

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Amar Telidji -Laghouat  
Faculté des Sciences  
Département de Biologie



## *Mémoire*

**En vue de l'obtention du diplôme de Master**  
*Filière : Sciences Biologiques*  
*Option : Biochimie appliquée*  
*Domaine : Science de la nature et de vie*  
THEME

---

**Etude des activités biologiques des extraits de la plante**  
*Elaeagnus angustifolia*

---

**Par :**

**SACI Mira & GUEDIM Messaouda & TOUAL Hania**

**Le 21/06/2023**

**Devant le jury :**

|                     |                                     |                                   |
|---------------------|-------------------------------------|-----------------------------------|
| <b>Présidente</b>   | <b>M<sup>me</sup> ALLAL Farida</b>  | <b>MCA Université de Laghouat</b> |
| <b>Examinatrice</b> | <b>M<sup>me</sup> BENCHIKH Imen</b> | <b>MCA Université de Laghouat</b> |
| <b>Encadrante</b>   | <b>M<sup>me</sup> NIA Samira</b>    | <b>MCA Université de Laghouat</b> |

**Année Universitaire 2022- 2023**

## **Remerciement**

*Au début, nous remercions Dieu Tout-Puissant qui nous a aidé et nous a donné la force et la capacité nécessaires pour pouvoir faire ce travail.*

*Nous Nous tenons à exprimer nos plus vifs remerciements à notre encadrante, **Mme Nia Samira**, pour la bonne direction de ce travail, et pour ses conseils, ses précieuses informations et son soutien tout au long des étapes de travail.*

*remercions également les membres du jury pour leur acceptation d'évaluer ce travail : **Mme Allal Farida et Mme Benchikh Imen***

*Nous remercions vivement **Mme Benchikh Imen** pour son aide dans la réalisation des tests antibactériens.*

*Nous remercions également le Professeur **YOUSFI Mohammed**, Directeur de Laboratoire des Sciences Fondamentales de l'Université de Laghouat, pour nous avoir accueillis au sein de son laboratoire.*

*Nous remercions également Le médecin : Docteur **HEDJADJ BOUMEDIEN**.*

*Nous remercions tous les enseignants de notre parcours académique.*

*Enfin, nous adressons nos remerciements à tous nos collègues et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

# *DEDICACE*

*Avant tous, je dis « AlhamdoliAllah », c'est grâce à Allah qui m'a aidé et m'a donné le courage, la santé et la patience d'aller jusqu'au bout de mon rêve et le bonheur de lever mes mains vers le ciel et de dire « YA Rahim »...*

*Du fond de Mon cœur ET avec UN énorme plaisir je dédie Mon travail :*

*A*

*Mes très chers parents ; Sayeh que Dieu lui fasse miséricorde ; et Fatma,*

*Aucune dédicace ne saurait-je exprimer par l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Rien au monde ne val l'effort fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être, que le produit de ce travail soit le témoignage de mon affection infinie et mon attachement, qui me rapporte fierté et satisfaction.*

*A*

*Mes chers frères : Taher, Mohammed, boubaker. Source de bonheur, que Dieu puisse vous donner santé, bonheur et réussite.*

*A*

*Mes chères sœurs : Khadidja ; Rebiha ; Fatima ; Amina ; Hiba. Source de joie et de motivation, que Dieu vous préserve un avenir radieux. Aux petites enfants : Basma ; Asmaa ; Maria ; Nesrine ; Aridj ; Nadjat ; Sayeh 1 ; Sayeh2 ; Khalil.*

*A mes collègues : SACI MIRA ; TOUAL HANIA.*

*A*

*Mon éminente professeure NIA SAMIRA, Dieu l'a récompensée de tous ses efforts.*

*A Tous mes professeurs dans ma vie scolaire sans exception.*

*A Toute mes amies.*

*A Toute ma famille.*

*A Toute la promotion de biochimie appliquée.*

*Messaouda*

# *DEDICACE*

*Tout d'abord, merci ALLAH pour le succès et j'atteins ce jour et guide ce succès*

*A mes chers parents Ahmed et Zahraa pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études,*

*À mon cher mari, Abdelkader, pour m'avoir soutenu tout au long de mon parcours universitaire et avoir réalisé nos rêves les plus chers*

*A ma petite-fille Ludgain,*

*A mes chères sœurs Fatima, Khaira et Amina pour leurs encouragements constants et leur soutien moral,*

*A mes chers frères Bouhafis, Taher et Mohammad pour leur soutien et leurs encouragements,*

*A ma chère soeur Haddah, que Dieu lui fasse miséricorde*

*A toute la famille de mon cher mari, au père de mon mari, Massaoud, et à, mère de mon mari, Kheira, que Dieu ait pitié de lui.*

*Et pour tous les petits de la famille*

*Et à ma chère amie Zahraa Ghazlan*

*A toute ma famille Toul*

*Et toute la famille de ma mère Chaknan*

*Mes amies Mira et Messaouda*

*AMon éminente professeure NIA SAMIRA, Dieu l'a récompensée de tous ses efforts.*

*Et à tous ceux que j'ai connus dans ma carrière universitaire, y compris les enseignants et les amis*

*Et à ma promotion de biochimie appliquée de 2023*

*Hania*

## *DEDICACE*

*Tout d'abord, merci **ALLAH** de m'avoir donné la capacité d'écrire  
et de réfléchir, la force d'y croire, la patience*

*Du fond de mon cœur et avec un énorme plaisir je dédie mon  
travail :*

*A ma chère **maman** le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée  
pour mon bonheur et ma réussite. Merci Maman parce que tu m'as  
toujours encouragée, Merci d'être toujours avec moi dans mes  
jours difficiles sans se plaindre... **Merci pour tout maman***

*A mon père **Aissa** école de mon enfance, qui a été mon ombre  
durant toutes les années des études, qui a veillé tout au long de ma  
vie à m'encourager, quelle chance j'en ai d'être ta fille !! ... **Merci  
Papa***

*Mon adorable sœur **Israa** que Dieu la protège*

*A mon source de fierté, mon frère **Omar** et le petit chouchou  
**Mohammed***

*A ma tante **SARA***

*Aux petites enfants : **Abd el nour, Razane***

*A ma très chère tante **Awali** qui m'a encouragé depuis que  
j'étais petite, qui nous a quitté et j'espère que dieu l'accueille  
dans son vaste paradis, qui aurait été fière de moi.*

*A toute la famille **SACI, GHRiS***

*A Mon éminente professeure **NIA SAMIRA**, Dieu l'a récompensée  
de tous ses efforts*

*A tous mes collègues et en particulier ma plus chère **DALI ABIR***

*Mira*

## الملخص:

خلال هذه الدراسة تم تقييم النشاط التثبيطي للألفا أميلاز اللعابي والنشاط المضاد للبكتيريا لمستخلصات أوراق نبتة الزيتون الروسي (خلاف ضيق الأوراق)، المتواجدة بمنطقة حمدة بالأغواط.

أظهرت نتائج النشاط التثبيطي لإنزيم ألفا أميليز أن المستخلصين (أسيئات الإيثيل وثنائي كلورو الميثان) لهما تأثير مثبط كبير على هذا الإنزيم

تم تقييم النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلصات الفينولية عن طريق اختبار الانتشار على أجار، حيث كان للمستخلصين (أسيئات الإيثيل وثنائي كلورو ميثان) تأثير قوي على سلالة الزائفة الزنجارية وتأثير معتدل على سلالة المكورات العنقودية الذهبية بينما سجلت الإشريكية القولونية مقاومة لمستخلصاتنا

**الكلمات المفتاحية:** الزيتون الروسي (خلاف ضيق الأوراق)، المركبات الفينولية، النشاط التثبيطي للألفا أميلاز اللعابي، النشاط المضاد للبكتيريا

## **Résumé :**

Au cours de cette étude, l'activité inhibitrice de l'alpha amylase salivaire et l'activité antibactérienne des extraits des feuilles de la plante d'olivier de bohème (*Elaeagnus angustifolia*), située dans la région de Hamda de Lagouat ont été évalués. Les résultats de l'activité inhibitrice de l'enzyme alpha amylase ont montré que les deux extraits phénoliques (acétate d'éthyle et dichlorométhane) ont des effets inhibiteurs importants sur cette enzyme.

L'activité antibactérienne des extraits phénoliques a été évaluée par le test de diffusion sur l'agar, les deux extraits (acétate d'éthyle et dichlorométhane) ont exercé un effet important sur la souche *Pseudomonas aeruginosa* et un effet modéré sur la souche *Staphylococcus aureus* tandis qu'*Escherichia coli* a enregistré une résistance à nos extraits.

**Mots-clés :** Olivier de bohème (*Elaeagnus angustifolia*), composés phénoliques, activité inhibitrice de l'alpha-amylase salivaire, activité antibactérienne.

**Abstract:**

In this study, the inhibitory activity of salivary alpha amylase and the antibacterial activity of extracts from the leaves of the bohemian olive plant (*Elaeagnus angustifolia*), located in the Hamda region of Lagouat were evaluated. The results of the inhibitory activity of the alpha amylase enzyme showed that the two phenolic extracts (ethyl acetate and dichloromethane) have significant inhibitory effects on this enzyme.

The antibacterial activity of the phenolic extracts was evaluated by the diffusion test on agar; the two extracts (ethyl acetate and dichloromethane) exerted a strong effect on the *Pseudomonas aeruginosa* strain and a moderate effect on the *Staphylococcus aureus* strain while *Escherichia coli* registered resistance to our extracts.

**Keywords:** Bohemian olive (*Elaeagnus angustifolia*), phenolic compounds, salivary alpha-amylase inhibitory activity, antibacterial activity.

## Liste des figures

| <b>N</b> | <b>Figure</b>  | <b>P</b> |
|----------|--|----------|
| 1        | feuilles de l'Elaeagnus angustifolia   | 4        |
| 2        | classifications des composés phénoliques   | 7        |
| 3        | structure de l'acide benzoïque   | 8        |
| 4        | structure de l'acide hydrocinnamique   | 8        |
| 5        | structure de lignane   | 9        |
| 6        | structure de coumarine   | 9        |
| 7        | structure de stilbène  | 10       |
| 8        | structure tridimensionnelle de l'enzyme $\alpha$ -amylase  | 15       |
| 9        | feuilles de l'Elaeagnus angustifolia A : feuilles fraîches , B : feuilles séchées                    | 20       |
| 10       | schéma illustrant l'extraction hydrométhanolique   | 22       |
| 12       | les formules chimiques : les chiffres en indice  | 23       |
| 13       | Détermination de la zone d'inhibition par la méthode de diffusion des disques (Zaiki, 1988).         | 29       |
| 14       | Représentation graphique de l'effet inhibiteur de l'extrait (DCM) sur l' $\alpha$ -amylase salivaire | 31       |
| 15       | Représentation graphique de l'effet inhibiteur de l'extrait (AE) sur l' $\alpha$ -amylase salivaire  | 31       |

## Liste des tableaux :

| <b>N</b> | <b>Tableau</b>   | <b>P</b> |
|----------|--|----------|
| 1        | Centenu des lipides dans la plante d'Elaeagnus angustifolia                    | 5        |
| 2        | Centenu des composé phénolique dans le feuille d' d'Elaeagnus angustifolia     | 6        |
| 3        | Structure des différentes classes des flavonoides réalisé par chemdraw         | 11       |
| 4        | Différentes origines de l'alpha amylase  | 14       |
| 5        | Critères diagnostique du diabète   | 15       |
| 6        | Différents classements de diabète  | 16       |
| 7        | Souche bactériennes utilisées  | 20       |
| 8        | Couleur, l'aspect et le rendement des extraits phénoliques                     | 30       |
| 9        | Valuation des valeurs des IC50 des deux extraits DCM d'Elaeagnus angustifolia  | 31       |
| 10       | Diamètre des zones d'inibition en mm des chouches testées                      | 33       |
| 11       | Résultats de l'activité antibactérienne du fruite de l'Elaeagnus angustifolia. | 34       |

## Liste des abréviations :

**AE** : Acetate d`ethyle.

**°C** : degré Celsius.

**CP** : Composé phénolique.

**DCM** : Dichlorométhane.

**DMSO** : Diméthylsulfoxyde.

**E. c** : Escherichia coli.

**E.A** : Elaeagnus angustifolia.

**EAD** : Extrait Acetate d`ethyle.

**EAg** : Extrait aqueux.

**EDCM** : Extrait dichlorométhanique.

**EMet** : Extrait méthanolique.

**HBa1C** : Hémoglobine glyquée.

**HGPO** : Hyperglycémie provoquée par voie orale.

**I %**: le pourcentage d`inhibition.

**IC50** : la constante inhibitrice à 50%.

**MeOH** : le methanol.

**MO** : Matière organique.

**MS** : Matière sèche.

**P. a** : Pseudomonas aeruginosa.

**PH** : Le potentiel hydrogen.

**R%**: le rendement.

**S. a** : Staphylococcus aureus.

**UV visible** : Spectroscopie ultraviolet-visible

## **Table des matières**

**Remerciement Dédicace**

**Résumé**

**Liste des abréviations**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

**INTRODUCTION** **1**

### **RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES**

#### **CHAPITRE : I**

#### **GENERALITES SUR L'ESPECE ELAEAGNUS ANGUSTIFOLIA L.**

|   |          |
|---|----------|
| <b>Généralités sur l'espèce <i>Elaeagnus angustifolia</i></b>                     | <b>3</b> |
| <b>1. Etymologie</b>  | <b>3</b> |
| <b>2. Origine et historique</b>   | <b>3</b> |
| <b>3. Classification taxonomique (Etymologie)</b>                                 | <b>3</b> |
| <b>4. Description botanique</b>   | <b>4</b> |
| <b>5. Répartition géographique</b>  | <b>4</b> |
| <b>6. La composition biochimique d'<i>E. Angustifolia</i></b>                     | <b>5</b> |
| <b>7. Usages ethnopharmacologiques</b>  | <b>5</b> |
| <b>8. Composition biochimique de la feuille d'<i>Elaeagnus angustifolia</i> L</b> | <b>6</b> |

**9. Composition en métabolites secondaires 6**

9.1. Les composés phénoliques 6

**CHAPITRE II**

**Les composés phénoliques**

**.Les composés phénoliques 7**

**1. Classifications des Composés phénoliques 7**

1.1. Acides phénoliques 8

1.1.1. Acides hydroxy benzoïques 8

1.1.2. Acides hydroxy cinnamiques 8

1.2. Les lignanes 9

1.3. Les coumarines 9

1.4. Les stilbenes 9

1.5. Les flavonoïdes 10

1.6. Les tannins 13

**2. Les Composés phenoliques et la santé humaine 13**

**CHAPITRE :III**

**Activité inhibitrice d'enzyme**

**Activité inhibitrice d'enzyme 15**

**1. Alpha-amylase 15**

1.1. Nomenclature 15

|   |           |
|---|-----------|
| 1.2. Structure  | 15        |
| 1.3. Origines de l' $\alpha$ -amylase   | 16        |
| <b>2. Maladies ou affections associées à des taux plasmatiques élevés d'alpha amylas</b>  | <b>16</b> |
| <b>3. Diabète</b>   | <b>16</b> |
| .3.1. Symptômes   | 17        |
| 3.2. Diagnostiques du diabète   | 17        |
| .3.3. Classements de diabète  | 18        |
| 3.4. Inhibition d'alpha-amylase   | 18        |
| 3.5. Le médicament antidiabétique le plus courant agit principalement en interférant avec la digestion et l'absorption des glucides | 19        |

## **CHAPITRE : IV**

### **Activité Antibactérienne**

|                                     |           |
|-------------------------------------|-----------|
| <b>.Activité Antibactérienne</b>    | <b>20</b> |
| <b>1. les maladies infectieuses</b> | <b>20</b> |
| <b>2. Infections bactériennes :</b> | <b>20</b> |
| <b>3. Antibiotiques</b>             | <b>21</b> |

### **MATERIELSET METHODES**

|                         |           |
|-------------------------|-----------|
| <b>1. Matériels</b>     | <b>22</b> |
| 1.2. Matières végétales | 22        |

|   |           |
|---|-----------|
| 1.3. Souches bacteriennes utilisées   | 22        |
| 1.4. Produits chimiques   | 22        |
| 1.5. Les matériels du laboratoire   | 23        |
| <b>2. Extraction des composés phénoliques</b>   | <b>23</b> |
| 2.1. Extraction à froid ou Macération   | 23        |
| 2.1.A. Préparation du filtrat hydrométhanolique                                       | 23        |
| 2.1.B. Fractionnement de la phase aqueuse   | 24        |
| 2.1.C. L'évaporation  | 24        |
| 2.2 Calcul de rendement :   | 25        |
| <b>3. L'activité inhibitrice de l' <math>\alpha</math>-amylase</b>                    | <b>25</b> |
| 3.1 Le principe   | 25        |
| 3.2 Test de l'activité du $\alpha$ -amylase salivaire                                 | 26        |
| 3.3 Test d'inhibition de l' $\alpha$ -amylase   | 26        |
| <b>4. Etude de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion des disques</b> | <b>27</b> |
| 4.1. Souches bactériennes testées   | 27        |
| 4.2. Le principe de la méthode de diffusion des disques                               | 27        |
| 4.3. Préparation du milieu des milieux de culture                                     | 27        |
| 4.4. Stérilisation du matériel  | 27        |
| 4.5. Préparation des extraits   | 27        |

|   |    |
|---|----|
| 4.6. Préparation d'inoculum             | 28 |
| 4.7. Ensemencement et dépôt des disques | 28 |
| 4.8. Lecture                            | 29 |

## **RESULTATS ET DISCUSSION**

|  |           |
|--|-----------|
| <b>1. Rendements d'extraction</b>  | <b>30</b> |
| <b>2. Test d'activité inhibiteur d'enzyme <math>\alpha</math>-amylase</b>                    | <b>30</b> |
| <b>3. Activité antibactérienne des extraits de la plante <i>Elaeagnus angustifolia</i> L</b> | <b>32</b> |

|                   |           |
|-------------------|-----------|
| <b>CONCLUSION</b> | <b>35</b> |
|-------------------|-----------|

|                                    |           |
|------------------------------------|-----------|
| <b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> | <b>36</b> |
|------------------------------------|-----------|

|               |           |
|---------------|-----------|
| <b>ANNEXE</b> | <b>41</b> |
|---------------|-----------|

---

# ***INTRODUCTION***

---

## Introduction

---

### Introduction :

La médecine traditionnelle a toujours existé. C'est la somme des connaissances, des compétences et de la pratique basée sur la théorie, la croyance et l'expérience. Ils sont spécifiques à la culture et aident à maintenir la santé humaine et à prévenir, diagnostiquer, traiter et guérir les maladies physiques et mentales. Elle reste sans doute le refuge le plus important pour la majorité de la population pour résoudre leurs problèmes de santé. **(Bédou, 2019).**

Il ya de nombreuses maladies qui affectent les êtres humains, le pancréas peut également être affecté par diverses conditions médicales. Le plus courant d'entre eux est le diabète, caractérisé par une altération de la régulation de la glycémie. Cela peut être causé par une carence en insuline (diabète de type 1) ou une diminution de la sensibilité à l'insuline (diabète de type 2). Le pancréas peut également être affecté par une inflammation appelée pancréatite. **(Chemsa, 2020).**

Une approche thérapeutique efficace pour la gestion de ces maladies consiste à réduire l'hyperglycémie en retardant et en réduisant la digestion des glucides ingérés. L'inhibition des enzymes dégradant les glucides peut réduire de manière significative l'augmentation postprandiale du sang, l'une de ces enzymes est l' $\alpha$ -amylase humaine. **(Gedunin, et al., 2015).**

Les  $\alpha$ -amylases sont une famille d'endomyases qui catalysent le clivage des liaisons  $\alpha$ -D-(1-4)-glycosidiques (2). Les glucides sont le principal composant de l'alimentation humaine et jouent un rôle particulièrement important dans la fourniture d'énergie. Étant donné que seuls les monosaccharides peuvent être absorbés par la lumière intestinale et transportés dans la circulation sanguine, les constituants complexes des glucides alimentaires doivent être décomposés en monosaccharides par les  $\alpha$ -amylases et les glucosidases. Retarder la digestion des glucides en inhibant des enzymes telles que l' $\alpha$ -amylase entraîne une baisse de la glycémie et peut être considéré comme une stratégie thérapeutique pour le diabète. **(Rahimzadeh, et al., 2014).**

D'autre part les maladies infectieuses sont en fait le résultat d'une interaction entre l'agent pathogène, son hôte et des facteurs environnementaux favorables. **(Cousin, et al. 2005).** Une condition préalable au succès des soins de santé contre ces maladies est l'accès aux médicaments appropriés et leur utilisation. **(Farnsworth, et al., 1986).** Ces infections ont existé à travers

## Introduction

---

l'histoire, comme la peste, et choléra, diphtérie, tuberculose, syphilis, poliomyélite, paludisme et variole. (Schwartz, et al., 2008).

Cette plante, *Elaeagnus angustifolia L.*, ait fait l'objet de recherches à différents niveaux, notamment au niveau phytochimique.

L'objectif principal de cette étude est de faire la lumière pour la première fois sur In vitro, l'effet inhibiteur d'extraits d'acétate d'éthyle et de dichlorométhane d'une plante de l'espèce *Elaeagnus angustifolia L.* sur l'alpha-amylase salivaire humaine afin de trouver un traitement médical des syndromes métaboliques tels que le diabète de type 2, l'obésité et pancréatite et tester l'efficacité de la nouvelle méthode utilisée.

Le second objectif de cette étude est de prouver In vitro, l'effet antibactérien des extraits d'acétate d'éthyle et de dichlorométhane d'*Elaeagnus angustifolia L.* sur les trois souches d'*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* dans le but de trouver un remède aux maladies bactériennes infectieuses causées par différents types de souches bactériennes.

Ce manuscrit est structuré en trois parties.

La première partie porte principalement sur une bibliographie concernant la plante étudiée, les composés phénoliques, l'activité inhibitrice de l'enzyme alpha amylase et l'activité antibactérienne. Dans la deuxième partie, nous décrivons tous les dispositifs et les méthodes utilisées, la dernière partie présente l'ensemble des résultats obtenus et leurs discussions, suivie d'une conclusion générale et perspectives.

---

# *Rappelsbibliographiques*

---

# CHAPITRE I

GENERALITES SUR L'ESPECE *ELAEAGNUS ANGUSTIFOLIA L.*

**I. Généralités sur l'espèce *Elaeagnus angustifolia* :****I.1. Etymologie :**

Le mot *Elaeagnus* vient du grec *elaios*, olivier et *agnos*, signifiant l'arbre de la pureté ou l'agneau de la pureté (*vitex agnus-castus*). Ce nom a été donné à la plante par Karl von Hinné en 1753. Les anciens Grecs l'appelaient *elaegnus*, saule.

*Elaeagnus* est le nom générique de l'olivier de Bohême (*Elaeagnus angustifolia*) et des espèces apparentées, grec pour arbuste.

*Angustifolia* vient du mot arabe pour saule, *karef*, qui signifie charef à feuilles étroites. En fait, les feuilles de charef ont la forme d'une sorte de saule (Abdeddaim, 2018).

**I.2. Origine et historique :**

Les oliviers de Bohèmes sont originaires de certaines régions du sud de l'Europe, de l'Asie central et de l'Himalaya. On le trouve maintenant dans 17 États de l'ouest des États Unis, bordant l'est de Jakarta, le Nebraska, le Kansas, l'Oklahoma et le Texas, et s'étendant vers l'ouest en direction du Pacifique. Les oliviers de Bohême ont été cultivés pour la première fois en Allemagne en 1736 et introduite aux États-Unis en 1800 où elles ont été plantées comme plantes d'intérieur. L'US soit Conservation Service recommande d'utiliser les oliviers de Bohême comme brise-vent.

**I.3. Classification taxonomique (Etymologie) : (Boudjellal, 2009).**

**Embranchement :** Spermaphytes.

**Sous-embranchement :** Angiospermes.

**Classe :** Dicotylédones.

**Sous-classe :** Rosidae.

**Série :** Calciflores.

**Ordre :** Elaeagnales.

**Famille :** Elaeagnacées.

Genre :Elaeagnus.

Espèce :*Elaeagnus angustifolia* L.

#### I.4.Description botanique :

C'est un arbre ou arbrisseau de 2 à 12 mètres, parfois épineux, ses feuilles caduques de 4 à 8 cm de long à la fois proches de celles des oliviers, sont étroites, linéaires, d'un vert grisâtre sur le dessus et d'un gris écaillé argenté au revers. Les fleurs sont jaunes et très parfumées. Les fruits ovales, jaunâtres ou rougeâtres, sont comestibles et à chaire farineuse ont une saveur douceâtre, mais sucrée. L'écorce brun foncé ; luisante, lisse puis gerçure écaillée. Son bois léger, assez cassant (Boudjellal, 2009) . Remarquable par sa grande résistance à la sécheresse, s'adapte aux multiples sols, L'Olivier de Bohème exige la lumière et tolère la salinité du sol (Abdeddaim, 2018).



Figure 1 : Feuilles de l'*Elaeagnus angustifolia*.

#### I.5. Répartition géographique :

##### Dans le monde :

Cette espèce pousse sous les latitudes tempérées,Asie (Japon, Chine), AmériqueduNord(Etats-Unis), Méditerranée(Abdeddaim, 2018 ; Boudjellal, 2009) .Elle s'est également propagé dans lesuddel'Europe.EnTurquie, cetteplanteestlargementcultivée pourlesfruitscomestibles,enAnatoliecentraleetorientale, l'espèceestsauvagemaisrareetpoussesurlespentesbienexposéesdubassinméditerrané.

**EN Algérie :**

Surtout à haute altitude. Il a été systématiquement introduit et planté aux endroits suivants : Djelfa, Biskra, Relizane, Mascara, Sud de Tennes, Cherchelle (**Boudjellal, 2009**).

**I.6 .La composition biochimique d'*E.Angustifolia* :**

*Elaeagnus angustifolia* L, de la famille des Elaeagnaceae, communément appelée oaster, olive russe, olive sauvage ou silverberry( **Farzaei et al., 2015**)est un arbuste épineux fixateur d'azote qui contient de nombreux composés phytochimiques : Flavonoïdes, minéraux, sucres, stérols, alcaloïdes, acide p-hydroxybenzoïque, caféique, protocatéchuique, isorhamnétine, quercétine, catéchines dérivées du kaempférol, vitamines (tocophérol, vitamine B1, vitamine C,  $\alpha$ -carotène) (**Iqbal, et al., 2021**).Le contenu en lipides dans les différents organes de l'*Elaeagnus angustifolia* est représenté dans le tableau suivant.

**Tableau 1** : Contenu des lipides dans la plante*Elaeagnus angustifolia* (**Boudjellal, 2009**).

| Organe       | Le rendement des lipides en % |
|--------------|-------------------------------|
| Graines      | 3,5 -26,0                     |
| Le péricarpe | 0,8 -1,2                      |
| Feuilles     | 1,4 -9,5                      |
| Fleurs       | 3,0                           |

**I.7.Usages ethnopharmacologiques :**

La plante médicinale est utilisée comme médicaments traditionnels pour traiter le diabète de type 2. elle est utilisée pour abaisser le taux de sucre dans le sang à l'aide d'une décoction à base de feuilles de la plante( **Saltan et al., 2017**),et pour traiter l'asthénie splénique et gastrique, la dyspepsie, l'entérite, la diarrhée, Hépatoprotection et traitement des rhumatismes, arthrite, traitement de la goutte, tonique de la rate, antitussif, anti-inflammatoire et douleur à l'estomac, maux de tête, brûlures d'estomac, infections cutanées, tonique capillaire, antipyrétique, contre les maladies rénales(**Farzaei et al., 2015**).

**I.8. Composition biochimique de la feuille d'*Elaeagnus angustifolia* L :**

L'un des avantages des plantes est leur capacité à produire une grande variété de produits naturels. Outre les métabolites primaires classiques (glucides, protéines, lipides, acides nucléiques), il existe souvent des "métabolites secondaires" qui représentent une source importante de molécules disponibles dont la fonction physiologique n'est pas toujours claire. Ils sont composés de divers groupes chimiques (alcaloïdes, terpènes, phénols, etc.), répartis de manière très inégale dans les végétaux, mais pouvant s'accumuler en grande quantité. (Macheix et al., 2005).

**I.9.1. Composition en métabolites secondaires :****I.9.1.1. Les composés phénoliques :**

**Tableau 2 :** Contenu des composés phénoliques dans la feuille d'*Elaeagnus angustifolia*.  
(Saltan et al., 2017).

| Composants                             | Contenu               |
|--|-----------------------|
| Acide vanillique                       | 129.06 mg/1000 g      |
| Acide protocatechuique                 | 92.58 mg/1000 g       |
| Acide 4-hydroxy benzoïque              | 57.88 mg/1000 g       |
| Acide p-Coumarique et acide Ferrulique | 1.76 à 8.69 mg/1000 g |

# **CHAPITRE II**

## **Les composés phénoliques**

**II. Les composés phénoliques :**

Les polyphénols ou composés phénoliques sont des métabolites secondaires. Ils se caractérisent par la présence de groupements phénoliques, un ou plusieurs cycles aromatiques (benzéniques) avec un ou plusieurs OH (**Labbani, 2022**). Bien qu'ils soient des composés mineurs par rapport à ceux des métabolites primaires, ce sont des composés très populaires dans le règne végétal (**Benarous, 2021**). Voies des phosphates, shikimates et phénylpropanoïdes des dérivés pentoses chez les plantes (**Ozcan et al. 2014**). Ces composés existent sous diverses formes dans les fruits et les légumes (**Albuquerque et al. 2021**).

Leur position dans la plante est presque uniforme parmi les tiges, les feuilles, les racines et les graines. Au niveau cellulaire, ces molécules sont stockées dans des vacuoles cytoplasmiques, mais uniquement dans les cellules périphériques de l'épiderme végétal (**Labbani, 2021**). Ils sont responsables de la pigmentation et de l'astringence, et en plus de protéger les plantes des ravageurs et des insectes, ils agissent également comme protecteurs UV (**Lattanzio, 2013**).

II.1.Classifications des Composés phénoliques :

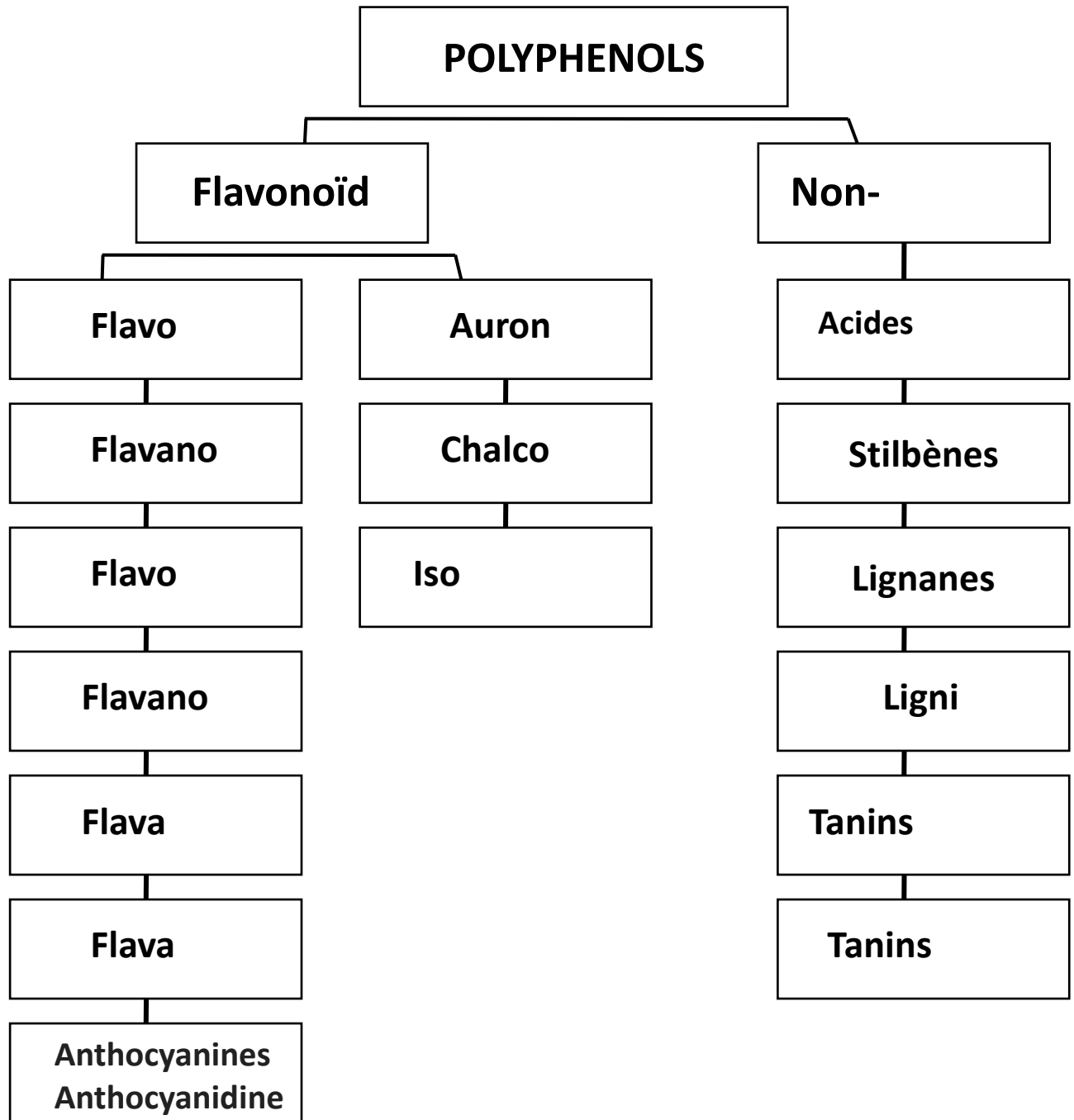


Figure 2 : Classifications des composés phénoliques (Duarte et Arturo, 2015).

II.1.1. Acides phénoliques :

Ces composés organiques sont les formes les plus simples de composés phénoliques. Ils possèdent au moins une fonction hydroxyle et une fonction carboxyle. Ce sont des dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque (C6-C1) ou de l'acide cinnamique (C6-C3) (Labbani ,2021).

### II.1.1.1. Acides hydroxy benzoïques :

Les acides phénoliques C6-C1, dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque, sont très courants sous les formes libres et conjuguées sous forme d'esters ou d'hétérosides (Benhammou, 2011).

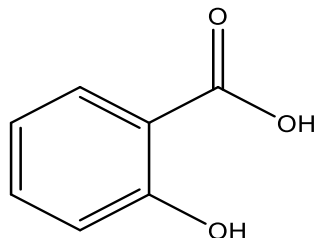


Figure 03 : Structure de l'acide benzoïque.

### II.1.1.2. Acides hydroxy cinnamiques :

L'acide cinnamique est un intermédiaire clé entre la voie du shikimate et les phénylpropanoïdes. Voie biosynthétique. Les acides cinnamiques sont constitués d'un cycle aromatique (C6) greffé par une chaîne de trois atomes de carbone (C3) se terminant par un groupe carboxyle. Les dérivés d'acide cinnamique les plus courants dans les plantes sont l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide p-coumarique et l'acide sinapinique (Bontpart, 2015).

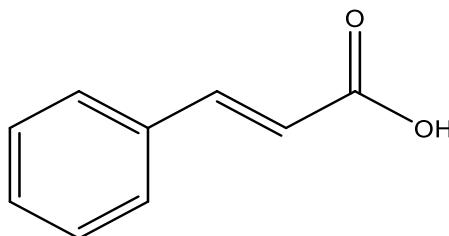


Figure 04 : Structure de l'acide hydro cinnamiques.

### II.1.2. Les lignanes :

Les lignanes sont des métabolites secondaires des plantes avec des structures chimiques différentes. Cependant, la structure de base consiste en une combinaison de dimères phénylpropanoïdes (C6-C3) reliés par des atomes de carbone de la chaîne latérale. Cette classe se produit dans certaines graines (Albuquerque, et al. 2021).

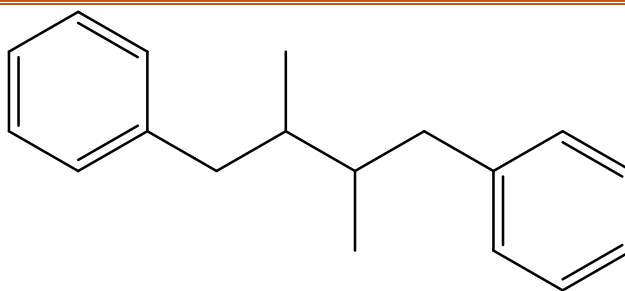


Figure 05 : Structure de lignane.

### II.1.3. Les coumarines :

Les coumarines qui sont aussi les dérivés de C6-C3, appartiennent au groupe des composés connus par des benzo-a-pyrone et toutes sont substituées en 7 par un hydroxyle. Elles se trouvent dans la nature soit à l'état libre ou bien combiné avec des sucres (Benhammou, 2011).

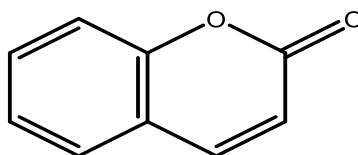


Figure 06: Structure de coumarine.

### II.1.4. Les stilbenes :

Les stilbènes sont des cp non flavonoïdes. (Bontpart, 2015). Les membres de cette famille possèdent la structure C6-C2-C6 comme les flavonoïdes. Ce sont des phytoalexines, composés produits par les plantes en réponse à l'attaque par les microbes pathogènes fongiques, bactériens et viraux (Benhammou, 2011).

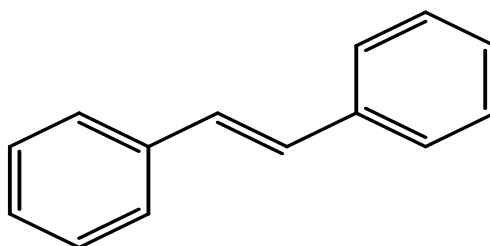
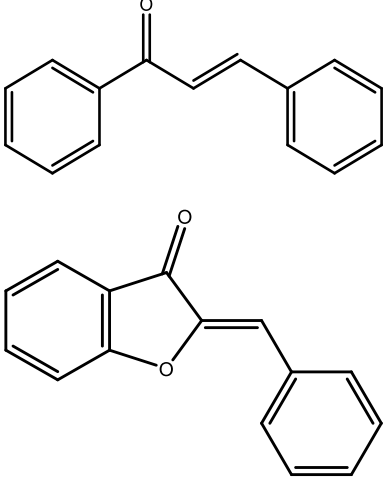
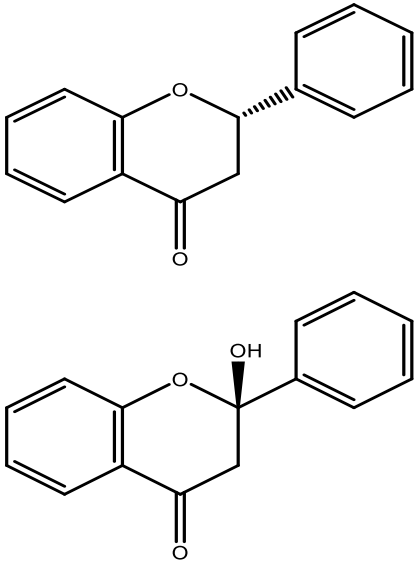
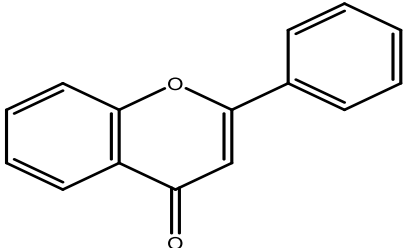


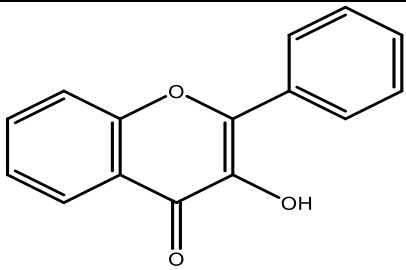
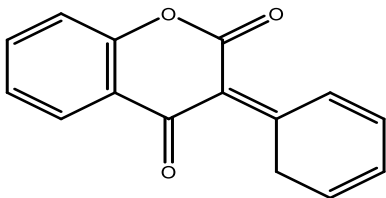
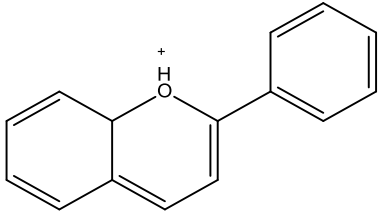
Figure 07 : Structure de stilbene.

**II.1.5. Les flavonoïdes :**

Les flavonoïdes et leurs conjugués forment un très grand groupe de produits naturels : plus de 8000 flavonoïdes différents ont été identifiés. On les trouve dans de nombreux tissus végétaux, où ils sont présents à l'intérieur des cellules ou à la surface de différents organes végétaux. Les structures chimiques de cette classe de composés sont basées sur un squelette C6-C3-C6. Selon la position de la liaison du cycle aromatique au fragment benzopyrano (chromano). Divers sous-groupes de flavonoïdes sont classés en fonction à la fois du modèle de substitution et du degré d'oxydation et de saturation présents dans le cycle C hétérocyclique (Lattanzio, 2013).

**Tableau 3 :** Structure des différentes classes des flavonoides.

| Classes                                 | Structure chimique  | Caractéristiques  |
|---|---|---|
| <p><b>Chalcones et Aurones</b></p>      |    | <p><b>Les Chalcones :</b> possèdent une chaîne C3 linéaire reliant les deux cycles A et B. La chaîne C3 des chalcones contient une double liaison, ils sont des pigments jaunes en fleurs, tels que Butein.</p> <p><b>Les aurones :</b> sont formés par cyclisation de la chalcone. Un groupe méta-hydroxy réagit avec le carbone <math>\alpha</math> pour former un groupe 5-hétérocyclique. L'auron est aussi un pigment jaune contenu dans les fleurs.</p>               |
| <p><b>Flavanones et Flavanonols</b></p> |   | <p><b>Flavanones :</b><br/>Les hétérocycles de flavanone contiennent également un groupe cétone, mais pas de liaisons carbones insaturées.</p> <p><b>flavanonols :</b><br/>Aussi connu sous le nom de dihydroflavonols, il est souvent associé aux tanins du bois de cœur</p>   |
| <p><b>Flavones et Flavonols</b></p>     |  | <p><b>Flavones :</b><br/>Les hétérocycles de flavone contiennent un groupe cétone et une liaison carbone-carbone insaturée. Les flavones se trouvent couramment dans les angiospermes (<b>Benarous, 2021</b>).</p> <p><b>Flavonols :</b><br/>Il possède une fonction carbonyle en C4 et un double liaison entre C2 et C3. Dans les plantes, ils s'accumulent principalement sous forme de glycosides. La diversité augmente avec le type de sucre attaché au carbone 3.</p> |

|                        |  |  |
|------------------------|--|--|
|                        |   | (Bontpart, 2015.)  |
| <b>Isoflavonoïdes</b>  |   | <b>Isoflavones :</b><br>Ce sont des composés trouvés principalement dans les légumineuses telles que le soja. Certains dérivés d'isoflavones ont des effets bactériostatiques et sont spécifiquement induits dans les infections causées par des micro-organismes phytopathogènes(Labbani, 2021) |
| <b>Anthocyanidines</b> |  | L'hétérocycle d'anthocyanidine est un cation pyrylium.Ces composés se trouvent dans les vacuoles des tissus colorés des plantes telles que les feuilles et les pétales (Benarous, 2021).   |

### II.1.6. Les tannins :

Ce sont des polyphénols polaires d'origine végétale présents dans presque toutes les parties des plantes. (Labrani ,2021). Ils ont un poids moléculaire de 500 à 3000. Deux groupes différents de tanins peuvent être distingués en fonction de leur structure et de leur origine biogénique :

- **Tanins hydrolysables** : Oligos ou polyesters de sucres et nombres variables d'acides phénoliques. Le sucre est généralement du D-glucose et l'acide phénolique est soit de l'acide gallique pour les gallotannins, soit de l'acide ellagique pour les tanins appelés classiquement ellagitanins.
- **Tanins condensés, tanins catéchiques ou proanthocyanidol** : ils sont fondamentalement différent des tanins hydrolysables car sa molécule ne contient pas de sucres et sa structure ressemble à celle des flavonoïdes. Ce sont des polymères composés d'unités flavan-3-ol reliées par des liaisons carbone-carbone (Benhammou, 2011).

### II.3. Les Composés phénoliques et la santé humaine :

Les polyphénols protègent contre les événements cardiovasculaires et les maladies coronariennes. Ces composés naturels aux propriétés antioxydantes intéressantes jouent un

rôle important dans la prévention des maladies inflammatoires et le traitement du cancer. Leur efficacité dépend du type, de la concentration et du taux d'absorption dans l'intestin grêle. Les polyphénols sont de grands antioxydants anti-âges. Certains polyphénols, tels que les isoflavones, être utilisés avec prudence, contre l'ostéoporose, lors de la ménopause ou dans certains cancers (**Labani, 2021**).

## **CHAPITRE III**

### *Activité inhibitrice d'enzyme*

### III.1. Alpha-amylase :

Comme toutes les enzymes, les  $\alpha$ -amylases sont des macromolécules appartenant à la classe des protéines globulaires. Synthétisé dans le corps de tous les êtres vivants. C'est une enzyme endogène d'un poids moléculaire de 40-70 kDa qui hydrolyse de manière aléatoire les liaisons acides aminés (1,4) de l'amylose, de l'amylopectine, de l'amidon et du glycogène, à l'exclusion des liaisons terminales de ces chaînes. Il provoque la libération de glucose, de maltose et surtout d' $\alpha$ -dextrine (Koua, 2020).

#### III.1.1.Nomenclature :

- Nom systématique :  $\alpha$ -(1,4)-D-glucane glucanohydrolase.
- Nom de code: CE 3.2.1.1.
- Nom recommandé: Alpha-amylase.
- Synonymes: glucogénase, endoamylase, maxylase, taka-amylase A, (Pinto, et al., 2015).

#### III .1.2. Structure :

L' $\alpha$ -amylase est une glycoprotéine contenant 478 acides. Groupe amino divisé en trois domaines globulaires. Ces domaines sont une chaîne polypeptidique composée principalement de résidus hydrophobes. Les glucides sont formés essentiellement à partir de maltose, résidus formant des sites d'ancrage au substrat situés dans le domaine a ainsi que ceux qui forment le centre catalytique, les  $\alpha$ - amylases sont composées de huit feuillets  $\beta$  repliés et de huit hélices  $\alpha$  (Koua, 2020).

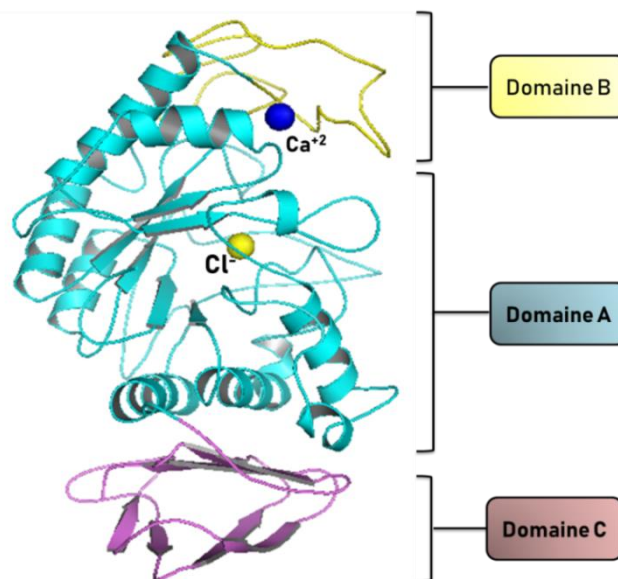


Figure 8 : Structure tridimensionnelle de l'enzyme  $\alpha$ -amylase.

### III.1.3. Origines de l' $\alpha$ -amylase :

L' $\alpha$ -amylase était abondante dans tous les règnes et isolée par extraction à partir des tissus végétaux et animaux, ou par fermentation avec des cellules microbiennes.

**Tableau 4 :** Différentes origines de l' $\alpha$ -amylase (Koua, 2020).

|                              |   |
|------------------------------|---|
| <b>Origine animale :</b>     | Les $\alpha$ -amylases animales sont généralement extraites de la salive humaine et Pancréas de mammifères tels que les porcs et les veaux.   |
| <b>Origine végétale :</b>    | L' $\alpha$ -amylase joue un rôle important dans le métabolisme des plantes.<br>Participent à l'hydrolyse de l'amidon en produisant des sucres réducteurs (glucose). Et (maltose) directement assimilables. Cette enzyme végétale est généralement obtenue en l'extrayant de céréales, notamment de blé, d'orge, de son ou de riz. ..souvent formé lors de la germination des grains. |
| <b>Origine microbienne :</b> | Une distinction est faite entre les $\alpha$ -amylases fongiques et bactériennes. Les amylases fongiques diffèrent des amylases bactériennes par leur inactivation par la température et la puissance Haute saccharification et faible ph optimal (4-5).  |

### III.2. Maladies ou affections associées à des taux plasmatiques élevés d'alpha amylase :

L'amylase est principalement présente dans la salive et le tissu pancréatique. Le sang normal contient de petites quantités d'amylase, mais dans divers troubles de la fonction pancréatique, le pancréas sécrète de grandes quantités d'amylase dans le sang. Des niveaux élevés d'activité enzymatique de l'amylase peuvent indiquer une variété de maladies, y compris la pancréatite, le diabète, la cirrhose, les maladies auto-immunes, les maladies cardiaques, etc. (Panteghini, et al,2002 ;Attia et Najlaa, 2016).

**III.3. Diabète :**

Le diabète est une maladie chronique qui apparait lorsque le pancréas ne produit pas suffisamment d'insuline (l'hormone qui régule le taux de sucre ou de glucose dans le sang), ou lorsque l'organisme n'utilise pas correctement l'insuline qu'il produit, (**Rapport mondial sur le diabète,2016**). Cette carence entraîne une augmentation de glycémie, qui entraîne des dommages affectant plusieurs appareils, en particulier les vaisseaux sanguins et les nerfs. (**Cancelli, 2011**).

**III.3.1. Symptômes :**

Les symptômes typiques du diabète sont la polyurie, la polydipsie, la fatigue et la faiblesse. Les personnes atteintes de diabète de type 1 ont un appétit accru et peuvent perdre la vue, mais elles perdent également du poids. Le diabète de type 1 provoque généralement des symptômes en quelques jours ou semaines. Les cas de type 1 sont donc peu susceptibles d'être diagnostiqués sur la base d'un examen physique de routine. Au contraire, le développement du diabète de type 2 est souvent sans symptômes cliniques, de sorte que les patients sont généralement diagnostiqués lors d'examens de routine. En plus des symptômes typiques du diabète, les cas de type 2 peuvent également être accompagnés d'autres affections, telles que des infections cutanées et des problèmes de cicatrisation. On estime qu'environ un tiers des personnes atteintes de diabète de type 2 ont des comorbidités chroniques lorsque la maladie est découverte. (**Dardari, 2021**).

**III.3.2. Diagnostiques du diabète :**

Le diagnostic du diabète est basé sur la mesure des niveaux de sucre dans le sang (glycémie).

**Tableau 5 : Critères diagnostiques du diabète. (Gariani et Hagon-Traub, 2009).**

|   |
|---|
| <p><b>1.</b> Glycémie plasmatique à jeun <math>\geq 7</math> mmol/L. Le jeûne est défini par aucun apport calorique pendant au moins 8 heures encore.</p>   |
| <p><b>2.</b> Symptômes d'hyperglycémie et de glucose plasmatique enregistré au hasard à tout moment de la journée <math>\geq 11,1</math> mmol/L. Symptômes typiques de l'hyperglycémie. Ceux-ci comprennent la polyurie, la polydipsie et la perte de poids inexplicable.</p> |
| <p><b>3.</b> Pendant le test de tolérance au glucose par voie orale (HGPO), glucose plasmatique <math>\geq 11,1</math> après 2 heures Charge de glucose de 75 g.</p>  |

#### 4. Hémoglobine glyquée (HbA1c) :

Les mesures de l'hémoglobine glyquée fournissent une estimation de la glycémie moyenne au cours des 2 à 3 derniers mois de suivi du patient. Sa valeur est généralement exprimée en pourcentage et permet de surveiller l'équilibre glycémique chez les diabétiques. Bien que ce soit principalement pour la surveillance de la glycémie, l'HbA1c la plus basse mesurée par HPLC est de 6,5 %.(Chromatographie en phase liquide à haute performance). (Guérin-Dubourg, 2014).

#### 5. Mesure de la glycosurie :

La méthode de quantification était basée sur la couleur de l'urine bouillie en présence d'une solution alcaline (potasse, soude ou chaux).La couleur brune du mélange était plus prononcée avec une teneur en sucre plus élevée. (Chast et Gérard, 2007).

#### III.3.3. Classements de diabète :

**Tableau 6 :** Différents classements de diabète. (Punthakee, et al., 2018).

|                                |  |
|--------------------------------|--|
| <b>Le diabète de type 1</b>    | Les cellules bêta pancréatiques sont détruites, prédisposant à l'acidocétose. Cette forme s'agit notamment des cas dus à des processus auto-immuns et l'étiologie de la destruction de la cellule bêta est inconnue. |
| <b>Le diabète de type 2</b>    | Varie principalement de la résistance à l'insuline au diabète. Carence en insuline associée à des troubles majeurs de la sécrétion induits par l'insuline de résistance.   |
| <b>Le diabète gestationnel</b> | Est une intolérance au glucose<br>Apparition ou première détection pendant la grossesse.   |

#### III.3.4. Inhibition d'alpha-amylase :

En raison de l'action de l'enzyme  $\alpha$ -amylase, les polysaccharides sont convertis en monosaccharides et absorbés par le corps humain. Ainsi, en inhibant l'enzyme, la digestion et l'absorption ultérieures sont inhibées. Étant donné que les monosaccharides, en particulier les niveaux de glucose sanguin chez les patients diabétiques, peuvent être évités, il s'agit d'une bonne conception ciblée ou d'une approche thérapeutique pour la gestion du diabète de type 2. (Bashary, et al,2020).

---

**III.3.5. Le médicament antidiabétique le plus courant agit principalement en interférant avec la digestion et l'absorption des glucides :**

Acarbose (BAY g 5421) - Cet inhibiteur microbien a été le premier inhibiteur d'alpha-glucosidase disponible dans le commerce pour le traitement du diabète et inhibe les activités de l'alpha-amylase, de la sucrase et de la maltase. (Agarwal et Ritika, 2016).

# **CHAPITRE IV**

## ***Activité Antibactérienne***

## IV. Activité Antibactérienne :

L'environnement dans lequel les humains vivent contient de nombreux micro-organismes présents dans le sol, l'air, l'eau, la surface de la peau, les muqueuses, le système respiratoire, le système digestif, les organes reproducteurs et l'urètre. Ces micro-organismes sont constitués de bactéries, de virus, de champignons et de parasites. Ce sont soit des pathogènes, soit des hôtes humains naturels (flore sagittale), comme le macrobiote intestinal. Le monde des bactéries est très vaste et les bactéries sont abondantes dans notre environnement. Elles remplissent des fonctions dans l'eau et sur terre. Certaines de ces fonctions sont bénéfiques, comme l'engrais bactérien dans le sol, tandis que d'autres peuvent entraîner des maladies pour les humains, les animaux et les plantes. **(Khayati, 1998).**

### IV.1. les maladies infectieuses :

La réponse de notre corps à de petits agents incroyablement nocifs connus sous le nom de microbes, en particulier les bactéries, les virus et les champignons, est appelée maladie infectieuse. En fait, la diversité des maladies étiologiques elle-même conduit à une variété de maladies. **(Nicolle, 2013).**

Les agents pathogènes peuvent pénétrer dans notre organisme par diverses voies, telles que la peau (furoncle, paronychiée, brûlures, plaies infectées, escarres), le tractus gastro-intestinal (péritonite, sigmoïdite, cholangite, chirurgie abdominale, cholécystite), les muqueuses (infections ORL ou dentaires), le système génito-urinaire (fausse couche, accouchement infecté et infection urinaire). **(Pebret, 2003).**

### IV.2. Infections bactériennes :

Les bactéries sont responsables de cette forme d'infection en raison de leur virulence et/ou de leur toxicité. La relation entre l'hôte et la bactérie au niveau de la membrane cellulaire (vue au microscope) permet de distinguer deux types de bactéries : celles qui attaquent les cellules de l'extérieur (bactéries extracellulaires) et celles qui peuvent pénétrer la membrane cellulaire et causer des dommages de l'intérieur (bactéries intracellulaires). Ces cellules se reproduisent soit par endocytose, soit par d'autres moyens. **(Pebret, 2003).** De plus, la pathogénicité des bactéries est déterminée par leur capacité à envahir l'hôte et à s'y multiplier, et à être par leur capacité à libérer des toxines résistant au système immunitaire de l'hôte. **(Zaouia, 2020).**

**IV.3. Antibiotiques :**

L'antibiotique est un médicament qui empêche la croissance des bactéries nocives ou les élimine. Les préconisés sont des composés chimiques ayant une activité spécifique et un pouvoir destructeur contre les micro-organismes, et ils peuvent avoir une origine naturelle ou synthétique. En fait, ils entravent la croissance bactérienne en attaquant des cibles critiques telles que la membrane bactérienne, la synthèse des protéines et des acides nucléiques, et les fonctions de la membrane cytoplasmique. **(Kassah-Laouar, 2020).**

---

# ***MATERIELS ET METHODES***

---

## MATERIELS ET METHODES

---

### 1. Matériels :

Ce travail a été effectué au sein du laboratoire de biochimie du département de biologie et laboratoire des sciences fondamentales à l'Université Amar Thlidji de Laghouat.

### 1.2. Matières végétales :

Le matériel végétal est constitué des feuilles de la plante *Elaeagnus angustifolia* L. Les feuilles ont été récoltées dans la région de Laghouat (Hamda) en novembre 2022 et séchées à l'ombre du soleil pendant 10 jours. Après 10 jours, il a été pulvérisé avec un broyeur électrique pour obtenir une poudre.



Figure 9 : feuilles de l'*Elaeagnus angustifolia* A : feuilles fraîches , B : feuilles séchées.

### 1.3. Souches bactériennes utilisées :

Le tableau ci-dessous présente les souches bactériennes utilisées :

Tableau 7 : Les souches bactériennes utilisées. (Avril, et al., 1992 ; Avril, et al., 2002 ; Wolfgang, et al., 2003 ; Marchal., 2003).

| Bactéries                     | Gram         | Reference  |
|-------------------------------|--------------|------------|
| <i>Escherichia coli</i>       | Gram-négatif | ATCC 25922 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | Gram-négatif | ATCC 14028 |
| <i>Staphylococcus aureus</i>  | Gram-positif | ATCC25923  |

### 1.4. Produits chimiques :

Les produits chimiques utilisés sont les suivants :

- ✓ Hexane (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>).
- ✓ Dichlorométhane (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).

## MATERIELS ET METHODES

---

- ✓ Méthanol (CH<sub>3</sub>OH).
- ✓ Acétate d'éthyle (C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>).
- ✓ Sulfate de sodium anhydride (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>).
- ✓ Diméthylsulfoxyde (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>OS).
- ✓ Mueller Hinton Agar.
- ✓ Bouillon.
- ✓ Substrat : AMYLASE CNPG3.
- ✓ Gomme arabica.
- ✓ Hydrogénophosphate de potassium (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>).
- ✓ Potassium dihydrogenophosphate (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>).
- ✓ Chlorure de potassium (KCl).

### 1.5. Les matériels du laboratoire :

UV-visible – Balance - Rotavapor-Autoclave-Incubateur.

## 2. Extraction des composés phénoliques :

### 2.1. Extraction à froid ou Macération :

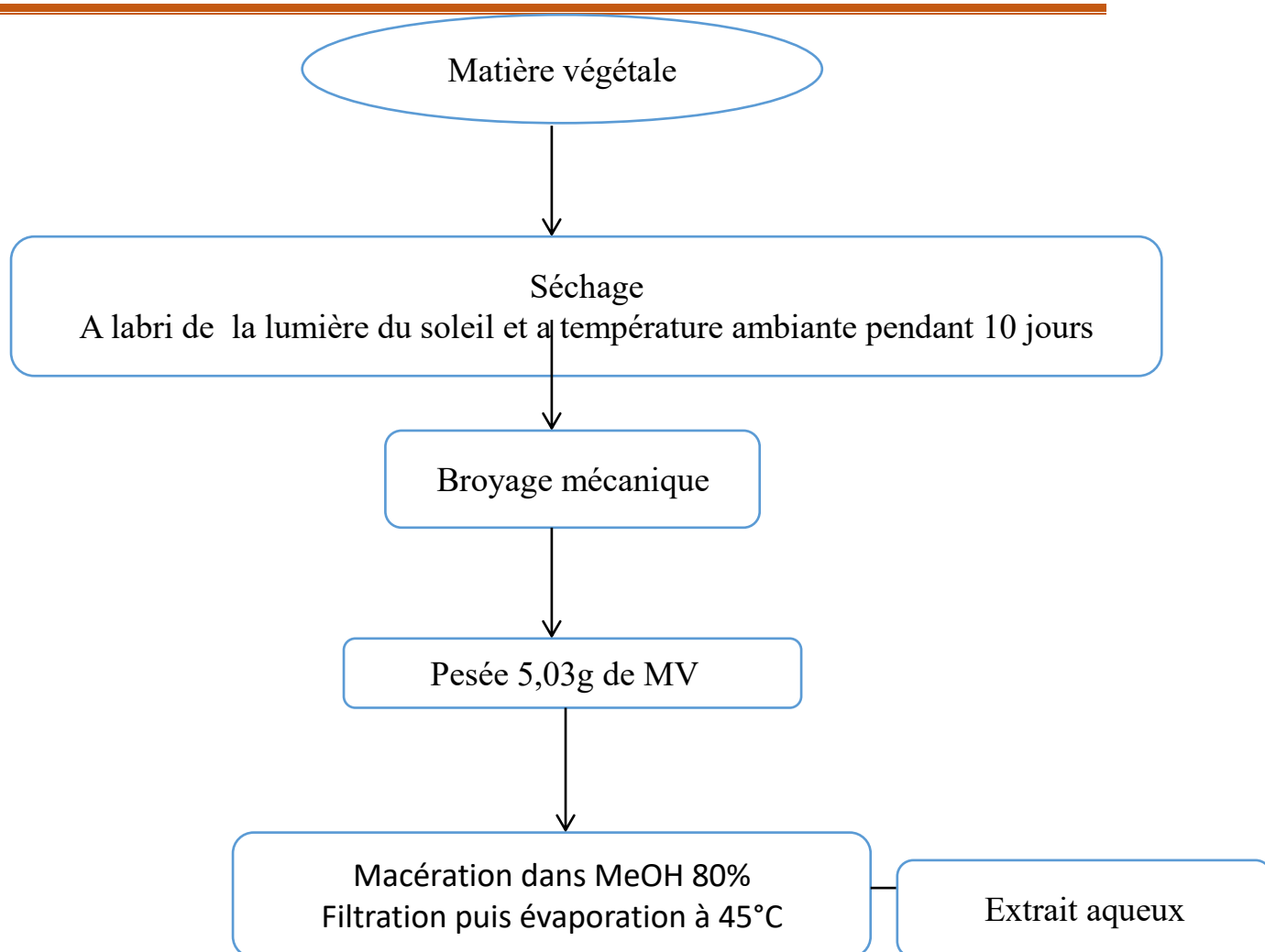
Lors de la macération, la matière végétale en poudre est en contact prolongé avec un solvant pour en extraire les principes actifs. Puisqu'il est extrait à température ambiante, il a l'avantage de préserver les substances thermosensibles. Cette extraction se fait en deux étapes. (Bouchouka, 2016).

#### A. Préparation du filtrat hydrométhanolique :

Une quantité de 5,03 g de poudre de plante a été macéré dans un mélange hydroalcoolique (méthanol (CH<sub>3</sub>OH)/eau 80/20 : V/V) a température ambiante, pendant 48 heures sous agitation à l'obscurité. Le filtrat d'hydrométhanol résultant est filtré sur papier filtre puis concentré sous vide à 45°C à l'aide d'un rota vapeur pour obtenir une solution aqueuse contenant l'extrait.

## MATERIELS ET METHODES

---



**Figure 11** : Schéma illustrant l'extraction hydrométhanolique (Extrait aqueux).

### B. Fractionnement de la phase aqueuse :

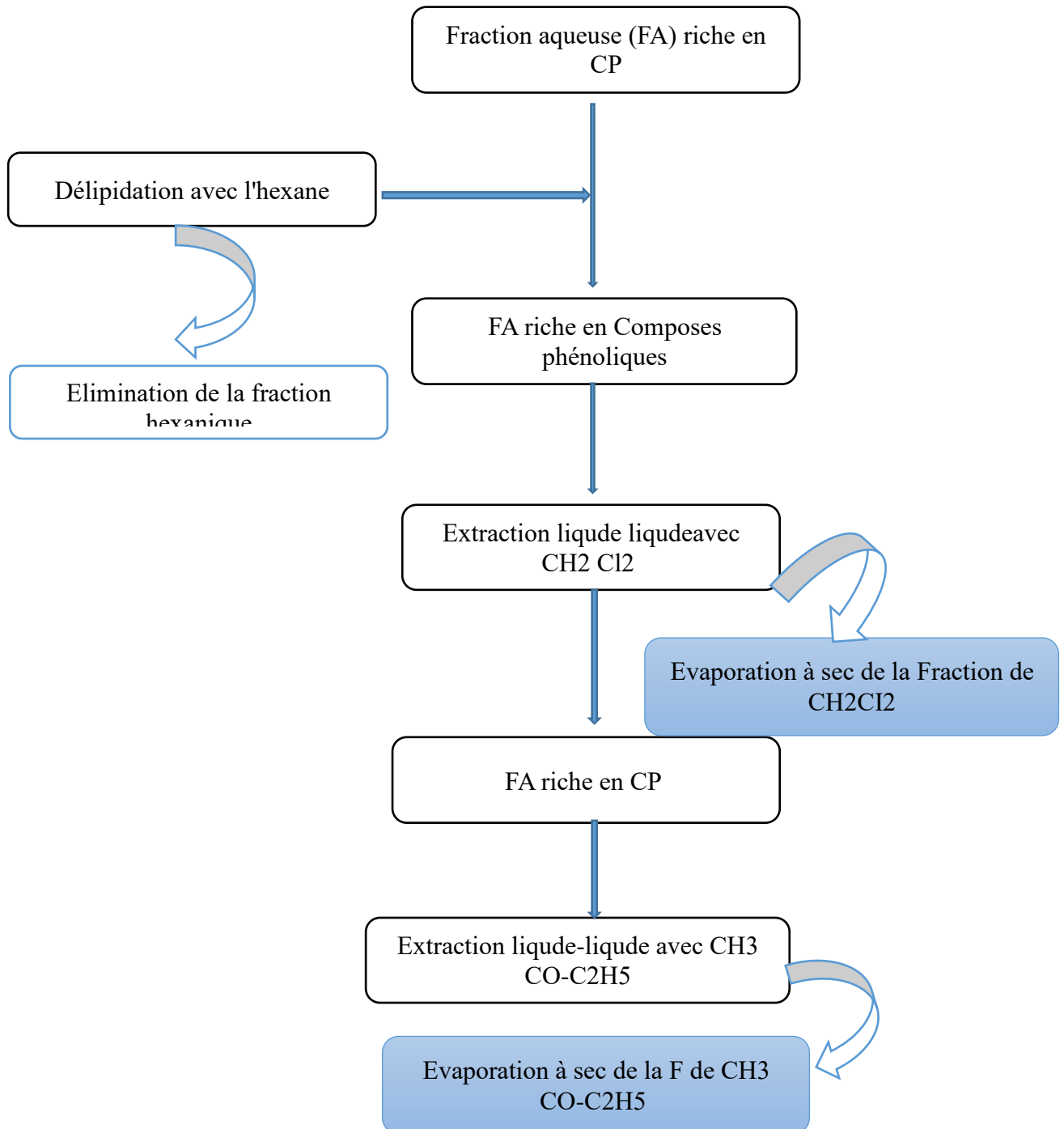
La solution aqueuse (phase aqueuse) ainsi obtenue est puis subit une extraction liquide-liquide dans une ampoule à décanter avec une succession de solvants organiques : Hexane ( $C_6H_{14}$ ) et Dichlorométhane ( $CH_2Cl_2$ ), acétate d'éthyle ( $C_4H_8O_2$ ).

On a ajouté l'hexane dans l'ampoule à décanter jusqu'à épuisement complet pour éliminer toute trace de composés non polaires (pigments, lipides, etc.). Les composés phénoliques sont extraits exhaustivement avec le dichlorométhane et l'acétate d'éthyle. Chaque portion de solvant organique (phase organique) est agitée manuellement et mise en contact avec la phase aqueuse pendant quelques secondes puis laissée au repos jusqu'à la séparation des deux phases. Les deux phases organiques obtenues sont séchées par le sulfate de sodium anhydride  $Na_2SO_4$  pour éliminer toutes traces d'eau.

## MATERIELS ET METHODES

### C. L'évaporation :

Après filtration, les phases organiques sont évaporées sous vide à 30°C pendant 30min à l'aide d'un rotavapor. L'extrait phénolique obtenu se présente sous la forme d'une poudre sèche dissoute dans le méthanol.



## MATERIELS ET METHODES

---

Figure 12 : les formules chimiques : les chiffres en indice.

### 2.2. Calcul de rendement :

Le rendement (%) est défini comme le rapport entre la masse de l'extrait et la masse de la poudre végétale sèche. Le rendement est calculé à l'aide de la formule suivante :

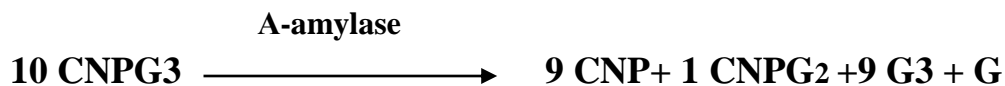
$$\text{Rdt} = (\text{PB} / \text{PA}) \times 100$$

- **PB** : poids d'extrait brut.
- **PA** : poids de la plante sèche en poudre. (Bouchouka, 2016).

### 3. L'activité inhibitrice de l' $\alpha$ -amylase :

#### 3.1. Le principe :

Pour étudier les effets des extraits phénoliques d'*E.A* sur l' $\alpha$ -amylase salivaire humaine et déterminer l'IC50 : la Concentration d'inhibiteur nécessaire pour inhiber 50 % de l'enzyme ou réduire l'activité enzymatique de 50 %, nous avons utilisé le réactif AMYLASE CNPG3 de la marque BIOLABO, dans cette étude nous nous intéressons à l'apparition du CNP (chloro-nitro-phénol) qui se produit de l'hydrolyse de CNPG3 (2-chloro-4-nitrophenyl malto trioside) par l'enzyme  $\alpha$ -amylase salivaire selon la réaction suivante :



**CNPG3** : 2-chloro-4-nitrophenyl malto trioside

**CNP** : chloro-nitro-phénol

**G3** : Maltotriose

**G** : Glucose

La concentration du CNP est proportionnelle à l'activité de l' $\alpha$ -amylase, et mesurée à 405 nm par spectrophotomètre UV-visible.

#### 3-2 Test de l'activité du $\alpha$ -amylase salivaire :

L'enzyme salivaire a été dilué 1000 fois avec un tampon phosphate salin ((0.5g) gomme arabica, (0.435g)  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , (0.34g)  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , (4.5g) KCl dans 500ml d'eau distillée).

## MATERIELS ET METHODES

---

Pour tester l'activité de l'enzyme  $\alpha$ -amylase, on a ajouté 140 $\mu$ l de l'enzyme diluée à 140 $\mu$ l du tampon phosphate, puis incubé pendant 15 min à 37°C. Ensuite, 1000 $\mu$ l du substrat de concentration (1g/l) a été additionné, le mélange est incubé une autre fois pendant 4 min, la lecture de l'absorbance a été fait à 405 nm, contre un blanc, le blanc est dépourvu de substrat.

### 3-3 Test d'inhibition de l' $\alpha$ -amylase :

Les deux extraits (DCM ; AE) sont dilués par le méthanol pour obtenir des différentes concentrations a fin d'évaluer leur effet sur l'activité enzymatique de l' $\alpha$ -amylase.

140 $\mu$ l de chaque extrait dilué a été mélangé avec 140 $\mu$ l d'enzyme (salive diluée) , ce mélange est incubé pendant 15 min à 37°C , la réaction enzymatique est déclenchée par l'ajout de 1000 $\mu$ l de substrat (CNPG3) , puis incubé pendant 4 min ,la lecture de l'absorbance a été fait à 405 nm contre un blanc qui est dépourvu du substrat .

La valeur d'IC50 a été déterminée a l'aide de la représentation graphique  $I\% = f(C)$  tel que I% est déterminé par la formule suivante :

$$I\% = \left( \frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{extrait}}}{A_{\text{contrôle}}} \right) * 100$$

**I%**: Le pourcentage d'inhibition.

**A extrait** : L'absorbance de l'activité enzymatique en présence de l'extrait.

**A contrôle** : L'absorbance de l'activité enzymatique en absence de l'extrait.

## 4. Etude de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion des disques :

La méthode de diffusion par disque est généralement utilisée comme analyse préliminaire pour déterminer l'activité antibactérienne avant que des méthodes plus approfondies ne soient appliqués. (Manou et al., 1998 ; Burt, 2004).

### 4.1. Souches bactériennes testées :

Un ensemble de trois souches bactériennes de référence ATCC (*E. coli*, *S. aureus* et *P. aeruginosa*) sont utilisées pour évaluer l'activité antibactériennes des extraits phénoliques de l'espèce *Elaeagnus angustifolia* (extrait d'acétate d'éthyle et extrait de dichlorométhane).

## **MATERIELS ET METHODES**

---

### **4.2. Le principe de la méthode de diffusion des disques :**

Cette méthode est réalisée selon le protocole décrit par (Biondi et al. 1993). Le principe de ce test repose sur la diffusion des agents antibactériens de différentes concentrations en milieu solide. Après un certain temps de contact entre les composés antibactériens et la souche, l'effet du produit antibactérien apparaît comme une zone d'inhibition, la souche est considérée soit sensible, très sensible, extrêmement sensible ou bien résistante.

### **4.3. Préparation des milieux de culture :**

Le milieu de culture utilisé est le Muller-Hinton. 15mg agar et 21mg bouillon ont été dissous dans un litre d'eau distillée puis chauffés et agités lentement jusqu'à la dissolution complète (PH=7.3). La solution obtenue est stérilisée à l'autoclave à 121° C pendant 2 heures, après refroidissement elle est transférée dans des boîtes de pétri.

### **4.4. Stérilisation du matériel :**

Les tubes à essai utilisés dans la préparation des solutions bactériennes ont été stérilisés en premier dans un four pasteur, les disques en papier Wattman (6 mm de diamètre) et la gélose nutritive a été stérilisée à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

### **4.5. Préparation des extraits :**

Les deux extraits de DCM et Acétate d'éthyle ont été concentrés par évaporation du solvant, les résidus obtenus sont solubilisés dans le DMSO pour préparer des différentes concentrations de chaque extrait.

### **4.6. Préparation d'inoculum :**

Les souches bactériennes ont été mises en culture dans les bouillons nutritifs et incubées à 37 °C pendant 24h, leur densité doit être équivalente à 0.5. L'inoculum peut être donc ajusté, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort.

### **4.7. Ensemencement et dépôt des disques :**

Les suspensions bactériennes ont été étalées à la surface de la gélose M.H à l'aide des écouvillons. Les disques imprégnés des extraits (5 microlitres) sont déposés délicatement sur la surface de la gélose à l'aide d'une pince stérile. De même les antibiogrammes réalisés avec des disques contenant de DMSO (témoin négatif). Les boîtes de pétri sont incubées pendant 24 heures à 37°C, l'expérience est répétée trois fois pour chaque concentration d'extrait et pour chaque espèce bactérienne.

## MATERIELS ET METHODES

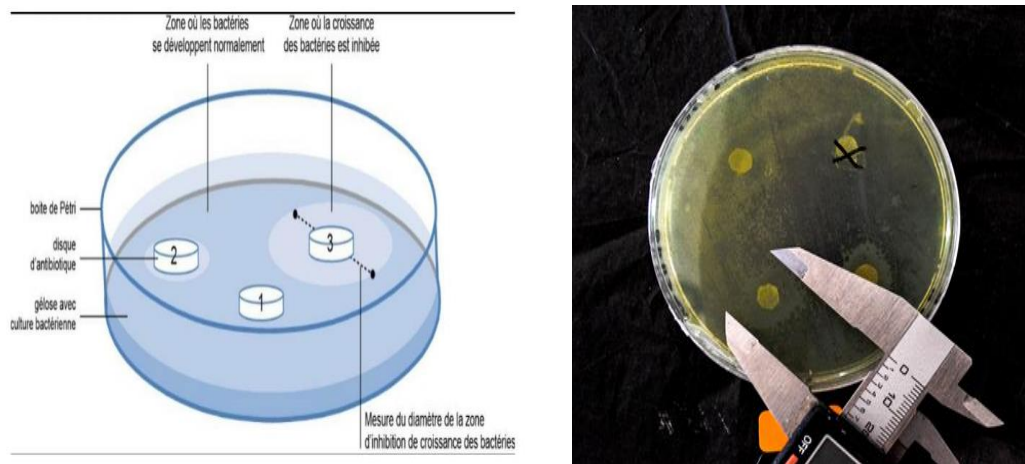
### 4.8. Lecture :

Après 24 heures d'incubation on a mesuré les diamètres des zones d'inhibition entourant chaque disque à l'aide d'une règle en (mm) (fig. 13).

Selon ce diamètre :

Les souches sont classées comme suit :

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre moins de 8 mm.
- Sensible (+) : diamètre entre 8 à 14 mm.
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 20 mm.
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre plus de 20 mm. (Ponce et al., 2003).



**Figure 13** : Détermination de la zone d'inhibition par la méthode de diffusion des disques (Zaiki, 1988).

---

## ***RESULTATS ET DISCUSSION***

---

## RESULTATS ET DISCUSSION

---

### 1. Rendements d'extraction :

L'extraction des composés phénoliques par deux solvants organiques (DCM et Acétate d'éthyle) nous a permis de calculer le rendement de chaque extrait, le tableau 8 présente les résultats obtenus.

**Tableau 8 :** Couleur, l'aspect et le rendement des extraits phénoliques.

| Extrait          | Couleur | Aspect   | Rendement%    |
|------------------|---------|----------|---------------|
| DCM              | Vert    | Visqueux | <b>6,4532</b> |
| Acétate d'éthyle | Jaune   | Poudreux | <b>4,6421</b> |

On remarque que l'extrait de DCM a donné le rendement le plus élevé (6,4%), par contre l'extrait obtenu par l'acétate d'éthyle a donné le rendement le plus faible (4.6%).

Généralement le rendement d'extraction varie selon les techniques d'extraction utilisées (**Fiorucci, 2006**), les conditions de l'environnement, la durée d'extraction, la nature des solvants, ect (**Tsai et al. 2008**).

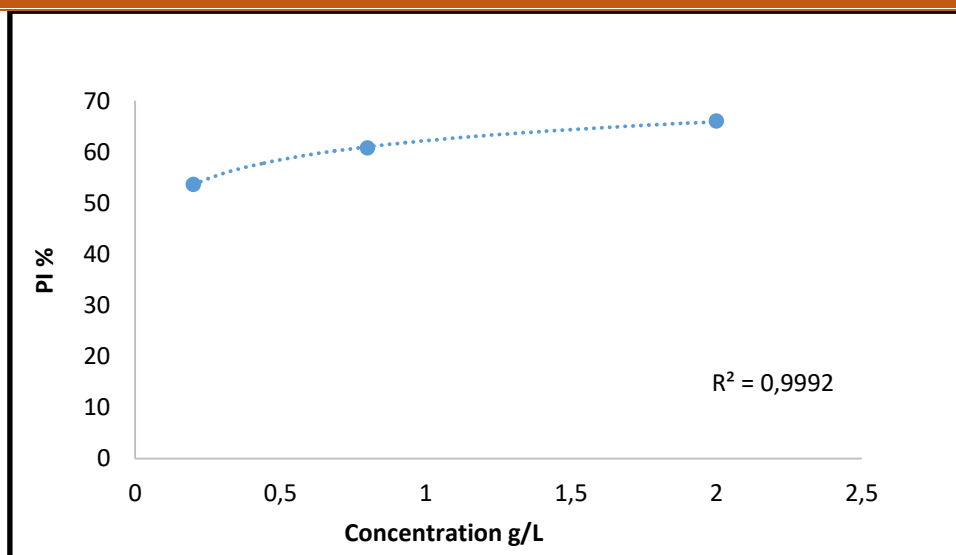
### 2. Test de l'activité inhibitrice de l'enzyme $\alpha$ -amylase :

L'inhibition de l'enzyme alpha-amylase est utilisée comme une option efficace pour prévenir le diabète. Les inhibiteurs synthétiques sont maintenant largement utilisés chez les patients atteints de diabète de type 2, mais ils ont de nombreux effets secondaires graves tels que la toxicité hépatique, les douleurs abdominales, les maladies cardiovasculaires et cérébrovasculaires et l'hypoglycémie. (**Yakhlef, et al., 2011**).

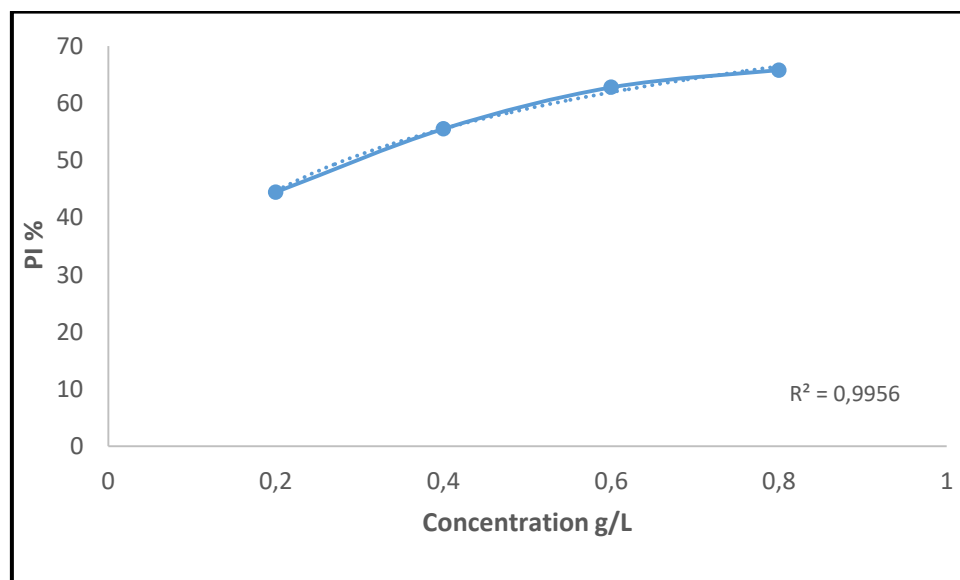
De nombreux extraits de plantes se sont avérés inhiber ces activités enzymatiques avec le moins d'effets secondaires possible. Nous avons évalué le pouvoir inhibiteur de nos extraits (DCM ; AE) sur l'activité de cette enzyme.

Nous avons tracé les courbes représentant la variation du pourcentage d'inhibition I% en fonction des concentrations des extraits exprimées en (g/l) ; nous avons déterminé la concentration inhibitrice à 50% (IC50) de chaque extrait (les courbes sont présentées dans les figures (14), (15). ces représentations graphiques nous a permis de déterminer les valeurs des IC50, les valeurs sont enregistrés dans le tableau (9).

## RESULTATS ET DISCUSSION



**Figure14** : Représentation graphique de l'effet inhibiteur de l'extrait (DCM) sur l' $\alpha$ -amylase salivaire.



**Figure15** : Représentation graphique de l'effet inhibiteur de l'extrait (AE) sur l' $\alpha$ -amylase salivaire.

**Tableau 9** : Valeurs des IC<sub>50</sub> des deux extraits (DCM ; AE).

| L'extrait | Valeur d'IC <sub>50</sub> (g/l) |
|-----------|---------------------------------|
| DCM       | 0,096±0,009                     |
| AE        | 0.263±0.025                     |

## RESULTATS ET DISCUSSION

---

D'après les résultats obtenus présentés dans les figures (14) ;(15), et le tableau (9), on remarque que l'extrait (DCM) présente une inhibition ( $IC_{50}=0,096\pm 0,009$ ) supérieure à celle de l'extrait (AE) ( $IC_{50}=0.263\pm 0.025$ ).

Ces résultats suggèrent que l'extrait (DCM) possède des propriétés antidiabétiques plus élevés que celle de (AE). Ce type d'inhibition peut s'expliquer par le fait que l'extrait contient des composés avec des groupements hydroxyles proches de ceux du substrat, déplaçant le substrat du site actif de l'enzyme. Ces inhibiteurs peuvent ainsi occuper le site actif de l' $\alpha$ -amylase.

Selon plusieurs études (**Kim, et al.2000 ; Williams, 2013**), ces substances bioactives pourraient être des flavonoïdes. Parce qu'ils sont les principaux composés poly phénoliques signalés comme ayant une activité inhibitrice contre l' $\alpha$ -amylase, en fonction de la structure, du nombre et de la position des groupes hydroxyle dans la molécule, qui sont des facteurs importants pour l'inhibition enzymatique.

Une autre recherche (**Saltan, et al. 2017**) a été réalisée pour démontrer l'activité inhibitrice de l'enzyme  $\alpha$ -amylase à l'aide d'un extrait du méthanol des feuilles d'*Elaeagnus angustifolia*. Des extraits méthanoliques ont été préparés en utilisant deux méthodes d'extraction différentes [extraction accélérée par solvant (ASE) et appareil Soxhlet]. Les résultats ont montré que l'extrait d'ESA inhibait de manière dose-dépendante l' $\alpha$ -amylase (10-100  $\mu\text{g/ml}$ ) et que l'extrait possédait une activité inhibitrice [ $\alpha$ -amylase (40 %)]. A travers ces résultats, nous pouvons dire que nos extraits possèdent une bonne activité inhibitrice de l' $\alpha$ -amylase par rapport à cette étude. On a obtenu des pourcentages (66,03% ; 65,81%) élevées que l'autre étude (40%), et ça revient aux :

- Méthodes d'extraction.
- Méthodes du test de l'activité inhibitrice.
- Le substrat utilisé (l'amidon).
- Différence de région (en Turquie).

### **3. Activité antibactérienne des extraits des feuilles de la plante *Elaeagnus angustifolia* L :**

L'activité antibactérienne de nos extraits est estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant l'extrait à tester contre les germes pathogènes après 24h d'incubation à une température adéquate de 37 °C. Les valeurs indiquées sont les moyennes des trois mesures de chaque concentration.

## RESULTATS ET DISCUSSION

Le témoin négatif utilisé est le DMSO, qui a servi pour la mise en solution les Extraits, il n'a pas exercé aucune inhibition sur les souches testées.

Concernant les extraits d'acétate d'éthyle et extrait de dichlorométhane d'*Elaeagnus angustifolia L*, des zones d'inhibition sont observées. Les diamètres des zones d'inhibition (mm) obtenus sont représentés dans le tableau suivant :

**Tableau 10** : Diamètres des zones d'inhibition en mm des souches testées.

| Extrait          | Concentration<br>g /L | Souches bactériennes |               |               |
|------------------|-----------------------|----------------------|---------------|---------------|
|                  |                       | E. coli              | S. aureus     | P aeruginosa  |
| DCM              | 130                   | 10,335±0,417         | 13,785±0,233  | 34,195±0,572  |
|                  | 65                    | 8,45±0,056           | 11,215±1,0253 | 21.76         |
|                  | 16.25                 | -                    | 9,97±0,3111   | 13,13±1,598   |
| Acétate d'éthyle | 43.33                 | -                    | 11,65±0,0282  | 43,745±2,0152 |
|                  | 21.66                 | -                    | 10,99±0,791   | 28.76         |
|                  | 10.83                 | -                    | 9,935±0,190   | 26.03         |
| DMSO             |                       | -                    | -             | -             |

### (-): résultat négatif

On remarque que l'extrait d'acétate d'éthyle présente le meilleur résultat sur *P aeruginosa* avec des diamètres de 43.745mm à 43.33g/l, 28.76mm à 21.66g/l et 26.03 mm à 10.83g/l .Donc on peut dire que la souche est extrêmement sensible aux composés phénoliques de cet extrait.

L'extrait de DCM exprime des diamètres de 34,195mm à 130g/l et 21.76mm à 65g/l sur *P aeruginosa* donc cette souche est extrêmement sensible aux composés phénoliques de cet extrait mais elle est moyennement sensible à une concentration de 16.25g/l(diamètre de 13,13mm).

*S. aureus* est moyennement sensible aux extraits de DCM et Acétate d'éthyleavec des diamètres (13.335mm à 130g/l et 11.215mm à 65g/l et 9.97mm à 16.25g/l) et (11.65mm à 130g/l et 10.99mm à 65g/l et 9.935mm à 16.25g/l) respectivement donc les composés phénoliques présentent une activité modérée sur cette souche.

## RESULTATS ET DISCUSSION

On remarque que l'extrait DCM présente une faible activité sur *E coli* à des concentrations de 130g/l et 65g/l avec des diamètres de 10, 335mm et 8,45mm respectivement, mais aucune activité a été observée à une concentration de 16.25g/l

L'extrait d'acétate d'éthyle ne présente aucune activité sur *E coli* pour les trois concentrations 43.33g/l et 21.66g/l et 10.83g/l. Les résultats négatifs sont dus à la résistance de cette bactérie aux extraits de DCM et d'acétate d'éthyle.

Généralement, l'activité antibactérienne varie d'un extrait à l'autre, d'une plante à l'autre et d'une bactérie à l'autre (Yameogo, 2003).

### Comparaison entre les extraits et avec d'autre étude sur la même plante :

Le tableau 11 présente les résultats obtenus d'une étude menée à l'Université de Batna sur l'activité antibactérienne des différents extraits des fruits de l'*Elaeagnus angustifolia* par la même méthode utilisée dans notre travail et les mêmes souches bactériennes testées.

**Tableau 11** : Résultats de l'activité antibactérienne du fruit de l'*Elaeagnus angustifolia*. (Boudjellal, 2009).

| Extraits | <i>E. coli</i> | <i>S. aureus</i> | <i>P aeruginosa</i> |
|----------|----------------|------------------|---------------------|
| Ep       | -              | 13,46±0,8        | 9,32±0,57           |
| DCM      | -              | 15,71±2,42       | -                   |
| Met      | -              | 10,57±0,81       | 11±1,4              |
| Aq       | -              | 7,5±0,7          | 8±0,0               |

**Ep** : extrait éthérique

**Met** : Extrait méthanolique

**DCM** : Extrait dichlorométhanique

**Aq** : Extrait aqueux

En comparant nos résultats avec les résultats précédents, on trouve que nos extraits des feuilles d'*Elaeagnus angustifolia* sont plus active sur *P.aeruginosa* que les extraits des fruits de la même plante, des résultats très proches entre eux sont observés sur les deux autres souches bactériennes.

La différence des résultats est due à la différence des parties étudiées (feuilles et fruits), la différence de la région de culture, du climat, et de la méthode d'extraction.

---

# ***CONCLUSION***

---

## Conclusion :

Les substances naturelles deviennent de plus en plus importantes en thérapie. En fait, les plantes médicinales sont une source fiable des principes actifs connus pour leurs effets thérapeutiques.

Le test d'activité inhibitrice de l'enzyme  $\alpha$ -amylase salivaire a montré que nos extraits phénoliques d'*Elaeagnus angustifolia* ont un effet inhibiteur sur cette enzyme, probablement en raison de l'abondance de puissantes molécules bioactives.

Au terme de cette étude, on peut conclure qu'*Elaeagnus angustifolia* est une plante antidiabétique avec un effet inhibiteur remarquable et intéressant sur l' $\alpha$ -amylase.

Le deuxième objectif assigné à cette étude est d'évaluer l'activité antibactérienne d'*Elaeagnus angustifolia* L, qui représente une source appréciable en composés phénoliques et en agents antibactériens naturels à exploiter afin de traiter les maladies infectieuses et autres pathologies.

L'activité antibactérienne a été déterminée sur trois souches bactériennes selon la méthode de diffusion disque. Les résultats indiquent que les deux extraits (AE, DCM) possèdent une activité remarquable sur *P aeruginosa* et une activité modérée sur *S. aureus* alors que *E. coli* est peu sensible à l'extrait DCM et résistante à l'extrait d'acétate d'éthyle.

On conclue avec les résultats obtenus que l'espèce étudiée (*Elaeagnus angustifolia* L) soit riche en composés phénoliques à pouvoir antibactérien très intéressant.

Il serait souhaitable de continuer des travaux complémentaires sur cette plante tels que :

- Études in vivo sur l'effet inhibiteur de la plante sur l' $\alpha$ -amylase.
- Étudier les effets toxiques de différents extraits sur les tissus.
- Étudier les interactions thérapeutiques avec des autres plantes qui ont un effet sur les maladies causées par l' $\alpha$ -amylase.
- poursuivre cette étude menée in vitro par une expérience in vivo afin de s'assurer de son innocuité totale chez un modèle animal de choix. Par ailleurs, il faudrait envisager une étude sur d'autres propriétés et activités biologiques de ces extraits en utilisant d'autres types d'extractions à savoir la décoction, l'infusion et l'extraction par d'autres solvants organiques sur d'autres souches bactériennes et des espèces fongiques, et à tester plusieurs échantillons de cette espèce de régions aux différentes conditions pédo-climatiques.

---

***REFERENCES***

***BIBLIOGRAPHIQUES***

---

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- Abdeddaim, M. (2018). Etude de la composition biochimique des fruits de cinq espèces végétales présentes dans la région des aurès en vue de leur utilisation alimentaire ou pharmacologique (celtis australis L, crataegus azarolus L, crataegus monogyna J, elaeagnus angustifolia L, et zizyphus lotus L) (Doctoral dissertation).
- Agarwal, P., & Gupta, R. (2016). L'inhibition de l'alpha-amylase peut traiter le diabète sucré. *Res Rev J Med Health Sci*, 5 (4), 1-8.
- Albuquerque, BR, Heleno, SA, Oliveira, MBP, Barros, L. et Ferreira, IC (2021). Composés phénoliques : applications industrielles actuelles, limites et défis futurs. *Alimentation & fonction*, 12 (1), 14-29.
- Albuquerque, BR, Heleno, SA, Oliveira, MBP, Barros, L. et Ferreira, IC (2021). Composés phénoliques : applications industrielles actuelles, limites et défis futurs. *Alimentation & fonction*, 12 (1), 14-29.
- Attia, MS, et Al-Radadi, N.-É. (2016). Progrès de l'enzyme alpha amylase biomarqueur de la pancréatite par un nouveau capteur nano-optique. *Biocapteurs et bioélectronique*, 86, 413-419.
- Avril, J.L. ; Dabernat, H. ; Denis, F. ; Monteil, H. (1992). « Bactériologie Clinique », 2<sup>ème</sup> Ed. Ellipses, Paris, p. 512.
- Avril, J.L. ; Fauchère, J.L. (2002). « Bactériologie générale et médicale », Ed. Ellipses, Paris, p. 368.
- Bashary, R., Vyas, M., Nayak, S. K., Suttee, A., Verma, S., Narang, R., & Khatik, G. L. (2020). An insight of alpha-amylase inhibitors as a valuable tool in the management of type 2 diabetes mellitus. *Current Diabetes Reviews*, 16(2), 117-136.
- Belyagoubi, N., & Benhammou, N. (2011). Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Doctorat Thesis.
- Benarous, K. (2021). COMPOSES PHENOLIQUES ET ALCALOIDES. Algérie.
- Boudjellal, K. (2009). Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de l'Elaeagnus angustifolia L (Doctoral dissertation, Université de Batna 2).

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- Burt, S., Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. [en ligne]. (2004), vol. 94, p.223-253. Disponible sur : <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160504001680>
- CANCELLI, T. (2011). Evaluation de la formation DIAFIT (Doctoral dissertation, Université de Lausanne, Faculté de biologie et médecine).
- Chast, F., & Slama, G. (2007). Apollinaire Bouchardat et le diabète. *Hist. Sci. Med*, 41, 287-301.
- Dardari, D. (2021). Impact de la normalisation rapide de l'hyperglycémie chronique dans la physiopathologie de la neuroarthropathie de Charcot chez les patients vivant avec un diabète (Doctoral dissertation, Université Paris-Saclay).
- En ligne Bontpart, T. (2015). Vers l'identification des mécanismes moléculaires impliqués dans la galloylation des proanthocyanidines chez la vigne (Thèse de doctorat, Montpellier SupAgro).
- En ligne Duarte Sierra, A. (2015). Hormèse de stress abiotique : stress hormétiques pour maintenir la qualité et améliorer les glucosinolates et les composés phénoliques du brocoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) pendant le stockage. Université Laval, Québec, Canada. Disponible sur : [www.theses.ulaval.ca/2015/32086/32086.pdf](http://www.theses.ulaval.ca/2015/32086/32086.pdf).
- En ligne Williamson, G. (2013). Effets possibles des polyphénols alimentaires sur l'absorption et la digestion des sucres. *Nutrition moléculaire et recherche alimentaire*, 57 (1), 48-57.
- Farzaei, MH, Bahramsoltani, R., Abbasabadi, Z., & Rahimi, R. (2015). Un examen complet des aspects phytochimiques et pharmacologiques d'*Elaeagnus angustifolia* L. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 67 (11), 1467-1480. (Farzaei et al.,2015)
- Fiorucci, S. (2006). Activités biologiques de composés de la famille de flavonoïdes : approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire. Université de Nice, 211.
- Gariani, K., & Hagon-Traub, I. (2009). Diabète de type ou autre ? *Rev Med Suisse*, 5, 1248-53.
- Guérin-Dubourg, A. (2014). Étude des modifications structurales et fonctionnelles de l'albumine dans le diabète de type 2 : identification de biomarqueurs de glycoxydation

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- etde facteurs de risque de complications vasculaires (Doctoral dissertation, Université de la Réunion).
- Iqbal, J., Abbasi, BA, Yaseen, T., Zahra, SA, Shahbaz, A., Shah, SA, ... & Ahmad, P. (2021). Synthèse verte de nanoparticules d'oxyde de zinc à partir d'extraits de feuilles d'*Elaeagnus angustifolia* L. et leurs multiples applications biologiques in vitro. *Rapports scientifiques*, 11 (1), 20988.
  - Kanh, K. H. M. (2020). Caractérisation des systèmes d'élevage et des populations de bovins ndama des régions de Kolda et de Ziguinchor (Sénégal) (Doctoral dissertation, Thèse de Doctorat Génétique et Amélioration animale. Université Felix Houphouët-Boigny, Abidjan)..
  - Kassah-Laouar, A. (2020). Les antibiotiques De la définition princeps au toto résistance. *Revue Aurassienne du Laboratoire*, 136 p. Khalid, S. A., & Waterman, P. G. (1981). Al
  - Khiati, M. (1998). Guide des maladies infectieuses et parasitaires. OPU, Alger, 28
  - Kim, JS, Kwon, CS et Son, KH (2000). Inhibition de l'alpha-glucosidase et de l'amylase par la lutéoline, un flavonoïde. *Bioscience, biotechnologie et biochimie*, 64 (11), 2458-2461.
  - Labbani, P. (2022). Les composés phénoliques.
  - Lattanzio, V. (2013). Phenolic compound: introduction 50. *Nat. Prod*, 1543-1580.
  - Le Jury, D. (2016). Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes Sahariennes (Doctoral dissertation, Université de Laghouat).
  - Macheix, J. J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR presses polytechniques.
  - Manou I., Bouillard L., Devleeschouwer M-J. And Barel A-O. Evaluation of the preservative properties of *Thymus vulgaris* essential oil in topically applied formulations under a challenge test. [en ligne]. (1998), vol. 84, n°3 p. 368-376. Disponible sur : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9721641>
  - Marchal, V. (2003). DCEM1Service bactériologie faculté de médecine Pierre et Marie Curie, .pp.35-71.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

MOHAMMED V DE RABAT FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE, 124 p

- Mondiale de la Santé, O. (2016). Rapport mondial sur le diabète.
- Nicolle, C. (2013). Destin des maladies infectieuses. Presses Électroniques de Fran
- Ozcan, T., Akpinar-Bayazit, A., Yilmaz-Ersan, L. ET Delikanli, B. (2014). Phénoliques en santé humaine. Revue internationale de génie chimique et applications, 5 (5), 393.
- Panteghini, M., Ceriotti, F., Pagani, F., Secchiero, S., Zaninotto, M., & Franzini, C. (2002). Recommandations pour l'utilisation en routine de la mesure de l'amylase pancréatique au lieu de l'amylase totale pour le diagnostic et le suivi de la pathologie pancréatique.
- Pebret, F. (2003). Maladies infectieuses : toutes les pathologies des programmes officiels des études médicales ou paramédicales. Heures de France.
- Pinto, GP, Bras, NF, Perez, MA, Fernandes, PA, Russo, N., Ramos, MJ et Toscano, M. (2015). Établir le mécanisme catalytique de l' $\alpha$ -amylase pancréatique humaine avec les méthodes QM/MM. *Journal de théorie chimique et calcul*, 11 (6), 2508-2516.
- Ponce, A. G., FRITZ, R., DELVALLE, C. & Roura, S. I. (2003). Antimicrobiol Activity of Essential Oils on the Native Microflora of Organic Swiss Chard.
- Punthakee, Z., Goldenberg, R. ET Katz, P. (2018). Définition, classification et diagnostic du diabète, du prédiabète et du syndrome métabolique. *Journal canadien du diabète*, 42, S10-S15.
- Saltan, FZ, Okutucu, B., Canbay, HS et Özel, D. (2017). Effets inhibiteurs in vitro des enzymes alpha-glucosidase et alpha-amylase dans les extraits de feuilles d'Elaeagnus angustifolia.
- Saltan, FZ, Okutucu, B., Canbay, HS et Özel, D. (2017). Effets inhibiteurs in vitro des enzymes alpha-glucosidase et alpha-amylase dans les extraits de feuilles d'Elaeagnus angustifolia.
- Tsai, PJ, Wu, SC et Cheng, YK (2008). Rôle des polyphénols dans la capacité antioxydante du napiergrass de différentes saisons de croissance. *Chimie alimentaire*, 106 (1), 27-32.
- Wolfgang, M. C., Kulasekara, B. R., Liang, X., Boyd, D., Wu, K., Yang, Q., ... & Lory, S. (2003). Conservation of genome content and virulence determinants among clinical and

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

environmental isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 100(14), 8484-8489.

- 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.
- Yameogo N. (2003). Etude de la contribution de l'aviculture traditionnelle urbaine et périurbaine dans la lutte contre les pathologies aviaires au Burkina Faso, CRDI. Université de Ouagadougou.
- Zaika, L.L. (1988). Spices and Herbs: their antimicrobial activity and its determination. *Journal of Food Safety*, 9: 97-117
- Zaouia, Y. (2020). Diagnostic biologique des infections bactériennes. UNIVERSITE

---




# ***ANNEXES***

---

## ANNEXES

---

### 1. Souches bactériennes testées :

|  |
|--|
| <b>Bactérie Gram positif</b>   |
| ✓ <b>Staphylococcus aureus</b>   |
|    |
| <b>Bactérie Gram négatif</b>   |
| ✓ <b>Pseudomonas aeruginosa</b>  |
|   |
| ✓ <b>Escherichia coli</b>  |
|  |

## ANNEXES

---

### 2. Photos illustrant la préparation des milieux de culture :



### 3. Préparation d'inoculum



## ANNEXES

---

### 4. Ensemencement et dépôt des disques :



### 5. Zones d'inhibition des extraits dichlorométhane sur *S aureus* *P aeruginosa* *E. coli*.



### 6. Zones d'inhibition des extraits d'acétate d'éthyle sur *S aureus* *P aeruginosa* *E. coli*.

