,33 mm, et de 5 à 12,5 mm respectivement.

Selon les résultats enregistrés les trois extraits (Héxanique, Acétate d'éthyle, méthanolique) sont dotés d'un pouvoir antimicrobien important envers *E. Coli* (12,5mm, 13,5 mm), suivi par *K. pneumoniae* (11,33 mm, 12 ,5mm). Tandis que le reste des souches ont été les moins sensibles avec des zones d'inhibition ne dépassent pas 10,66 mm.

Pour *P. aeruginosa*, aucune sensibilité n'a été révélé vis-à-vis les différents extraits pour les trois dilutions, Cette souche possède un potentiel de résistance très élevé contre l'action antibactérienne.

Cette résistance généralement chez les bactéries à gram négative, pourrait être attribué à la présence de la membrane externe, autour de leur paroi cellulaire (**Burt, 2004**).

Les résultats de l'activité antibactérienne de différents extraits (Héxanique, Acétate d'éthyle, méthanolique) de la fraction des fruits et fleurs par la méthode des disques, nous révèlent une variation de diamètres des zones d'inhibition allant de 5 à 13 mm, 5 à 13 mm et de 6 à 17 mm respectivement.

Chez les bactéries à gram négative, l'activité la plus élevé a été marquée contre la souche *E. Coli* vis-à-vis l'extrait méthanolique de la dilution C<sub>0</sub> dont la valeur moyenne de l'auréole d'inhibition a été 17mm.

Les deux bactéries à gram négative (*K. pneumoniae* et *Y. enterocolitica*) ont révélé une sensibilité très importante avec des diamètres de 13,5 et 14 mm respectivement vis-à-vis l'extrait méthanolique. Tandis que les autres souches (*P. aeruginosa*, *S. aureus*) sont les moins sensibles vis-à-vis les deux extraits (Héxanique et méthanolique) pour les trois dilutions avec des zones d'inhibition ne dépassent pas le 9,66 mm, par contre ces deux

espèces possédant une sensibilité importante vis-à-vis l'extrait de l'acétate d'éthyle de la dilution C<sub>0</sub> avec des diamètres de zone d'inhibition (13mm, 12,66 mm) respectivement.

En vue de la non disponibilité des données sur l'activité antimicrobienne de la plante *Erysimum gramineum* pomel nous avons comparé nos résultats entre eux et avec nos collègues.

**ADDA et al.,2022**, ont mis en évidence l'effet antibactérien des différents extraits (Héxanique, acétate d'éthyle, méthanolique) des fractions aériennes de *Thymelaea virgata*, vis-à-vis les cinq souches bactériennes, qui ont révélées une activité plus importante contre les bactéries à Gram négative (*E. coli* et *K. Pneumoniae*), et une activité moins importante à l'égard des bactéries (*P. aeruginosa*, *S. aureus*). Ces résultats sont similaires à ceux obtenus dans notre étude.

Les résultats obtenus dans le test de l'activité antifongique par la méthode de diffusion sont présentés dans les tableaux 13 et 14.

**Tableau 13:** Les diamètres des zones d'inhibition de l'activité antifongique de la partie des feuilles de la plante *Erysimum gramineum* pomel .

Les concentrations des extraits / Les souches	Extrait feuille Héxanique pure	Extrait feuille Héxanique 1/2	Extrait feuille Héxanique 1/5	Extrait feuille Acétate d'éthyle pure	Extrait feuille Acétate d'éthyle 1/2	Extrait feuille Acétate d'éthyle 1/5	Extrait feuille Méthanolique pure	Extrait feuille Méthanolique 1/2	Extrait feuille Méthanolique 1/5
<i>Candida albicans</i> 26	11±0	9,33±1,15	8±0	11,66±1,52	1,66±1,15	10,33±0,57	11,66±0,57	11±1	9±0
<i>Candida albicans</i> 10	11,66±1,15	10,33±0,57	8,66±0,70	20±1,41	12,5±0,70	9±1,41	13,66±1,15	11,66±1,15	9±1

**Tableau 14:** Les diamètres des zones d'inhibition de l'activité antifongique de la partie des fruits et fleurs de la plante *Erysimum gramineum* pomel .

Les concentrations des extraits / Les souches	Extrait Fr/Fl Héxanique pure	Extrait Fr/Fl Héxanique 1/2	Extrait Fr/Fl Héxanique 1/5	Extrait Fr/Fl Acétate d'éthyle pure	Extrait Fr/Fl Acétate d'éthyle 1/2	Extrait Fr/Fl Acétate d'éthyle 1/5	Extrait Fr/Fl Méthanolique pure	Extrait Fr/Fl Méthanolique 1/2	Extrait Fr/Fl Méthanolique 1/5
<i>Candida albicans</i> 26	12,66±0,57	12,66±0,57	11±1,73	12,66±0,57	12,66±0,57	11±1,41	17±1,41	12,5±0,70	12,33±0,57
<i>Candida albicans</i> 10	11,33±1,52	10,66±0,57	10,66±1,52	18±1,41	14,33±1,52	12±1,41	13,5±0,70	10±0	9±0

En plus de l'activité antibactérienne, nos extraits provoquent aussi l'inhibition de la croissance des levures.

D'après le tableau 13, les extraits (Héxanique, Acétate d'éthyle, méthanolique) de la fraction des feuilles ont montrés des diamètres d'inhibition allant de 8 à 11,6 mm, 9 à 20 mm, 9 à 13,66 mm respectivement.

*Candida albicans* 26 a été moyennement sensible aux différents extraits (Héxanique, Acétate d'éthyle, méthanolique) (8 à 11,66 mm) pour les trois dilutions, par contre *Candida albicans* 10 est extrêmement sensible vis-à-vis les deux extraits (Acétate d'éthyle et méthanolique) de la dilution C<sub>0</sub> avec des diamètres de zone d'inhibition (20 mm et 13,66 mm) respectivement.

Alors, nous avons conclure que l'activité antifongique la plus forte dans la fraction des feuilles a été obtenue par *C. albicans* 10 vis-à-vis l'extrait de l'acétate d'éthyle avec un diamètre de 20 mm.

Pour les extraits (héxanique, Acétate d'éthyle, méthanolique) de la fraction des fruits et fleurs ont présentés de diamètres des zones d'inhibition allant de 11 à 12,66 mm, de 11 à 18 mm, 9 à 17 mm respectivement (Tableau 14).

Une forte sensibilité a été observé chez *Candida albicans* 26 vis-à-vis l'extrait méthanolique de la dilution C<sub>0</sub> (17 mm) et une moyenne sensibilité pour les extraits (Héxanique, acétate d'éthyle et méthanolique) avec des diamètres de zone d'inhibition (11 à 12,66 mm).

En outre, que *Candida albicans* 10 a été fortement sensible vis-à-vis l'extrait de l'acétate d'éthyle de la dilution (C<sub>0</sub> et 1/2) avec des diamètres de (18 mm et 14,33 mm) respectivement, et pour l'extrait méthanolique de (13,5 mm).

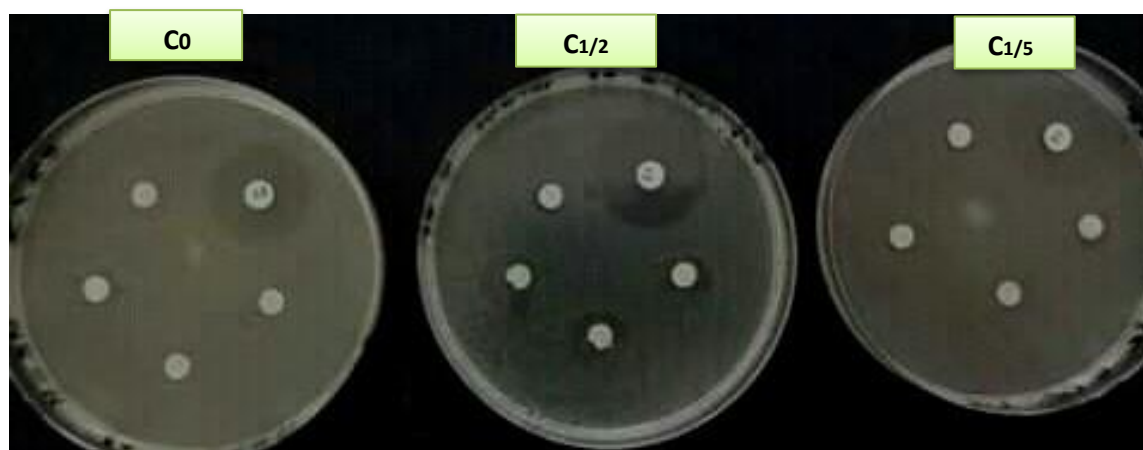
Les deux fractions feuilles, fruits et fleurs de notre étude ont une activité quasi similaire sur les souches testées. Cette variation de pouvoir antimicrobienne peut être due à la composition chimique de chaque fraction de notre plante.

**ADDA et al., 2022**, mise en évidence l'effet antifongique des différents extraits sur les fractions aériennes de *Nulettia chrysocomoides* vis-à-vis *candida albicans* 26 et *candida albicans* 10, elles ont observé une sensibilité très importante à l'égard de *C. albicans* 26 par rapport au *C. albicans* 10. Ce qui est en désaccord avec nos résultats.

Les résultats montrent que les activités antimicrobiennes obtenues sont en relation avec la concentration du principe actif (extrait phénolique ou autre) et de la nature du solvant avec lequel sont extraites les composés.

Les figures ci-dessous montrent l'activité antibactérienne et antifongique des extraits d'*Erysimum gramineum* pomel qui ont une sensibilité importante contre les souches bactériennes et les levures avec des dilutions C<sub>0</sub>, 1/2, 1/5 respectivement.

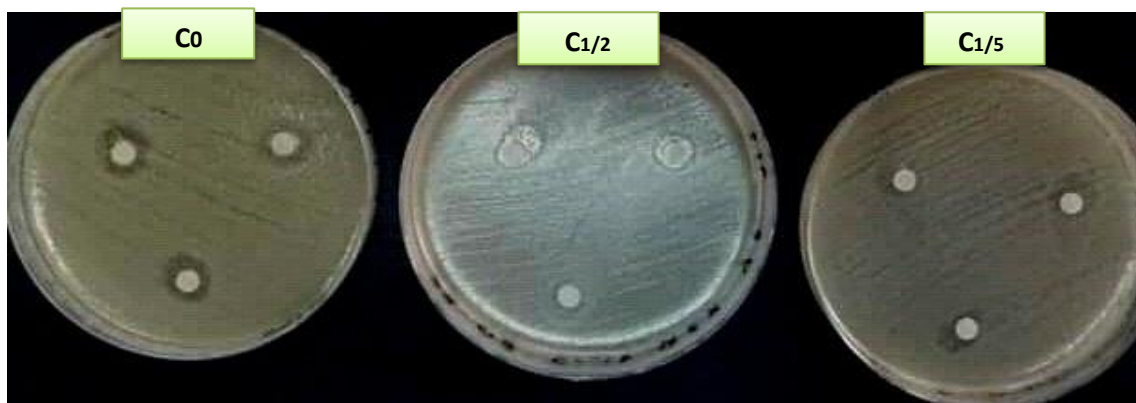
**MeOH Feuille *E coli***



**Hexane Fruit/Fleur *E coli***



Hexane Fruit/Fleur *Y. enterocolitica*



Acétate Fruit/Fleur *Y. enterocolitica*



Acétate Fruit/Fleur *S. aureus*

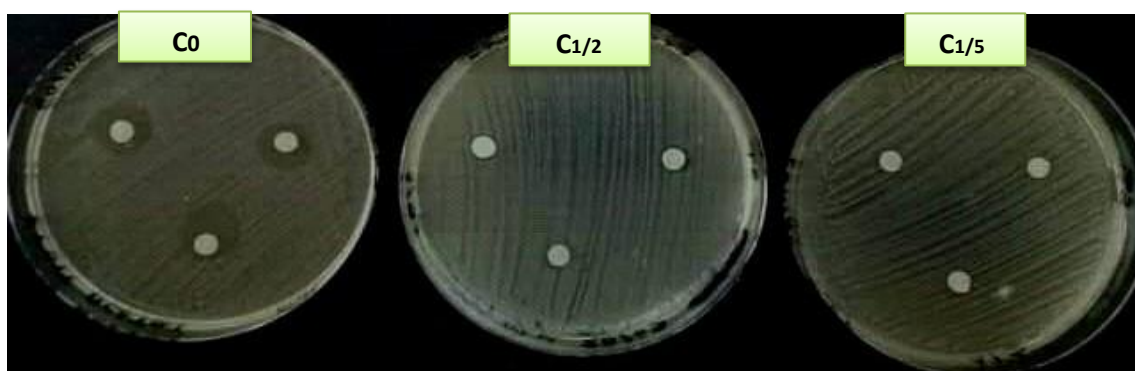
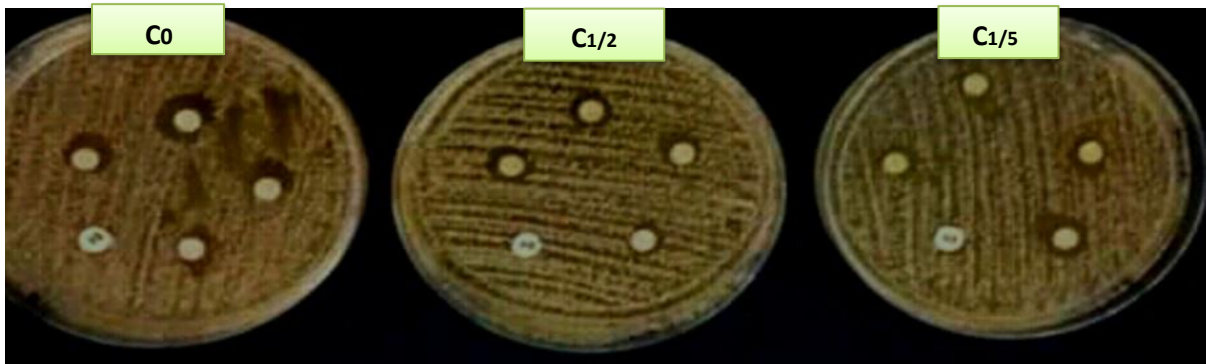


Figure 25: L'effet des extraits du *Erysimum gramineum* pomel sur les différentes souches bactériennes.

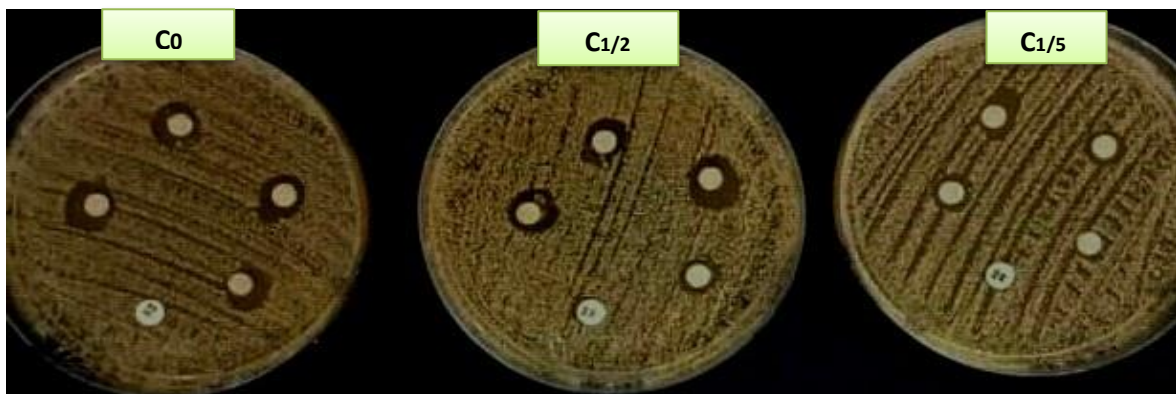
Hexane Feuille *C. albicans* 26

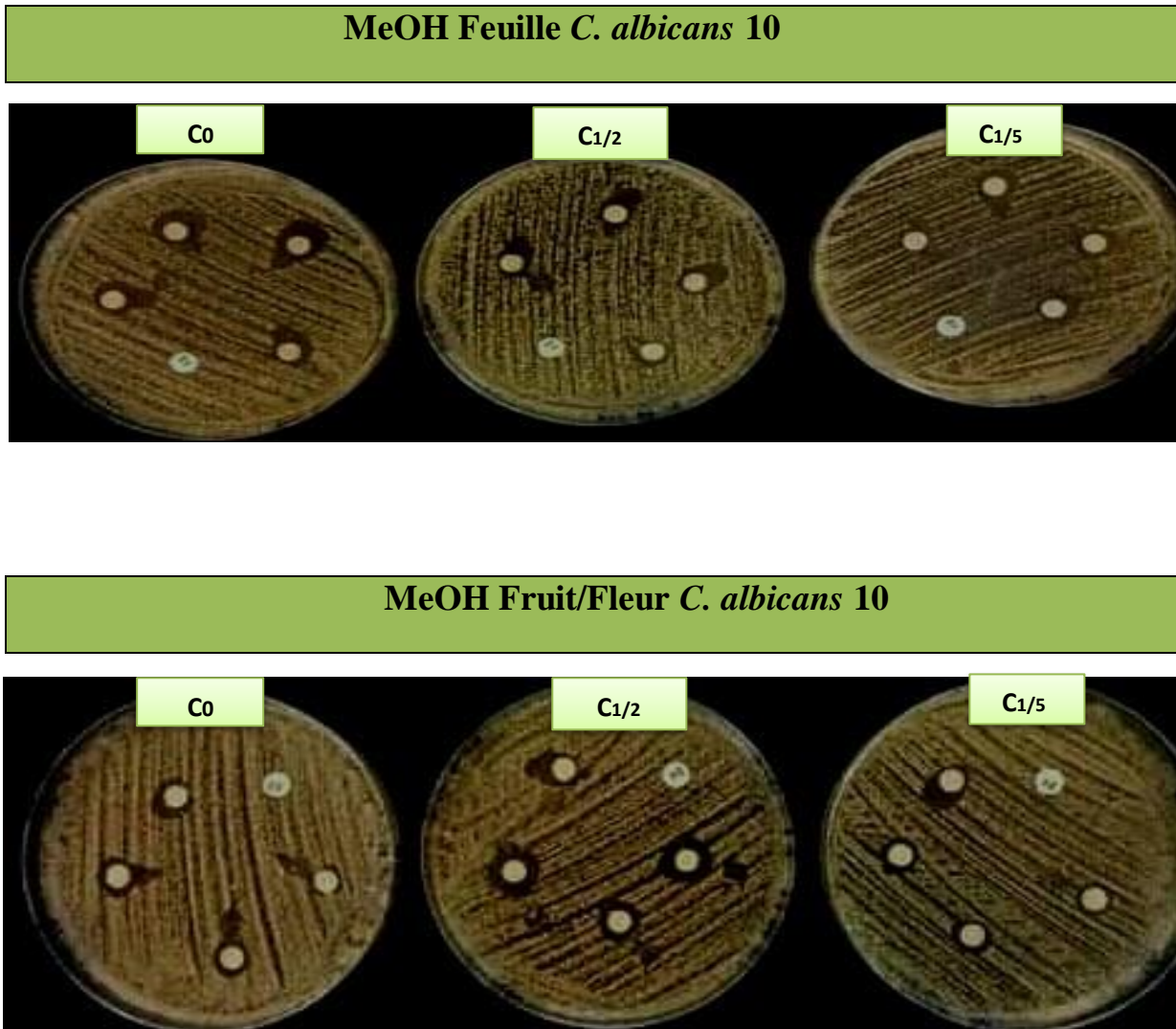


Acétate Feuille *C. albicans* 26



Hexane Fruit/Fleur *C. albicans* 26





**Figure 26:** L'effet des extraits du *Erysimum gramineum* pomel sur les deux levures testées.

#### III.5.4 Les résultats de la détermination de la CMI par la méthode de microdilution.

La détermination des CMI, CMB et CMF ont été réalisées pour tous les souches et les extraits de la dilution C0 qui sont obtenues par la méthode de microdilution pour les différents extraits de la plante *Erysimum gramineum* pomel. ont été rapportés dans les deux tableaux 15 et 16. .

**Tableau 15:** les CMI (mg/ml) et les CMB (mg/ml) obtenues par la méthode de microdilution vis-à-vis les cinq souches bactériennes.

La fraction de la plante		L'extrait														
		<i>Escherichia coli</i>			<i>Staphylococcus aureus</i>			<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			<i>Klebsiella pneumoniae</i>			<i>Yersinia enterocolitica</i>		
	mg/ml	CMI	CMB	CMB / CMI	CMI	CMB	CMB / CMI	CMI	CMB	CMB / CMI	CMI	CMB	CMB / CMI	CMI	CMB	CMB / CMI
<b>Feuilles</b>	<b>Hexane</b>	3,125 <sup>(+)</sup>	>6,25	2	6,25 <sup>(+)</sup>	6,25	1	6,25 <sup>(+)</sup>	>6,25	1	3,125 <sup>(+)</sup>	>6,25	2	6,25 <sup>(+)</sup>	6,25	1
	<b>Ac-O-Et</b>	3,125 <sup>(+)</sup>	6,25	2	6,25 <sup>(+)</sup>	>6,25	1	6,25 <sup>(+)</sup>	>6,25	1	3,125 <sup>(+)</sup>	>6,25	2	6,25 <sup>(+)</sup>	>6,25	1
	<b>MeOH</b>	3,125 <sup>(+)</sup>	>6,25	2	/	/	/	6,25 <sup>(+)</sup>	>6,25	1	3,125 <sup>(+)</sup>	>6,25	2	6,25 <sup>(+)</sup>	>6,25	1
<b>Fruits/ Fleurs</b>	<b>Hexane</b>	1,66 <sup>(++)</sup>	3,32	2	3,32 <sup>(+)</sup>	>3,32	1	3,32 <sup>(+)</sup>	>3,32	1	1,66 <sup>(++)</sup>	>3,32	2	1,66 <sup>(++)</sup>	>3,32	2
	<b>Ac-O-Et</b>	1,56 <sup>(++)</sup>	>6,25	4	3,125 <sup>(+)</sup>	>6,25	2	3,125 <sup>(+)</sup>	>6,25	2	3,125 <sup>(+)</sup>	>6,25	2	3,125 <sup>(+)</sup>	>6,25	2
	<b>MeOH</b>	1,56 <sup>(++)</sup>	>6,25	4	6,25 <sup>(+)</sup>	>6,25	1	6,25 <sup>(+)</sup>	>6,25	1	3,125 <sup>(+)</sup>	>6,25	2	3,125 <sup>(+)</sup>	>6,25	2

Selon les valeurs de la CMI exprimé en mg/ml, les résultats ont été appréciées comme suit :

- Pas sensible (-) pour une valeur comprise entre 25,0 et 50.0 mg/ml,
  - Moyennement sensible (+) pour une valeur comprise entre 3,0 et 12,5 mg/ml,
  - Sensible (++) pour une valeur comprise entre 0,4 et 2 mg/ml et
  - Extrêmement sensible (+++) pour une valeur égale ou inférieure à 0.2 mg/ml
- (Djabou et al., 2013).**

Afin d'évaluer l'activité nos extraits en terme bactéricides ou bactériostatique, Le rapport CMB/CMI a permis de préciser la modalité d'action de la substance **(Fauchere, 2002)**. Selon **Kamanzi (2002)**, l'extrait est bactéricide quand sa CMB est égale à sa CMI ou si le rapport CMB/CMI est inférieur ou égal à 4. Il est dit bactériostatique quand sa CMB est supérieure à sa CMI ou si le rapport CMB/CMI est plus élevé que 4. Lorsque ce rapport est égal à 32, la souche est dite tolérante.

D'après le tableau 15, Les souches bactériennes (*E. coli*, *K. pneumoniae*) de la fraction des feuilles ont été moyennement sensibles vis-à-vis les trois extraits ; avec des valeurs de CMI (3,125 mg/ml) inférieurs à celle des souches (*P. aeruginosa*, *S. aureus*, *Y. enterocolitica*) qui se montrent résistantes avec des valeurs de CMI supérieur (6,25 mg/ml).

D'autre part, pour la fraction des fruits et fleurs ; la souche bactérienne à gram négative (*E. coli*) a été la plus sensible vis-à-vis les deux extraits (Acétate d'éthyle et méthanolique) avec des valeurs de CMI et CMB respectivement de (1,56 et supérieur à 6,25 mg/ml).

Alors que, l'extrait méthanolique était à 6,25 mg/ml, aucune activité inhibitrice vis-à-vis les souches de (*P. aeruginosa*, *S. aureus*).

Ces résultats pourraient être expliqués par le fait que l'extrait de l'acétate d'éthyle et l'extrait méthanolique de la fraction des fruits/fleurs sont dotés du meilleur pouvoir inhibiteur, ces deux extraits testés vis-à-vis la souche de *E. coli* exercent un effet inhibiteur meilleur que les autres extraits de la fraction des feuilles.

D'après les résultats mentionnés dans le tableau 15, nous remarquons dans les deux fractions (feuilles, fruits et fleurs) que les rapports CMB/CMI pour toutes les souches bactériennes étaient inférieur ou égaux à 4 donc notre plante a exercé un effet bactéricide contre les cinq souches bactériennes testées.

Les CMI exhibées par nos extraits (Héxanique, acétate d'éthyle, méthanolique) allant de (3,125 à 6,25 mg/ml) à l'égard des cinq souches bactériennes, des valeurs qui sont nettement supérieures que celle obtenue par (ADDA *et al.*,2022), qui ont marquées des valeurs de CMI allant de (0,195 à 3,125 mg/ml) concernant des fractions aériennes de *Thymelaea virgata* vis-à-vis les cinq souches bactériennes.

On peut conclure, que la sensibilisation des bactéries dans notre étude varie d'une souche à une autre et d'un extrait à un autre.

**Tableau 16:** les CMI (mg/ml) et les CMF (mg/ml) obtenues par la méthode de microdilution vis-à-vis les deux levures.

La fraction de la plante	Les extraits	<i>Candida albicans</i> 26			<i>Candida albicans</i> 10		
		mg/ml	CMI	CMF	CMF/CMI	CMI	CMF
Feuilles	Hexane	0,195	6,25	32	0,195	6,25	32
	Ac-O-Et	0,78	3,125	4	0,390	3,125	8
	MeOH	1,56	3,125	2	0,78	6,25	8
Fruits	Hexane	0,83	1,66	2	0,83	1,66	2
	Ac-O-Et	0,390	1,56	4	0,390	3,125	8
	MeOH	0,195	1,56	8	0,195	>6 ,25	32

Nous remarquons d'après les résultats consignés dans le tableau 16 pour la fraction des feuilles que l'extrait de l'acétate d'éthyle exerce un effet inhibiteur fongistatique similaire à celui de l'extrait méthanolique vis-à-vis de *C. albicans* 10 avec un rapport de CMF/CMI égale à 8. Ces deux extraits exercent un effet inhibiteur fongicide vis-à-vis la levure *C. albicans* 26 avec des valeurs de CMI et CMF égale à (0,78 et 3,125 mg/ml) pour l'extrait de l'acétate d'éthyle et (1,56 et 3,125mg/ml) pour l'extrait méthanolique.

L'extrait héxanique est le plus active par rapport les autres extraits vis-à-vis *C. albicans* 26 et *C. albicans* 10 avec une valeur de CMI égale à 0,195 mg/ml.

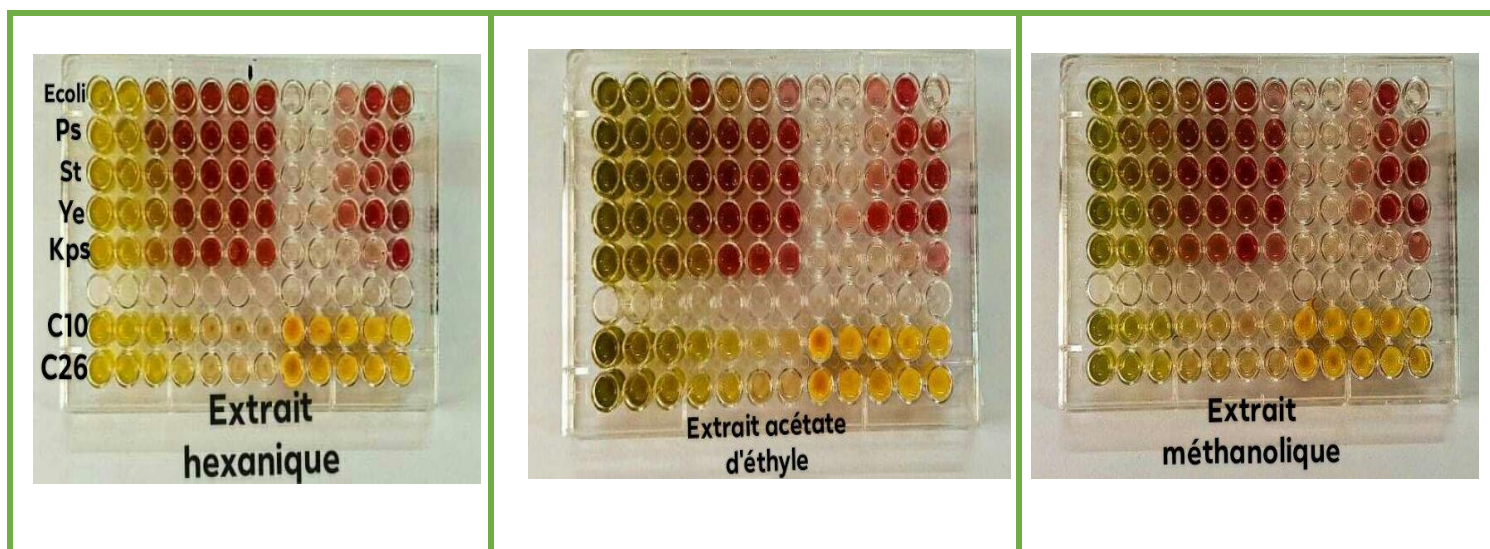
D'autre part, concernant la fraction des fruits et fleurs on remarque des valeurs de CMI quasi similaires entre les deux levures *C. albicans* 10 et *C. albicans* 26.

La plus petite valeur de CMI et CMF a été enregistrée pour l'extrait méthanolique (0,195 et 1,56 mg/ml) vis-à-vis le *C. albicans* 26.

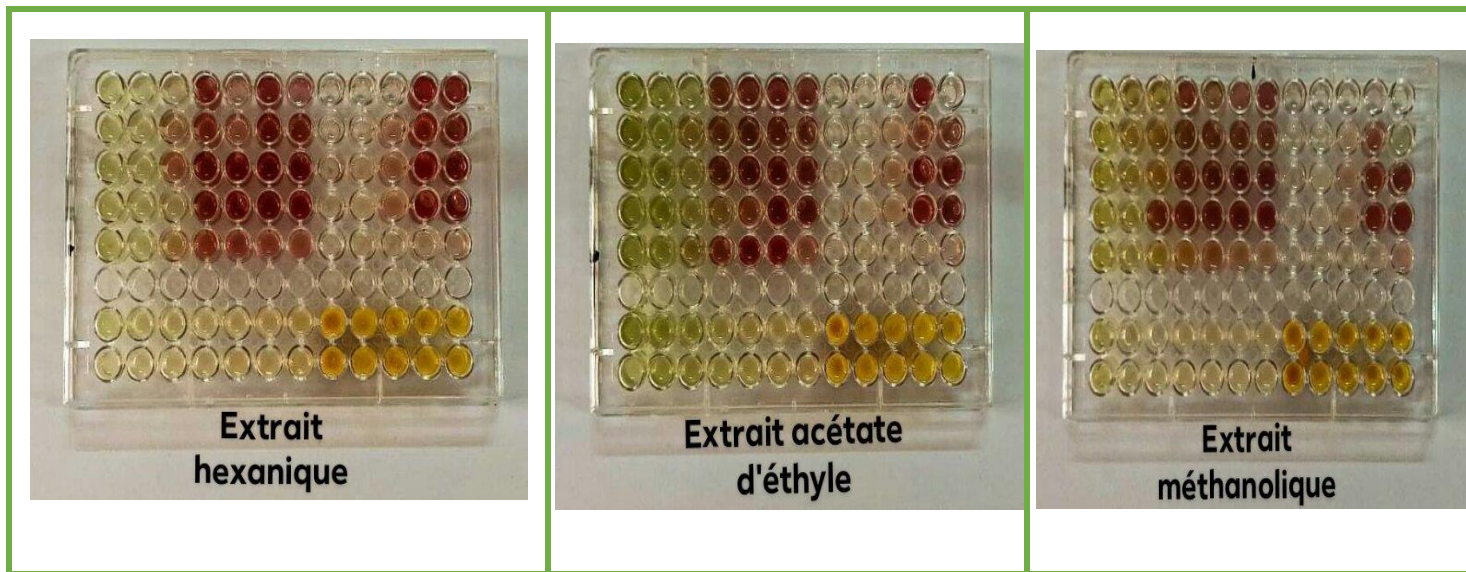
La différence entre nos résultats dépend de la partie de la plante étudiée et à la variété et la pathogénicité des souches fongiques.

(**ADDA et al., 2022**) ont montrées que les différents extraits des fraction aériennes de *Nulettia chrysocomoides* exercent un effet inhibiteur meilleur vis-à-vis *C. albicans* 10 et *C. albicans* 26 avec des CMI inférieurs allant de (0,195 à 1,56 mg/ml). Ce qui est en accord avec nos résultats.

Les résultats des tests de CMI des extraits du *Erysimum gramineum* pomel testées sur les cinq souches bactériennes et les deux levures sont illustrés par les deux figures ci-après (**27 et 28**).



**Figure 27:** Détermination de la concentration minimale inhibitrice des extraits de feuille d'*Erysimum gramineum* pomel vis-à-vis des souches pathogènes par la méthode de microdilution.



**Figure 28:** Détermination de la concentration minimale inhibitrice des extraits de fruits et fleurs d'*Erysimum gramineum* pomel vis-à-vis des souches pathogènes par la méthode de microdilution

# *Conclusion*

## Conclusion générale

De nos jours, un grand nombre de plantes aromatiques et médicinales possèdent des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et l'agriculture.

Ce travail nous a permis de mettre en évidence le rendement des différents extraits de la plante *Erysimum gramineum* pomel, les teneurs en phénols totaux et en tocophérols, ainsi que les activités biologiques des extraits.

A l'issue des résultats obtenus dans ce travail, nous pouvons déduire ce qui suit :

L'extraction de la plante *Erysimum gramineum* pomel (Feuilles et fruits / fleurs) a révélée des teneurs les plus élevée pour l'extrait de l'acétate d'éthyle de la fraction des fruits (2,413%), les deux extraits hexanique (Feuilles et fruits/fleurs) avaient presque les mêmes teneurs, la variation de ces teneurs semble d'être lié à (l'origine de la plante, la saison de récolte, les conditions climatiques, et selon la partie de la plante étudiée).

La valorisation de la plante *Erysimum gramineum* pomel a montré sa richesse en tocophérols dans la fraction des feuilles par rapport aux fruits et fleurs.

L'extrait méthanolique des fruits est le plus riche en phénols totaux et le plus puissant comme un antioxydant par rapport aux autre extraits (43,70 et 3,81 mg/g) ; donc nous pouvons conclure que le méthanol est un bon solvant pour extraire les composés phénoliques des feuilles et des fruits /fleurs.

Le test antimicrobien *in vitro* ont permis d'estimer l'action de nos extraits vis-à-vis les cinq souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica*) et les deux levures (*Candida albicans* 10, *Candida albicans*26). Ces expériences révèlent que l'extrait hexanique de la fraction des feuilles est le plus active contre les souches (*E. coli* et *K. pneumoniae*) induisant des diamètres de zone d'inhibition allant de (13,5mm et 12,5 mm). Les meilleures sensibilités dans la fraction des fruits et fleurs ont été observées pour l'extrait méthanolique contre la souche *E. coli* avec un diamètre de zone d'inhibition égale à (17mm).

Également ces tests antimicrobiens ont permis la détermination des CMI, par la méthode de microdilution sur les cinq souches bactériennes indiquent que nos extraits sont dotés d'un pouvoir bactéricide.

Les levures sont plus sensibles que les bactéries vis-à-vis les différents extraits, les valeurs de CMI estimées par le test de microdilution sont comprises entre (1,56 et 0,195 mg/ml). En comparaison avec l'activité antibactérienne, il paraît que nos extraits présentent une activité antifongique plus importante.

A l'issue de ces travaux menés tout au long de ce travail. Un certain nombre de pistes de Recherche sont à notre portée et méritent d'être expérimentées ; voici quelques-unes :

- ✓ Actuellement, de nombreuses recherches se tournent vers d'autres méthodes nouvelles dont l'efficacité serait supérieure, parmi lesquelles nous pouvons citer, par exemple, la méthode d'extraction par microonde qui semble moins destructive vis-à-vis des polyphénols.
- ✓ L'analyse approfondie et détaillée des extraits d'*Erysimum gramineum* pomel sera intéressante.
- ✓ Valorisation des extraits obtenus par d'autres tests biologiques telles que l'activité Anticancéreuse.
- ✓ Etude des effets de ces extraits sur différentes activités enzymatiques et exploitation de leur effet synergique.

*Références*

*bibliographiques*

## *Références bibliographiques*

### **A**

- Adda F et Bellakhdar N ; 2022.** Contribution à l'étude des activités antimicrobiennes et antioxydantes de la partie aérienne des deux espèces *Thymelea virgata* et *Nolletia chrysocomoides* (Mémoire de master. Université Ammar Thledji - Laghouat)
- Adepo A, 2018.** Evaluation des activités anti-inflammatoire et antioxydante de l'extrait hydro-éthanolique de l'écorce de racines de *Dichrostachys cinerea* L. Wight et Arn.(Fabaceae)
- Almalki, W. (2021).** Potential significance of medicinal plants in forensic analysis: A review. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(7), 3929-3935
- Alotaibi, S. S., Alshoabi, D., Alamari, H., Albogami, S., Khan, E., Alshanbari, A., et Almalki, W. (2021).** Potential significance of medicinal plants in forensic analysis: A review. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(7), 3929-3935
- Alqethami, A., & Aldhebiani, A. Y. (2021).** Medicinal plants used in Jeddah, Saudi Arabia: phytochemical screening. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(1), 805-812.
- Al-Shehbaz, I. A. (2012).** A generic and tribal synopsis of the Brassicaceae (Cruciferae). *Taxon*, 61(5), 931-954.
- Anulika, N. P., Ignatius, E. O., Raymond, E. S., Osasere, O. I., & Abiola, A. H. (2016).** The chemistry of natural product: Plant secondary metabolites. *Int. J. Technol. Enhanc. Emerg. Eng. Res*, 4(8), 1-9.

### **B**

- Bandt J.P ;** vitamine E, cahier de formation Biochimie, Tome III, Bioforma, Paris, 1996 :207-216.
- Battandier, J. A. et Trabut, L. 1888.** Flore de l'Algérie. Vol. 1. Alger : Jourdan A.
- Beddou F.** Etude phytochimique et activités biologiques de deux plantes médicinales sahariennes *Rumex vesicarius* L. et *Anvillea radiata* Coss. & Dur. Thèse de doctorat

en Biologie Cellulaire et Biochimie, Université de Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, 2015,144

**Ben sahraoui N et Aissaoui A et Aouissi N ;2022.**Contirubtion à l'étude des activités antimicrobienne et antioxydante de la fraction lipidique des galles et des fruits d'Artemisia campestris (Mémoire de master. Université Ammar Thledji - Laghouat).

**Billerbeck V.G., 2007.** Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques. Pharmacognosie Phytothérapie. 5, 249–253. %

**Boizot N., Charpentier J.P., 2006-** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. Le cahier des techniques de l'Inra. Pp79-82.

**Boubekeur, H. (2019).** *Activités biologiques d'Helichrysum stoechas* (Doctoral dissertation).

**Bruneton J. 2009.** Pharmacognosy Phytochemistry Plants medicinales. *Technique et documentation Lavoisier*. Paris: 406-417.

**Burt S., 2004.** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods a review. *Int. J. Food Microbiol*, 94, 223-253

## C

**Canillac N et Mourey A., 2001.** Antibacterial activity of the essential oil of *Picea excelsa* on *Listeria*, *Staphylococcus aureus* and coliform bacteria. *Food Microbiol*. 18, 261–268.

**Caquet R. (2004).** 250 examens de laboratoire : Prescription et interprétation. Edition : Masson. Paris, 453p.

**CEDEF I., 2012.** Modules Transdisciplinaires Module 7 : Santé Et Environnement, Maladies Transmissibles : Item 87 Infections cutanéomuqueuses bactériennes et mycosiques : *Candida albicans*. *Annales de Dermatologie et de Vénérologie*, 139, A40-A46p.

**Chaib,A. (2015).** Guide de phytothérapie, El biar, (7-12).

**Cutrim, C. S., & Cortez, M. A. S. (2018).** A review on polyphenols: Classification, beneficial effects and their application in dairy products. *International Journal of Dairy Technology*, 71(3), 564-578.

## D

**Djabou N., Lorenzi V., Guinoiseau E., Andreani S., Giuliani M.C., Desjobert J.M., Bolla J.M., Costa J., Berti L., Luciani A. & Muselli A., 2013.** Phytochemical composition of Corsican Teucrium essential oils and antibacterial activity against foodborne or toxi-infectious pathogens. *Food Control*. 30 : 354-363.

## E

**Elkolli.,2016.** Structure et activités des substances naturelles : principes et applications ,43  
44p.

**Emmerie, A. et Engel, Chr.** Colorimetric determination of tocopherol (vitamin E): II Adsorption experiments. *Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas*, 1939, vol. 58, no 4, p.

## F

**Favier, A. (2006, novembre).** Stress oxydant et pathologies humaines. Dans *Annales pharmaceutiques françaises* (Vol. 64, n° 6, pp. 390-396). Elsevier Masson.

**Favier, A. (2003).** Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108(10), 863-832.

Fauchere Ll, Avril JL. 2002. *Bactériologie générale et médicale*. Editions Ellipses. Paris1, p 368.

## G

**Gardes-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., et Jore, D. (2003).** Reactive oxygen species. How oxygen may become toxic ? *Actualite Chimique*, (11-12), 91-96.

**Gnatta J.R., Kurebayashi L.F.S., Turrini R.N.T and Silva M.J.P. 2016.** Aromatherapy and nursing: historical and theoretical conception. *Aromatherapy and nursing: historical and theoretical conception*. 50(1) : 127-133.

## H

**Hammer K.A., Carson C.F. et Riley T.V., 1999.** Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology*, 86, 985-990.

**Harrar, A. (2018).** *Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de Rhamnus alaternus L* (Doctoral dissertation).

**Hopkins, W. G. (2003).** Physiologie végétale. De Boeck Supérieur.

## K

**Kamanzi AK. 2002.** Plantes médicinales de Côte d'ivoire : Investigations phytochimiques guidées par des essais biologiques. Thèse de doctorat, Université de Cocody, Abidjan, p 176 <http://www.sudoc.fr/069011605>.

**Karima, S. (2010).** Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne et de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques de quatre algues marines : *Cystoseira tamariscifolia*, *padinapavonica*, *rhodomela confervoides* et *ulva lactuca* de la cote de Béjaia (Doctoral dissertation, Université de Béjaia-Abderrahmane Mira).

**Kordali, S., Cakir, A., Ozer, H., Cakmakci, R., Kesdek, M., & Mete, E. (2008).** Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from Turkish *Origanum acutidens* and its three components, carvacrol, thymol and p-cymene. *Bioresource Technology*, 99(18), 8788-8795.

## M

**Merad, F., et Mahiout Tassadit, T. (2019).** Contribution à l'étude de conformité des drogues pour tisanes vendues en officines.

**Mohammedi Z., 2013-** Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud-Ouest de l'Algérie. Thèse de doctorat." Substances naturelles, Activités Biologiques et Synthèses", Université Abou Bekr Belkaid –Tlemcen, 152p

**Muanda, F. N. (2010).** Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Université Paul Verlaine-Metz, 238.

## N

**Nacz, M & Shahidi, F. (2006).** Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41(5), 1523-1542.

**Nasreddine, E ;2021.** Etude phytochimique et toxicologie et évaluation de l'activité antioxydante, antidiabétique et antibactérienne des racines d'*Aristolochia longa* L.p (102-103).

## O

**Oullai, L., & Chamek, C. (2018).** Contribution à l'étude ethnopharmacognosique des plantes médicinales utilisées pour le traitement des affections de l'appareil digestif en Kabylie.

**Peng J., Zheng T.-T., Li X., Liang Y., Wang L.-J., Huang Y.-C and Xiao H.-T. 2019.** Plant-Derived Alkaloids: The Promising Disease-Modifying Agents for Inflammatory Bowel Disease. *Frontiers in Pharmacology* .10:1-15.

**Pokorny J, Yanishlieva N, Gordon M ; 2001.** (Eds.). Antioxidants in Food: Practical Application. Cambridge : Woodhead Publishing Ltd and CRC Press LLC.

**Popovici, C., Saykova, I., et Tylkowski, B. (2010).** Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH.

## R

**Rezaire, A. (2012).** *Activité anti-oxydante*, et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien *Oenocarpus bataua (patawa)* (Doctoral dissertation, Antilles-Guyane).

**Rosa, L.A., Moreno-Escamilla, O.J., Rodrigo-García, J., Alvarez-Parrilla, E. (2019).** Phenolic compounds *in* Postharvest physiology and biochemistry of fruits and vegetables, pp. 253-271.

## S

**Safia, B. (2018).** *Activité Antimicrobienne De Quelques Plantes Médicinale En Algérie* (Doctoral dissertation, Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila).

**Sahli, R. (2017).** *Etude phytochimique de quelques plantes extrêmophiles tunisiennes et exploration de leurs activités biologiques* (Doctoral dissertation, Université du Droit et de la Santé-Lille II; Université de Carthage (Tunisie)).

**Saxena, M., Saxena, J., Nema, R., Singh, D., & Gupta, A. (2013).** Phytochemistry of medicinal plants. *Journal of pharmacognosy and phytochemistry*, 1(6).

**Singh R. 2015.** Medicinal plants. *Journal of Plant Sciences*. 3 (11): 50-55.

**Singleton V. L., Orthofer R., and Lamuela-Raventos R. M., 1999-** Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods Enzymol.* 152- 177.

## T

**Tang S. Y. et Halliwell B.(2010).** Medicinal plants and antioxydants: What do we learn from cell culture and *Caenorhabditis elegans* studies? *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 394:1-5.

**Thieury, C. (2017).** Les anticancéreux dans la biodiversité végétale mondiale et en Nouvelle-Calédonie (Doctoral dissertation).

**Triaux, Z. (2019).** *Développement de méthodes d'extraction et d'analyse de molécules terpéniques à activité anti-inflammatoire* (Doctoral dissertation, Strasbourg).

## Y

**Yakhlef, G., Laroui, S., Hambaba, L., Aberkane, M. C., & Ayachi, A. (2011).** Évaluation de l'activité antimicrobienne de *Thymus vulgaris* et de *Laurus nobilis*, plantes utilisées en médecine traditionnelle. *Phytothérapie*, 9(4), 209-218 .

# *ANNEXE*

## Annexe 1

## Composition des milieux de culture.

**Milieu de culture** : Sabouraud dextrose Agar (65 g dans un 1L d'eau distillée)

## Composition :

- Peptone .....10g
- Glucose massé.....20g
- Agar-agar.....15 g
- Eau distillé (qsp)...1000 ml
- Vitamines et facteurs de croissance
- PH = 6,0



**Milieu de culture : Muller Hinton Agar (38 g dans un 1L d'eau distillée)****Composition :**

- **Infusion de viande de bœuf : 300 ml**
- **Peptone de caséine : 17,5 g**
- **Amidon de maïs : 1,5 g**
- **Agar : 17,0 g**
- **PH = 7,4**

**Annexe 2****Produits et réactifs utilisés.**

<b>Produit ou réactif</b>	<b>Formule chimique</b>
Eau distillée	H <sub>2</sub> O
Méthanol	CH <sub>3</sub> OH
Ethanol	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O
Chlorure de fer	FeCl <sub>3</sub>
Carbonate de sodium	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>
DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle)	C <sub>18</sub> H <sub>12</sub> N <sub>5</sub> O <sub>6</sub>
Réactif de Folin-Ciocalteu	/
Acide ascorbique	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>6</sub>
Acide gallique	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>
Phénanthroline	C <sub>12</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub>
Vitamine E (alpha-tocophérol)	C <sub>29</sub> H <sub>50</sub> O <sub>2</sub>
DMSO (diméthylsulfoxyde)	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> OS
Hexane	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub>
Acétate d'éthyle	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>
Iodonitrotetrazolium chloride (INT)	C <sub>19</sub> H <sub>13</sub> C <sub>1</sub> N <sub>5</sub> O <sub>2</sub>

### **Annexe 3**

#### **Milieux de culture et antibiotiques**

Les principaux milieux de culture utilisés sont :

- La gélose nutritive pour l'isolement et l'entretien des souches bactériennes ;
- La gélose Mueller-Hinton pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux différents extraits de plantes ;
- La gélose Sabouraud pour l'isolement et l'entretien de la levure et l'étude de sa sensibilité aux extraits.

Ils sont préparés à partir de milieux déshydratés et stérilisés par autoclavage à 120°C pendant 20 minutes. Leur composition est mentionnée dans.

Des antibiotiques sur disque à des concentrations fixes ont été utilisés pour déterminer la sensibilité standard des souches bactériennes testées.

Les antibiotiques utilisés sont : amikacine [AMK] 30, Spiramycine100, Doxycycline30, céfazale et un antifongiques amphotéricine-B.

Le choix a été fait en fonction de la disponibilité.

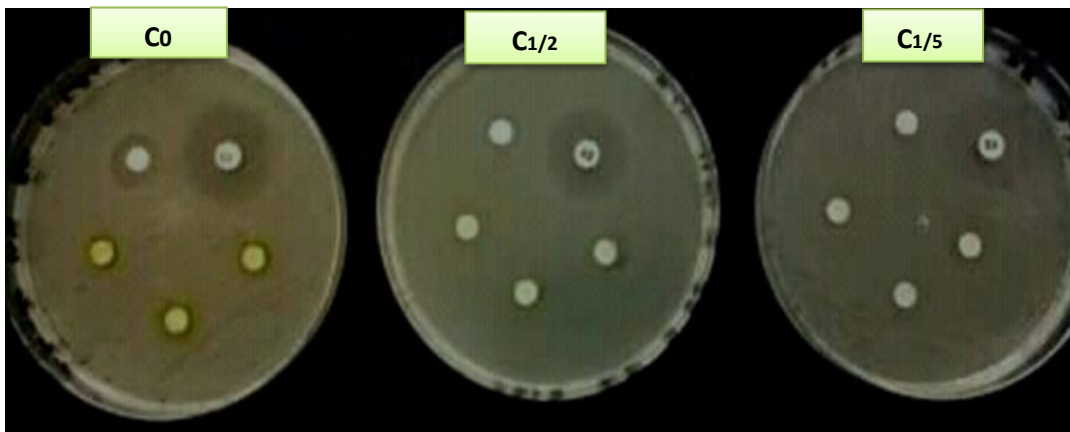
## Annexe 4

### Quelque souches microbiennes

#### Hexane feuille *E.coli*



#### Acétate feuille *E.coli*



#### Acétate fleur *E.coli*



MeOH fleur *E. coli*

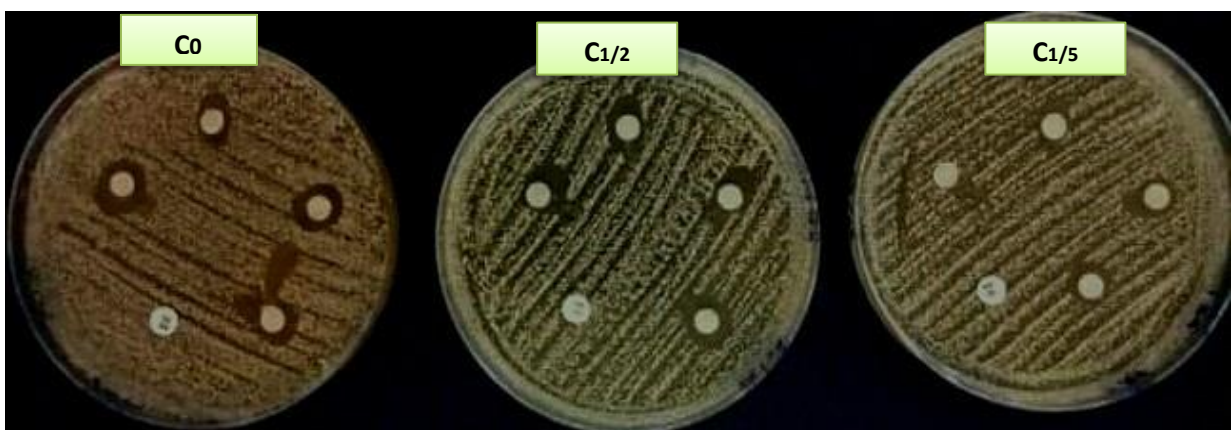


*Candida albicans*26

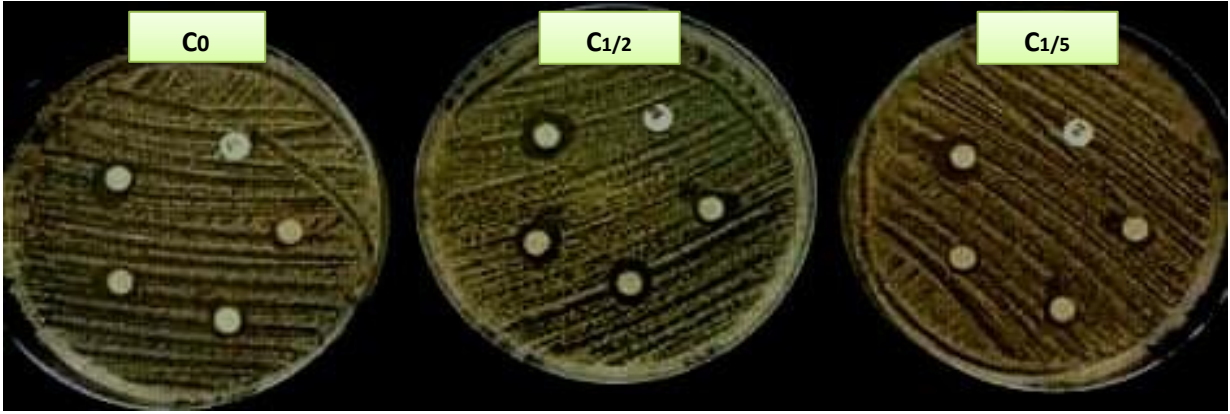
MeOH feuille *Candida albicans* 26



Acétate fleur *Candida albicans* 26

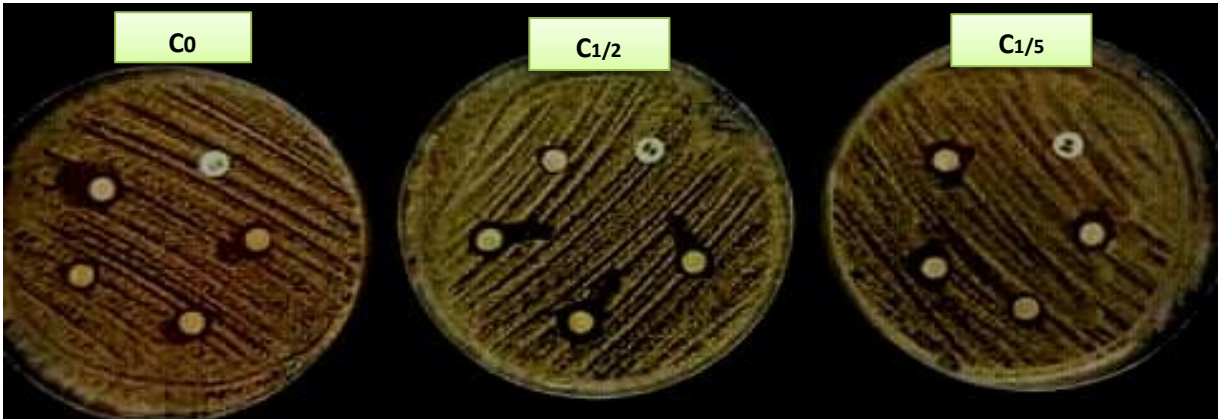


MeOH fleur *Candida albicans* 26

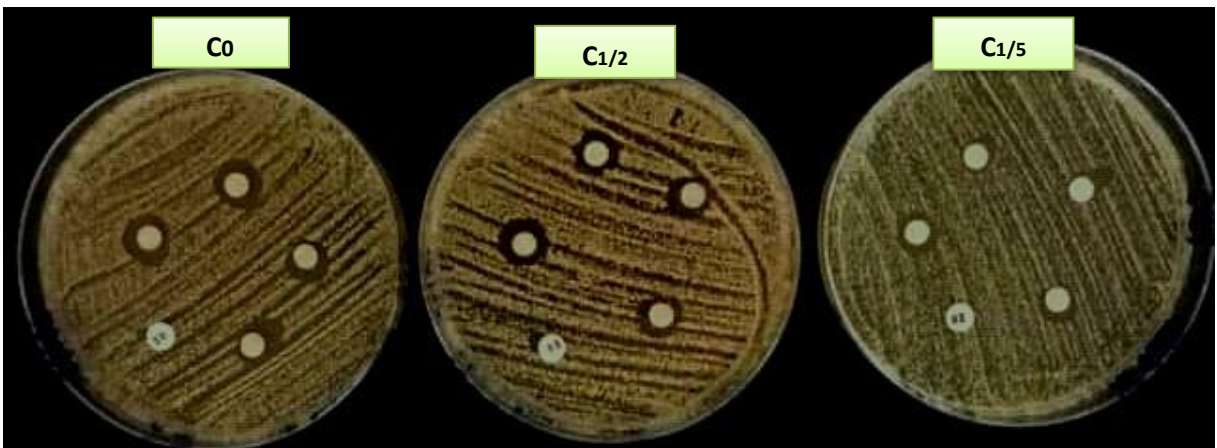


*Candida albicans*10

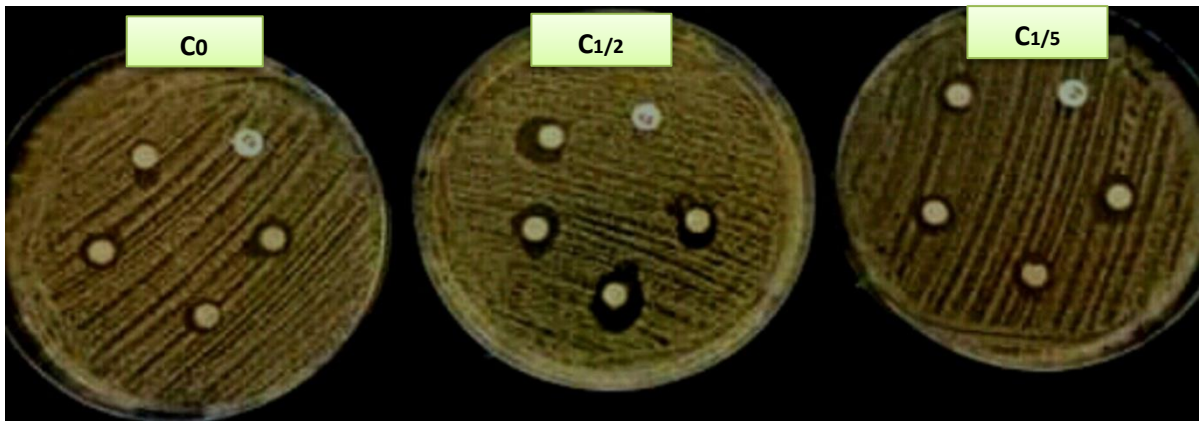
Acétate feuille *candida albicans*10



Hexane fleur *candida albicans*10

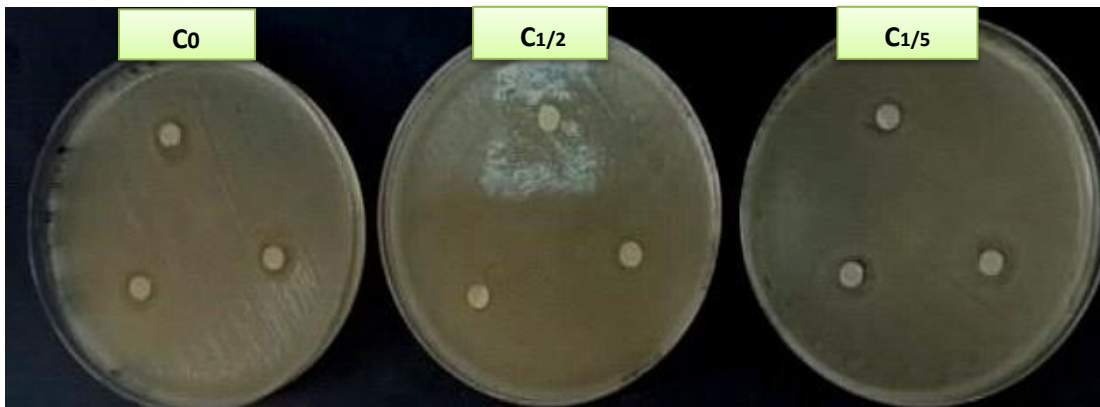


**Acétate fleur *Candida albicans* 10**

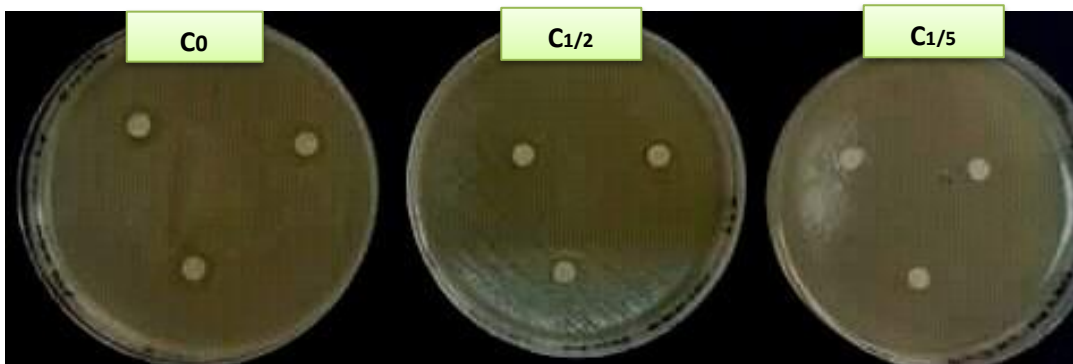


***K. pneumoniae* et *Y. enterocolitica***

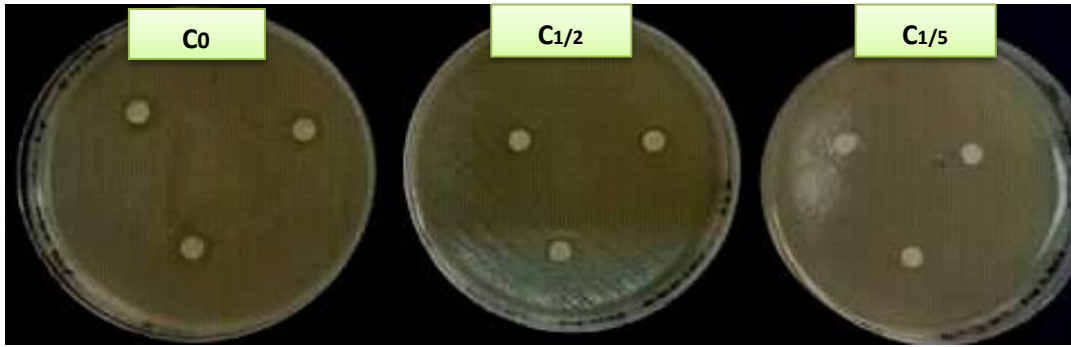
**Feuille acétate *K. pneumoniae***



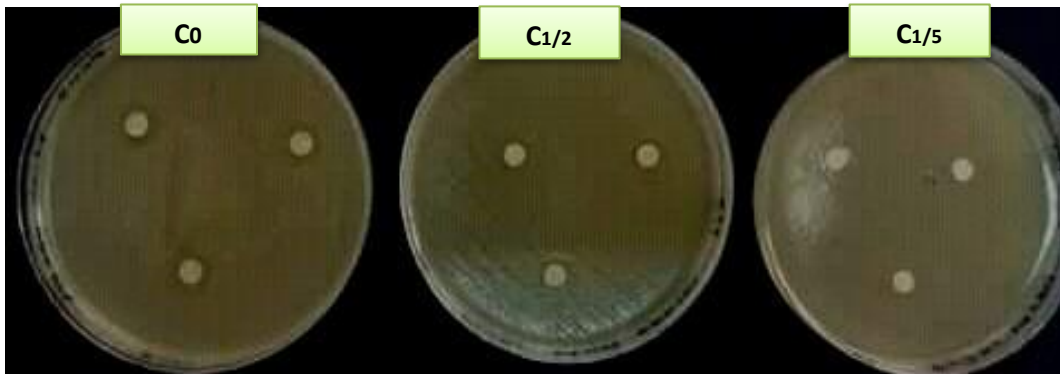
**Fruit acétate *K. pneumoniae***



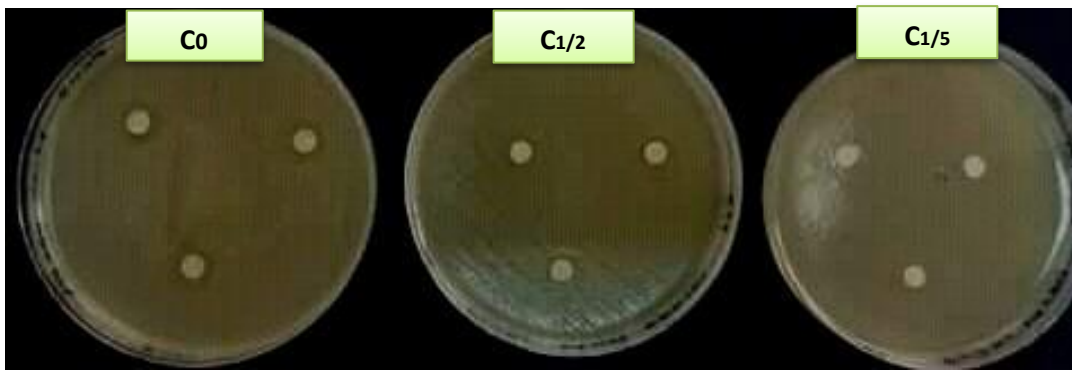
**Fruit MeOH *K. pneumoniae***



**Feuille hexane *Y. enterocolitica***



**Feuille acétate *Y. enterocolitica***



**Feuille MeOH *Y. enterocolitica***



**Fruit MeOH *Y. enterocolitica***

