

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département de Biochimie-Microbiologie



Mémoire de fin d'études
En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques
Option : Microbiologie Appliquée

Thème

Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits phénoliques de la plante *Helminthotheca echioides*

Présenté par :

M^{elle} Assas Kahina

M^{elle} Becha Sarah

Soutenu le: 22 / 07 /2019

Devant le jury composé de :

Mr BOUACEM K.	MCB	UMMTO	Président du jury
Mme ASMANI K.	MCB	UMMTO	Promotrice
Mme DERMECHE S.	MAA	UMMTO	Co-promotrice
Mme GUECHTOULI S.	MAA	UMMTO	Examinatrice

Année universitaire : 2018/2019

REMERCIEMENTS

Avant tout, on tient à exprimer nos remerciements les plus sincères d'abord au « Bon Dieu » le tout puissant de nous avoir donné la patience et la volonté pour réaliser ce travail.

On tient à remercier très sincèrement Mme ASMANI K. notre promotrice d'avoir accepté de nous encadrer nous la remercions également pour sa disponibilité, sa patience et pour son degré d'implication dans ce travail.

On tient aussi à remercier Mme DERMECHE S. pour sa contribution, et ses précieux conseils tout au long de notre travail expérimental.

Nous remercions Mr BOUACEM K. pour ses précieux conseils et d'avoir accepté de présider le Jury chargé d'évaluer ce travail.

Nous tenons également à exprimer nos remerciement à Mme GUECHTOULI S. d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Nos remerciements s'adressent aussi à Mme BENACEUR, de l'Université des Sciences et de la Technologie Houari-Boumédiène de Bab Ezzouar, pour nous avoir fourni les souches fongiques.

Un grand merci à toutes personnes ayant participé de près ou de loin à notre formation et à tous ceux qui nous ont apporté leurs soutiens et leurs encouragements durant la réalisation de ce travail.

Dédicace

*C'est avec un grand honneur
Je dédie ce travail à mes parents qui
Ont sacrifiés pour mon instruction et mon bien être
Et qui ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui
Que dieux les protège et leur accords une longue vie pleine
De santé et de bonheur
Je dédie aussi cette réalisation:
A ma sœur Sarah et à mon frère unique Abdelhak
A ma cousine Nadia
A mon chère binôme Sarah ainsi que toute sa famille
A toute ma grande famille et mes amies pour leur présence et leur
soutient*

KAHINA

Dédicace

*C'est avec un très grand honneur
Je dédie ce travail à ma mère et à mon père qui
Ont sacrifié pour que je grandisse avec un savoir faire
Et qui ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui
Que dieux les protège et leur accords une longue vie pleine
De santé et de bonheur
Je dédie aussi cette réalisation:
A mes sœurs Celia et Nadine et à mon frère unique Arezki
A mon fiancé youyou et à ma belle-sœur Nassima
A ma chère belle mère
Et a toute la famille et mes amis
Ainsi que ma chère amie Kahina*

SARAH

Liste des abréviations

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

ATB: Antibiotique.

BHT: Butyl Hydroxy Toluène.

BHIB: Bouillon cœur-cervelle.

BHA: Butyl Hydroxy Anisole.

DO: Densité optique.

DPPH: 2-diphényl-1-picrylhydrazyl.

EAG/g MS: Equivalent acide gallique par gramme de la matière sèche.

ERN: Espèces réactives de l'azote peroxy-nitrite.

ERO: Espèces réactives de l'oxygène.

FRAP: Pouvoir réducteur du fer

GN: Gélose nutritive.

IC50: Concentration inhibitrice de 50 % d'une activité.

LDL: Lipoprotéines de basse densité.

MDA: Malondialdéhyde.

MH: Muller Hinton.

O₂^{•-}: Anion superoxyde.

OH[•]: Radical hydroxyl.

ONOO[•]: Peroxy-nitrite.

PDA: Pomme dextrose agar.

PR : Pouvoir réducteur.

R: Coefficient de corrélation linéaire.

Rdt %: Rendement.

ROO[•]: Radical peroxyde.

SOD: Superoxyde dismutase.

TCA: acide trichloracétique.

TCP: Teneur en composés phénoliques.

UFC: Unités Formant Colonies.

Liste des Figures

Figure 01: Types de fleurs des Astéracées.....	4
Figure 02: Aspect morphologique d' <i>H.echioides L.</i>	6
Figure 03: Ensemble des caractères écologiques de la Picride, fausse vipérine.	7
Figure 04: Structure de base des acides benzoïque et cinnamique.	11
Figure 05: Structure chimique d'anthocyane.	14
Figure 06: Un exemple de stilbènes: le resvératrol.	15
Figure 07: Structure chimique des lignines.	16
Figure 08: Structure chimique des tanins condensés.	17
Figure 09: Structure chimiques de l'acide gallique.	18
Figure 10: Structure d'une molécule de coumarine.	18
Figure 11: Exemple d'alcaloïde: la caféine.	19
Figure 12: Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques	22
Figure 13: Diagramme résumant le travail expérimental effectué.....	25
Figure14: Carte géographique de la région de récolte	28
Figure 15: Diagramme représentant le procédé de séchage à l'air libre des feuilles d' <i>Helminthotheca. Echioides.</i>	29
Figure 16: Protocole d'extraction des polyphénols.....	31
Figure 17: Diagramme représentant le protocole de dosage des polyphénols.	34
Figure 18: Protocole de l'activité antioxydante du radical ABTS ⁺	35
Figure 19 : Structure chimique du radical DPPH [•] et de sa forme réduite.....	36
Figure 20: Protocole du pouvoir réducteur sur le ferrocyanure de potassium (FRAP).....	38
Figure 21: Diagramme représentant la Teneur En Polyphénols Totaux des quatre extraits.	42
Figure 22 : Diagramme représentant les IC 50 des différents extraits.....	44
Figure 23: Diagramme représentant les IC 50 des différents extraits.	46
Figure 24: Diagramme représentant PR _{0.5} en fonction des différents extraits.	47
Figure 25: Corrélation entre le pouvoir antiradicalaire ABTS et le pouvoir réducteur.	48
Figure 26: Corrélation entre le pouvoir antiradicalaire ABTS et DPPH.	49
Figure 27: Corrélation entre le pouvoir antiradicalaire DPPH et le pouvoir réducteur.	49

Liste des Tableaux

Tableau I: Principales familles de flavonoïdes	13
Tableau II: Principales maladies liées au stress oxydant.....	23
Tableau III: Appareillage utilisé lors du travail expérimental.....	26
Tableau IV: Produits chimiques, réactifs, solvants organiques, sels et milieux de culture utilisés.....	27
Tableau V: Souches microbiennes et souches fongiques utilisées.....	30
Tableau VI: Pourcentages d'extraction des extraits des feuilles d' <i>H. echioïdes</i>	41
Tableau VII: Résultats du dosage des polyphénols des quatre extraits de la partie aérienne d' <i>Helminthotheca echioïdes</i>	42
Tableau VIII: Valeurs des IC ₅₀ calculés à partir des courbes d'étalonnage.....	44
Tableau IX: Valeurs des IC ₅₀ calculés à partir des courbes d'étalonnage.....	46
Tableau X: Valeurs des PR _{0,5} des différents extraits calculés à partir des courbes d'étalonnage.....	47

Table des matières

Remerciements	
Dédicaces	
Liste des abréviations	
Listes des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	1

Partie I : Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralités sur les Astéracées et présentation de la plante

Helminthotheca echioides

1. Famille des Astéracées	3
1.1 Etymologie et caractéristiques.....	3
1.2 Classification Systématique	3
1.3 Caractères écologiques	3
1.4 Description botanique.....	4
1.5 Utilisations et intérêts économiques des Astéracées	5
2. Description de la plante : <i>Helminthotheca echioides</i>	5
2.1 Classification systématique	5
2.2 Description botanique	6
2.3 Distribution géographique et caractère écologique	7
2.4 Propriétés biologiques et utilisation traditionnelle	8

Chapitre II : Les métabolites secondaires

1. Métabolites	9
1.1 Métabolites primaires.....	9
1.2 Métabolites secondaires	9
1.2.1 Polyphénols	10
1.2.1.1 Classification des polyphénols	10
1.2.2 Alcaloïdes	18
1.2.3 Terpénoïdes	19

Chapitre III

1. Stress oxydant	20
1.1 Mécanisme d'oxydation	20
1.2 Radicaux libres	20
1.3 Effets et conséquences biochimiques du stress oxydant	21
1.4 Implications pathologiques des espèces réactives	23
1.5 Moyens de protection : Les antioxydants	24

Partie II : Matériel et Méthodes

1. Matériel	26
2. Méthodes	30
2.1 Extraction des polyphénols	30
2.2 Dosage des composés phénoliques totaux	32
2.3 Evaluation de l'activité antioxydante	34
2.3.1 Test ABTS (acide 2, 2'-azino-bis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonique).....	34
2.3.2 Test DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl).....	36
2.3.3 Test du pouvoir réducteur sur le ferrocyanure de potassium (FRAP).....	37
2.4 Évaluation de l'activité antimicrobienne	38

Partie III : Résultats et discussion

1. Rendement des extraits	41
2. Dosage de polyphénols totaux	41
3. Activité anti oxydante	43
3.1 Test DPPH.....	44
3.2 Test ABTS.....	45
3.3 Pouvoir réducteur (FRAP)	47
4. Etude statistique	48
5. Activité antimicrobienne.....	50

Conclusion et perspectives

Références bibliographiques

Annexes



INTRODUCTION

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses ressources trouvées dans son environnement afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies (Athamena, 2009). En effet, toutes les cultures et les civilisations, de l'Antiquité à nos jours, dépendent entièrement ou partiellement de la phytothérapie en raison de son efficacité, de la disponibilité des plantes et de leur faible toxicité (Akharaiyi et Boboye, 2010). Selon l'organisation mondiale de la santé, dans certains pays en voie de développement d'Asie, d'Afrique et d'Amérique latine, 80% de la population dépend de la médecine traditionnelle surtout en milieu rural (OMS, 2008). Cette situation peut s'expliquer par la pauvreté des populations, leurs habitudes socioculturelles, l'enclavement des zones rurales, l'absence des infrastructures sanitaires, le coût élevé des préparations pharmaceutiques et les faibles revenus (Dibong et al., 2011).

Plusieurs plantes peuvent guérir de nombreux maux quotidiens qui vont des simples troubles digestifs jusqu'au traitement des maladies chroniques comme le cancer, l'ulcère, le diabète et les calculs rénaux (Anonyme, 2001 ; Beloued, 2001 ; Diallo et al., 2004 ; Passalacqua et al., 2006 ; Dellil, 2007 ; Squali et al., 2007 ; Rammal et al., 2009). Une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires classiques (glucides, protides, lipides, acides nucléiques), ils accumulent fréquemment des métabolites dits secondaires qui représentent une source importante de molécules utilisables par l'Homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire (Jeun et al., 2005).

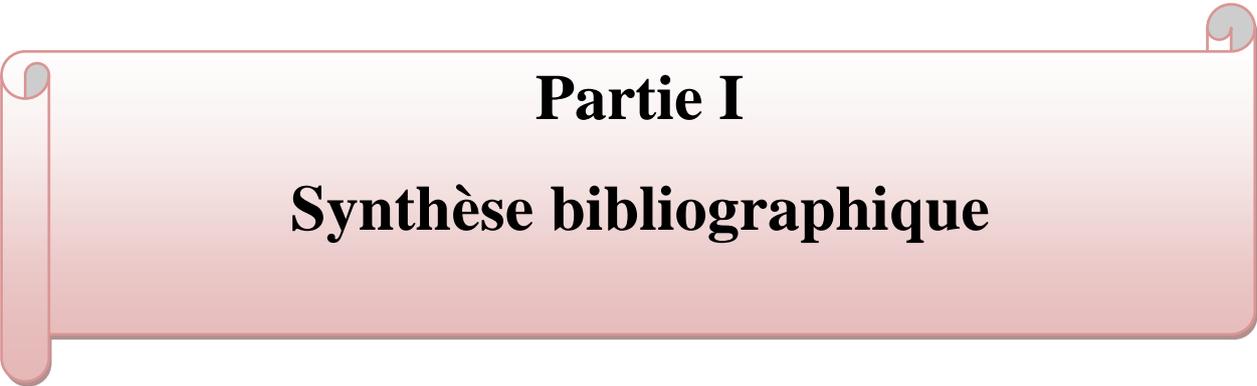
De nos jours, nous sommes de plus en plus confrontés à la résurgence de nouvelles maladies telles que les maladies liées au stress oxydant et à l'émergence de bactéries multi-résistantes. En effet, le stress oxydant est le facteur potentialisant l'apparition des maladies plurifactorielles telles que le diabète, la maladie d'alzheimer, les rhumatismes, les maladies cardiovasculaires et les cancers (Henriksen et al., 2011; Sosa et al., 2013; Schumacker, 2015; Huang et al., 2016; Wojsiat et al., 2018). En outre, l'utilisation mal adaptée et la surconsommation des antibiotiques qui exercent de fortes pressions de sélection sur les populations microbiennes, que ce soit en santé humaine, animale ou en agriculture, ont favorisé l'émergence de bactéries qui ont développé des résistances à parfois quasiment tous les antibiotiques (Da Re et Ploy, 2012). Face à ces problèmes, beaucoup d'études ont été réalisées pour développer des molécules alternatives efficaces contre ces maladies (Elisabetsky et Gly, 1987 ; Diallo et al., 2004 ; Somboro et al., 2013 ; Bouyahya et al., 2017). En effet, les plantes médicinales et aromatiques constituent une source inestimable de molécules bioactives ; les médicaments formulés à *base de plantes* étant considérés comme

peu toxiques et doux par rapport aux médicaments pharmaceutiques (Dibong et al., 2011). Les plantes médicinales sont importantes pour la recherche pharmacologique et à l'élaboration des médicaments ; environ 170 000 molécules bioactives ont été identifiées à partir des plantes (Chaabi, 2008).

Le recours à la médecine à base de plantes est profondément ancré dans notre culture, car l'Algérie est réputée par la richesse de sa flore médicinale qui comprend des centaines d'espèces végétales. De plus, notre pays possède dans ce domaine un savoir-faire de longue date, hérité par nos ancêtres. En Kabylie, des connaissances traditionnelles relatives aux plantes et à leurs propriétés sont encore assez répandues ; certaines espèces sont reconnues par la population comme étant bénéfiques pour la santé ou au contraire toxiques (Ait Youcef, 2006).

L'objectif de ce travail a été d'évaluer l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits éthanoliques, méthanoliques et à l'acétate d'éthyle, de la partie aérienne de la plante *Helminthotheca echioides* L. (Nom commun: picride fausse-vipérine). Cette espèce, appartient à la famille des Astéracées, une plante très répandue dans la région de Kabylie. Les feuilles et les tiges sont consommées après cuisson dans la région méditerranéenne (Boari et al., 2013) et crues dans la région de Kabylie. Cette plante est également utilisée dans cette région comme cicatrisants des plaies et comme remèdes contre les ulcères d'estomac et les reflux gastro-œsophagiens, ainsi que pour nourrir le bétail notamment en période de lactation.

Ce travail est scindé en deux parties. La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique qui regroupe des généralités sur les Astéracées, sur la plante étudiée (*Helminthotheca echioides*), sur les métabolites secondaires des plantes et le stress oxydant. La seconde partie est expérimental ; elle consiste en un premier chapitre qui présente la méthodologie utilisée pour l'évaluation des activités antioxydantes et antimicrobiennes de la plante étudiée, et un second chapitre qui présente et discute l'ensemble des résultats obtenus au cours de cette étude pour en dégager des conclusions et des perspectives.



Partie I

Synthèse bibliographique

Chapitre I

**Généralités sur les Astéracées et présentation
de la plante *Helminthotheca echioides***

1. Famille des Astéracées

1.1 Etymologie et caractéristiques

Le nom « *Astéracées* » désigne en latin et en grec diverses plantes dont les fleurs sont en forme d'étoile (Harkati, 2011 et Mezache, 2010). Les Astéracées (*Asteraceae*) sont une grande famille de plantes dicotylédones, appelées aussi Composées (*Compositae*) ou plus rarement des Composacées. En effet, ce que l'on prend à première vue pour des « fleurs » chez ces plantes est en réalité composé de fleurs minuscules, réunies en inflorescences appelées capitules (Bermer et al., 1994).

La famille des Astéracées est une importante famille qui comprend près de 23000 espèces (Barreda et al., 2015) réparties en 1500 genres dont 750 sont endémiques (Harkati et al., 2011). Bien que tous les types biologiques se retrouvent chez les composées : arbres, lianes, arbustes, plantes succulentes, épiphytes, plantes aquatiques etc., la plupart des espèces sont surtout des plantes herbacées vivaces ou annuelles (Bremer et al., 1994).

1.2 Classification Systématique

- Règne : Plantae
- Sous-règne : Tracheobionta (Plantes vasculaires)
- Embranchement : Phanerogamae (Phanérogames)
- Sous-embranchement : Magnoliophytina (Angiospermes)
- Classe : Magnoliopsida (Dicotylédones)
- Sous-classe : Asteridae
- Ordre : Asterales
- Famille: *Asteraceae* (*Compositae*)

1.3 Caractères écologiques

Les plantes de la famille des Astéracées sont généralement présentes dans les régions tropicales, subtropicales et semi-arides, à la toundra alpine et arctique et aux régions tempérées. Elle est très cosmopolite et elle s'adapte à tous les écosystèmes ; elle se retrouve à travers le monde entier à l'exception de l'antarctique.

L'habitat naturel de cette famille sont les pelouses rocailleuses, les vires rocheuses et plus rarement les prairies de fauche. Elle est inégalement répartie et elle préfère les massifs calcaires de haute altitude (Bermer., 1994).

1.4 Description botanique

Les Astéracées ont la caractéristique commune d'avoir des fleurs réunies en capitules c'est-à-dire serrées les unes à côté des autres, sans pédoncules placées sur l'extrémité d'un rameau ou d'une tige ou entourées d'une structure formée par des bractées florales. Cette structure en forme de coupe ou de collerette est appelé un involucre. La fleur des Astéracées est très particulière, les étamines sont soudées par leurs anthères déhiscentes vers l'intérieur. Sous les stigmates sont situées des "brosses à pollen". Ceci est adapté à un mode de pollinisation à piston. La croissance rapide du stylet permet un brossage du pollen et sa récupération. Une fois que le stigmate a traversé le tube formé par les anthères, les stigmates se déplient et exposent leur face gluante au pollen. Il faut considérer qu'à ce moment-là, du nectar est sécrété.

L'inflorescence est ordinairement un compact de fleurs sessiles tubulées et/ou ligulées sous-tendus par un involucre de bractées disposées sur un ou plusieurs rangs (Figure 01). Les bractées peuvent être herbacées, scarieuses ou épineuses. Sur le réceptacle, les bractéoles, si elles sont présentes, peuvent prendre la forme d'écailles, de soies ou de paillettes. Le capitule est entouré à la base généralement par 1 à 6 séries de bractées dont l'ensemble forme l'involucre.

Les fruits sont des achaines et contenant chacun une seule graine. L'ornementation joue un rôle important dans la reconnaissance des genres et espèces. Les caractères du fruit sont généralement identiques pour les diverses espèces du même genre (Bernard, 1988).

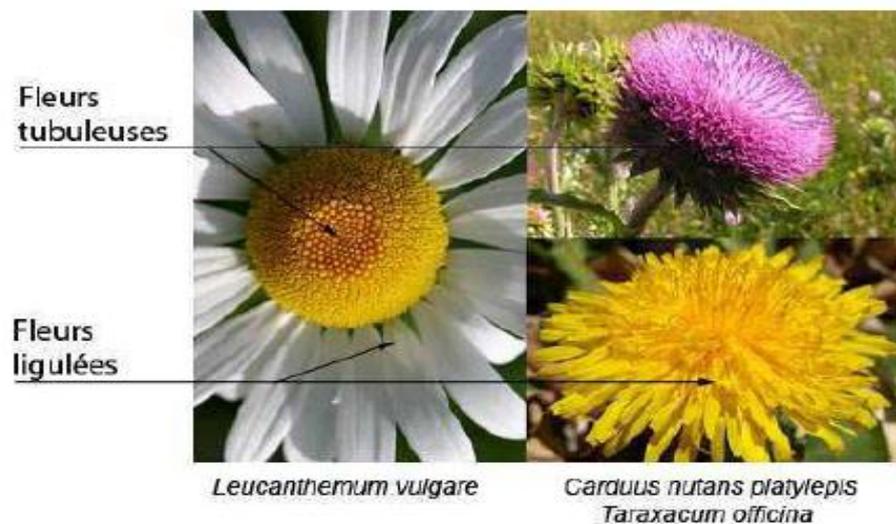


Figure 01: Types de fleurs des Astéracées (Boutaghane, 2013)

1.5 Utilisations et intérêts économiques des Astéracées

La famille des Astéracées est anciennement connue pour ses propriétés médicinales et pharmacologiques. Les plantes de cette famille sont utilisées comme remède en médecine traditionnelle. De nombreuses espèces figurent également dans les pharmacopées ; elles sont utilisées pour leur activités antimicrobiennes (Lacaille-Dubois et al., 2000), antifongiques (Kaipnazarov et al., 2004), antiinflammatoires (Hostettmann et al., 1995 ; Dey et al., 1991), anti-ulcéreuses (Manitto, 1981), antibiotiques (Voutquenne, 1997), antivirales (Voutquenne et al., 1998) et antitumorales (Voutquenne et al., 2002). La famille des Astéracées est d'ailleurs réputée pour sa grande richesse en composés naturels ; elle est source de polyphénols, de flavonoïdes, de coumarines, de terpènes, d'alcaloïdes, de lactones, de tanins et d'huiles essentielles, qui possèdent souvent des activités biologiques intéressantes.

Cette vaste famille est économiquement importante, elle fournit des plantes alimentaires telles que la laitue qui est la plante la plus cultivée de la famille, suivie de l'artichaut, de l'endive, du salsifis, de la chicorée, de l'estragon et du tournesol. Plusieurs espèces sont utilisées en pharmacologie comme l'Arnica (*Arnica montana* L.), la camomille (*Matricaria chamomilla* L et *Anthemis nobilis* L.), le pied de chat (*Antenaria djioca*), le tussilage (*Tussilago farfara* L.). Certains comme le genre *Pyrethrum* fournissent un insecticide, d'autres comme *Artemisia* sont utilisés comme plantes médicinales et dans la fabrication de liqueurs comme l'absinthe ou le génépi (Gaussen, 1982).

2. Description de la plante :*Helminthotheca echioides*

2.1 Classification systématique

Helminthotheca echioides, appelée communément, Picride fausse vipérine, est une espèce de plante herbacée de la famille des Astéracées. Elle est classée selon (Holub, 1973) comme suit :

- Domaine : eukaryota
- Royaume : plantae
- Embranchement : spermatophyta
- Sous embranchement : Aangiospermae
- Classe :dicotyledonae
- Ordre : Asterales
- Famille : *Asteraceae*
- Genre : *Picris*
- Espèces : *Helminthotheca echioides*

2.2 Description botanique

Helminthotheca echioides appelée également "Picris echioides", est une plante herbacée annuelle ou bisannuelle, pouvant atteindre 130 cm de hauteur, avec une tige épaisse et sillonnée et des branches étalées. Les branches et la tige sont toutes couvertes d'épais poils durs. Les feuilles mesurent 3,5 à 35 cm de long et 1 à 10 cm de large et présentent des marges ondulées ou dentées. Les feuilles de la tige supérieure sont ovales à lancéolées. Toutes les feuilles sont couvertes de poils durs (Figure 02a).

Les inflorescences ont une largeur de 2 à 3,5 cm et sont sous-tendues par 3 à 5 grandes bractées internes étroites ou externes écartés du capitule et larges (Figure 02b). Elle a une racine pivotante mais parfois aussi un système racinaire ramifié ; elle fleurit de Mai à Novembre généralement (Holzapfel, 1994). Elle a des fleurs jaunes et des akènes jaunes rougeâtres, légèrement ridés transversalement terminés par un poil aussi long que l'akène (Figure 02c) (Tela Botanica, 2006).

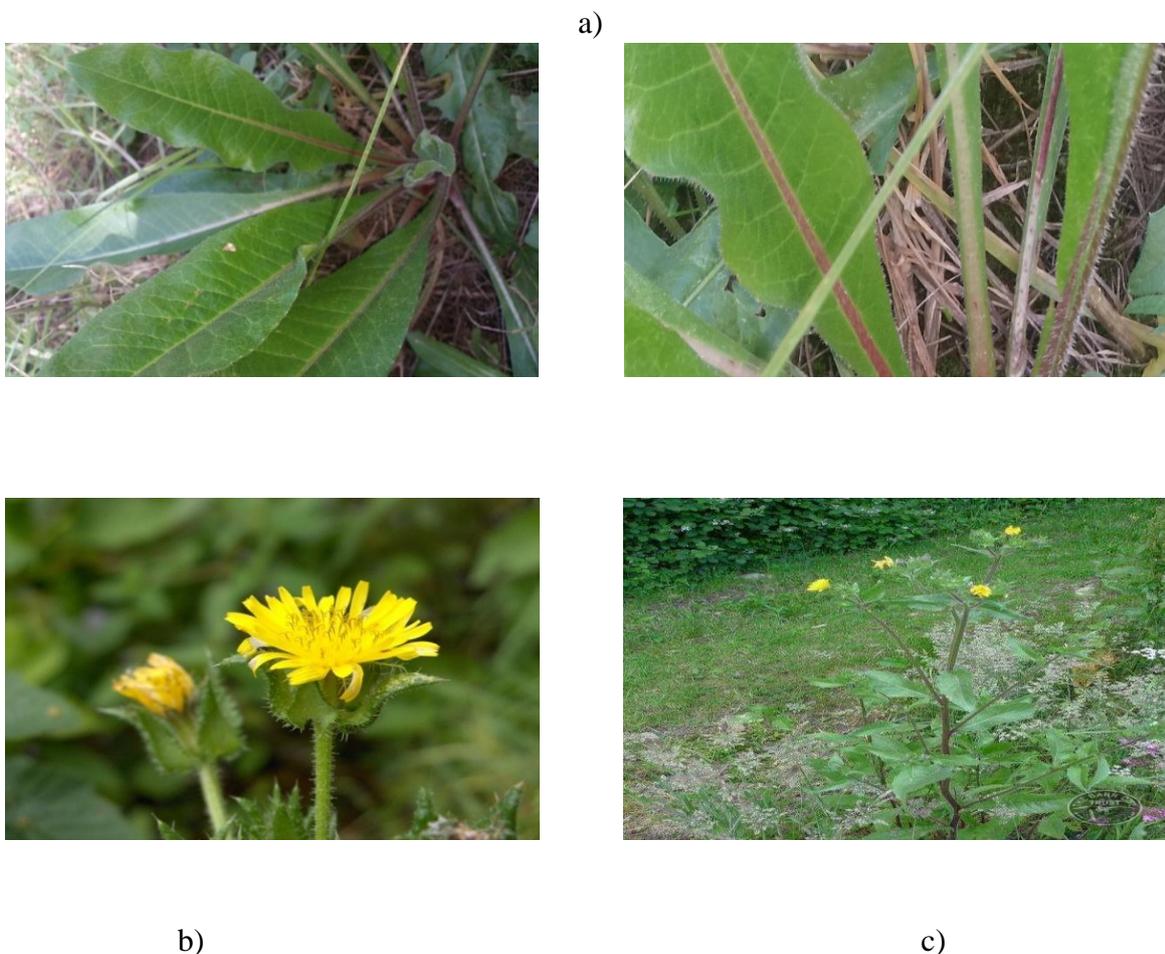


Figure 02: Aspect morphologique d'*Helminthotheca echioides* L :

a) Feuilles ; b) Fleurs ; c) Plante

2.3 Distribution géographique et caractère écologique

Il y a quelques divergences dans le placement de la distribution originale de *H. echioides* avec certaines sources. Certaines suggèrent qu'elle était originaire de la seule région méditerranéenne occidentale, d'autres élargissent son aire de répartition naturelle à des pays aussi éloignés que la Russie et l'Ukraine en Europe et en Asie centrale (Greuter, 2006 ; Usda-Ars, 2016). *H. echioides* est considérée comme introduite, établie en Australie, en Afrique du Sud, au Canada, aux Etats-Unis, en Argentine, au Chili et dans d'autres pays européens (Holzapfel, 1994 ; Grace, 2006 ; Sirbu et Oprea, 2013 ; Daisie, 2015 ; Usda-ars, 2016).

Helminthotheca echioides est souvent associée à des habitats agricoles. On la retrouve dans les champs et les jardins. Elle fréquente les milieux habités par l'homme, les vergers et les bords de routes ; autant d'endroit où elle trouvera une terre riche, bien exposée, tassée par le passage des pieds. *H. echioides* peut pousser dans une grande variété de types de sols mais elle préfère les sols secs plutôt riches en azote et calcaire. Elle est capable de survivre à des climats secs et semble pousser à partir de pousses basales après des périodes sèches. Elle ne pousse pas bien à l'ombre (Vibrans, 2015). *H. echioides* survit bien dans des conditions difficiles, telles que la sécheresse. Il a été rapporté que cette espèce pouvait pousser sur un sol argileux, à pH basique et riche en nutriments (Figure 03) (Holzapfel, 1993).

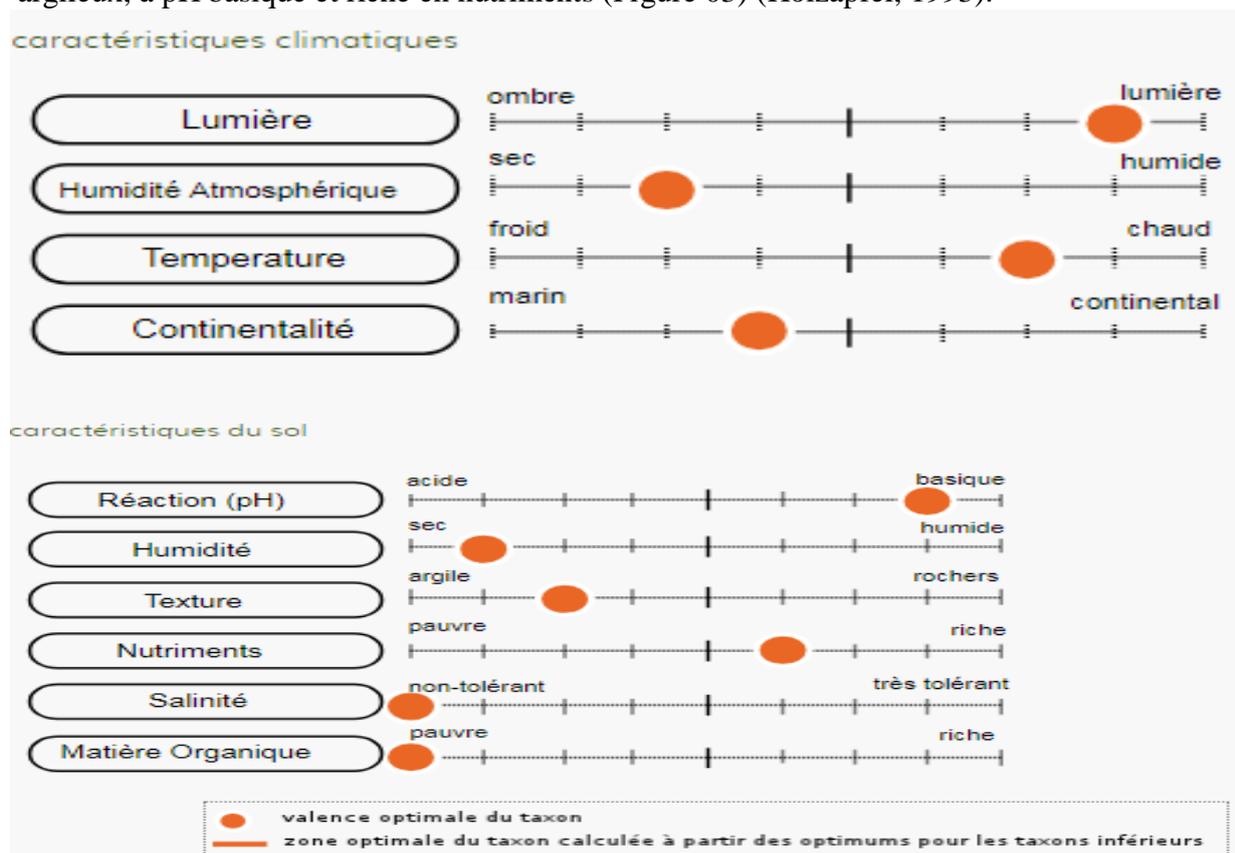
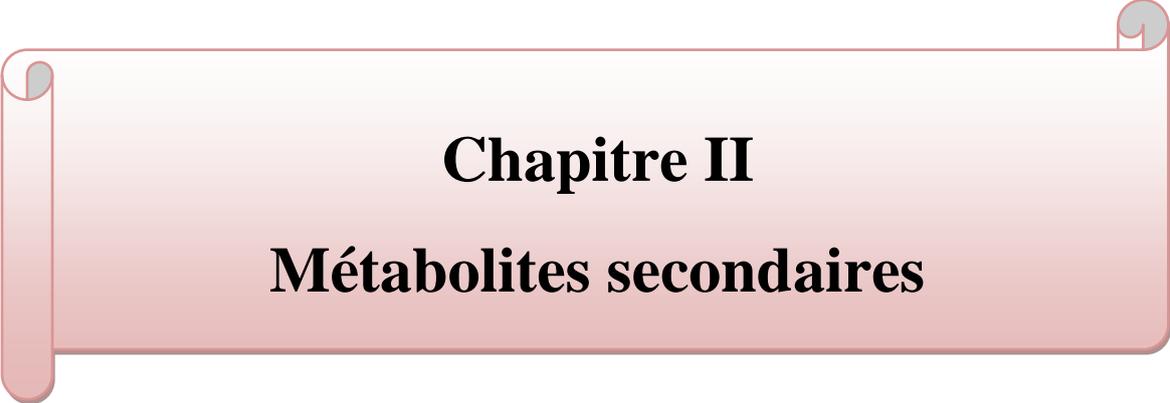


Figure 03: Ensemble des caractères écologiques de la Picride, fausse vipérine (Holzapfel, 1993).

2.4 Propriétés biologiques et utilisation traditionnelle

Beaucoup de propriétés médicinales ont été attribuées à cette plante, telles que l'activité antimicrobienne et antioxydante ainsi que la cicatrisation. De plus, comme la plante contient des tannins, elle a la propriété de resserrer les tissus, les capillaires, et les orifices, et elle tend à diminuer les sécrétions des glandes et des muqueuses. On l'utilise dans le traitement des diarrhées, des hémorragies, des angines etc. Elle présente également des propriétés dépuratives ; elle purifie le sang et débarrasse l'organisme des principes toxiques nuisibles à la santé en les éliminant par la peau (sudorifiques), les reins (diurétiques) ou l'intestin (purgatifs ou laxatifs) (Leclerc, 1962).

En médecine traditionnelle, cette plante est surtout utilisée pour ses propriétés vulnérables ; en applications externes, elle contribue à la guérison des plaies, des blessures et des contusions. Dans la région de Kabylie, *H. echioides*, appelée Hlafa, est très répandue. Elle est considérée par la population locale comme un excellent cicatrisant des plaies et comme remède contre les ulcères d'estomac et les reflux gastro-œsophagiens. En outre, il a été également rapporté que, dans cette même région, cette plante était consommée crue et servait de nourriture aux bétails, particulièrement durant les périodes de lactation, en raison de sa grande valeur nutritive. En méditerranée, les jeunes feuilles au centre de la rosette ainsi que les tiges, se mangent crues dans des salades composées, bouillies en soupe ou revenues à la poêle. En Corse, les feuilles de cette plante sont utilisées dans la préparation des tartes salées (Boari et al., 2013).



Chapitre II

Métabolites secondaires

1. Métabolites

Les métabolites sont les produits intermédiaires du métabolisme. Le terme métabolite est généralement, par définition, limité à de petites molécules, ayant diverses fonctions, y compris l'énergie, la structure, la signalisation, la stimulation ou l'inhibition des enzymes. Il existe deux grandes classes de métabolites (Hartmann, 2007).

1.1 Métabolites primaires

Les métabolites primaires sont des molécules organiques qui se trouvent dans toutes les cellules de l'organisme d'une plante pour y assurer sa survie. Ils sont classés en quatre grandes catégories: les glucides, les lipides, les acides aminés et les acides nucléiques.

1.2 Métabolites secondaires

Ils décrivent une vaste gamme de composés chimiques dans les plantes, qui sont responsables des fonctions périphériques, indirectement essentielles à la vie, telles que la communication intercellulaire, la défense et la régulation des cycles catalytiques (Guillaume, 2008). Ces produits, à structure chimique souvent complexe sont très dispersés et très différents selon les espèces. Ils pourraient jouer un rôle dans la défense contre les herbivores, et dans les relations entre les plantes et leur environnement.

Les métabolites secondaires sont bio-synthétisés à partir de métabolites primaires et jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement, contribuant ainsi à la survie de l'organisme dans son écosystème. Ils ont essentiellement pour rôle d'accroître la compétitivité de l'organisme qui les biosynthétise en lui conférant un avantage sur d'autres organismes (Coffi et al., 2012). Les métabolites secondaires ont donc des fonctions biologiques qui peuvent s'avérer essentielles (Scharf et al., 2014) :

- Les pigments isoprénoides et les parfums (isoprénoides volatils) des plantes attirent les insectes pollinisateurs (essentiels pour la reproduction) ;
- Moyens de défense contre des agressions d'origines biotiques et abiotiques ;
- Communication entre plantes, micro-organismes ou animaux (hormones, phéromones etc).

Les plus grands groupes de métabolites secondaires sont les alcaloïdes, les terpénoïdes, les stéroïdes et les composés phénoliques. Ils représentent une immense valeur économique, en particulier pour l'industrie pharmaceutique et cosmétique (Crozier et al., 2006).

1.2.1 Polyphénols

Les polyphénols ou composés phénoliques sont des métabolites secondaires d'un poids moléculaire élevé, largement distribués dans le règne végétal. Ce sont des molécules aromatiques constituées d'un groupement phényle (C6) et d'un hydroxyle (-OH). Ils sont caractérisés, comme le nom l'indique, par la présence de plusieurs groupements phénoliques associés en structures plus ou moins complexes. On peut nommer dans cette famille : les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tanins, La plupart de ces composés phénoliques dérivent d'acides aminés aromatiques, la tyrosine et la phénylalanine.

Ils forment une grande classe de produits chimiques retrouvés dans les plantes au niveau des tissus superficiels ; ce sont des composés photochimiques polyhydroxylés. Comme ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve chez les plantes, elles ont un rôle principal dans la vie de la plante. Elles sont impliquées dans la défense contre les pathogènes, principalement les moisissures et les bactéries phytopathogènes et la protection contre les rayonnements UV, sachant que tous les composés phénoliques absorbent les rayonnements solaires (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

1.2.1.1 Classification

On peut classer les métabolites secondaires en trois grands groupes d'après leur biosynthèse (Hennebelle et al., 2004) :

- Les composés phénoliques : les acides phénoliques, les coumarines, les stilbènes, les flavonoïdes, les tanins, la lignine.
- Les terpènes : les substances volatiles des plantes, les glycosides, les caroténoïdes, les stérols.
- Les composés azotés : les alcaloïdes, les glucosinolates.

Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine (Haven et al., 2000 ; Krief, 2003).

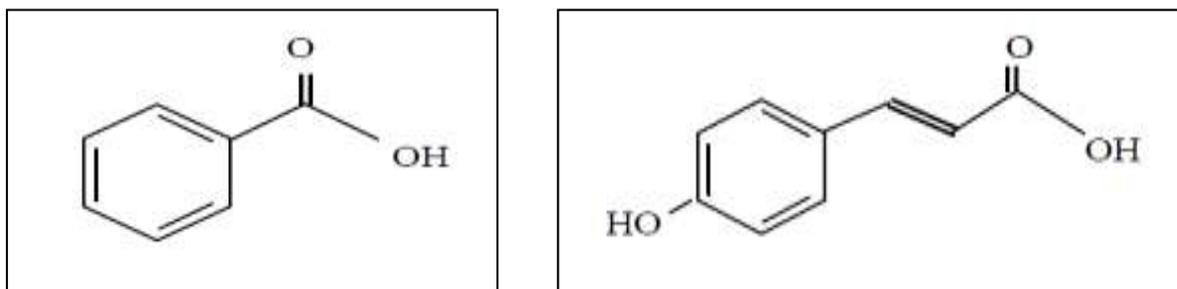


Figure 04: Structure de base des acides benzoïque et cinnamique (Bruneton, 2009).

a) Acides phénoliques

Les phénols ou les acides phénoliques sont des petites molécules constituées d'un noyau benzénique et au moins d'un groupe hydroxyle. Elles peuvent être estérifiées, étherifiées et liées à des sucres sous forme d'hétérosides. Ces phénols sont solubles dans les solvants polaires ; leur biosynthèse dérive de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique (Figure 04) (Wichl et Anton, 2009).

Les phénols possèdent des activités antiinflammatoires, antiseptiques et analgésiques (médicament d'aspirine dérivée de l'acide salicylique) (Iserin et al., 2001). Les acides phénoliques sont des composés qui ont des propriétés antioxydantes ; ils peuvent contribuer à prévenir l'apparition de plusieurs maladies (cancers, maladies cardiovasculaires et maladies liées au vieillissement) en neutralisant les radicaux libres de l'organisme.

- **Activité antimicrobienne des acides phénoliques**

Les plantes médicinales contenant des acides phénoliques se sont avérées efficaces contre les bactéries (Samy et Gopalakrishnakone, 2008). Les acides phénoliques (acide cinnamique, acide coumarique, acide caféique et férullique) ont montré une bonne activité contre les bactéries à Gram positif et seulement une faible activité contre les bactéries à Gram négatif (*Escherichia coli*, *Salmonella enterica*) à forte concentration (Rodríguez-Vaquero et al., 2007). Ces variations de sensibilité vis-à-vis des composés phénoliques purs peuvent refléter les différences au niveau structural de la surface des cellules entre les bactéries Gram positif et Gram négatif (Puupponen-Pimiä et al., 2005). Les composés phénoliques purs et les différentes concentrations de trois variétés de vin ont été évalués pour leur effet sur la croissance de *Listeria monocytogenes*. L'acide caféique dérivé de l'acide hydroxycinnamique, était le plus puissant inhibiteur de sa croissance (Puupponen-Pimiä et al., 2005) ; Rodríguez-Vaquero et al., 2007). Dans une étude menée par (Chanwitheesek et al., 2007), l'activité antimicrobienne de l'extrait éthanolique de *Caesalpinia mimosoides* est attribuée à la présence d'une substance antimicrobienne active, l'acide gallique, qui a montré une activité contre *Salmonella typhi* et *Staphylococcus aureus* avec des valeurs de CMI de 2,5 et 1,25 mg/ml, respectivement. L'hydrophobicité partiel de l'acide gallique lui permet d'agir efficacement ; en effet, il a perméabilisé la souche de *Salmonella* par déstabilisation de sa membrane externe, en chélatant les cations bivalents (Puupponen-Pimiä et al., 2005). Il a été démontré que la position et le nombre de groupements OH des acides phénoliques sont déterminants pour leur activité antimicrobienne et proportionnelle à leur toxicité. De plus, les phénols

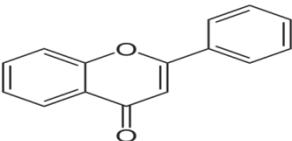
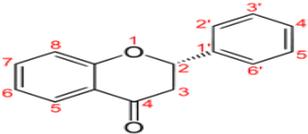
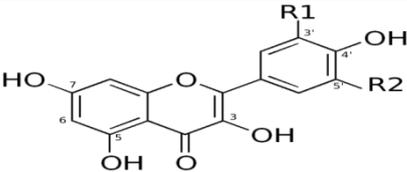
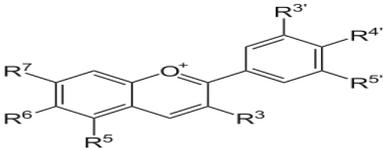
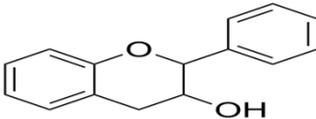
hautement oxydés, tels que les acides cinnamique et caféique, sont les plus toxiques (Cowan, 1999). L'acide gallique et l'acide protocatéchique ont trois et deux groupements hydroxyles dans leurs structures, respectivement, alors que l'acide vanillique a un seul groupement hydroxyle, et un groupement méthoxy. Le faible effet inhibiteur de l'acide vanillique comparativement aux acides gallique et protocatéchique pourrait être dû à cette substitution (Rodríguez-Vaquero et al., 2007).

b) Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont les principaux métabolites secondaires végétaux (Ralston et al., 2005). Ils ont une structure de C₆-C₃-C₆ à poids moléculaire faible ; ils peuvent être considérés parmi les agents responsables des couleurs de plante à côté des chlorophylles et caroténoïdes (Wichl et Anton, 2009). Les flavonoïdes ont des sous-groupes contenant deux ou plusieurs cycles aromatiques, chacun portant un ou plusieurs groupes hydroxyles phénoliques et reliés par un pont carboné (Tableau I) (Heller et Forkmann, 1993).

Les flavonoïdes sont généralement des composés microbiens (Wichl et Anton, 2009). Ils peuvent être exploités de plusieurs manières dans l'industrie cosmétique, alimentaire (jus de citron) et pharmaceutique (les fleurs de trèfle rouge traitent les rhumes et la grippe en réduisant les sécrétions nasales). Certains flavonoïdes ont aussi des propriétés anti-inflammatoires et antivirales (Iserin et al., 2001).

Tableau I: Les principales familles de flavonoïdes (Nijveldt et al., 2001 ; Malesev et al., 2007 ; Massimo et al., 2010).

Familles	Structures	Sources de nourriture
Flavones		Les oignons, les pommes, le brocoli, les baies et le persil
Flavanones		Les agrumes
Flavonols		le thé vert et noir, le vin rouge, oignons et tomate
Anthocyanidines		les fraises, les baies, les raisins, le vin et le thé
Flavone-3-ol= Flavanol ou catéchines		Chocolat, abricot

- **Activité antioxydante des flavonoïdes**

Les flavonoïdes sont reconnus pour leurs nombreuses activités biologiques qui sont attribuées en partie aux propriétés antioxydantes de ces composés naturels. Ils réagissent avec la plupart des espèces réactives oxygénées (Fuhrman et al., 1995).

L'action antioxydante de ces composés ne s'exerce pas seulement par l'inhibition des radicaux libres, mais elle se manifeste aussi par la neutralisation d'enzymes oxydantes et par la chélation d'ions métalliques responsables de la production des espèces réactives de l'oxygène (Halliwell, 1994 ; Cotelle, 2001).

- **Activité antimicrobienne des flavonoïdes**

Les flavonoïdes sont considérés comme étant de très bons agents antimicrobiens grâce à leur structure caractérisée par la présence de groupe phénolique, et d'autres fonctions chimiques (Harborne et Williams, 2000). D'autre part, plusieurs études ont montré l'effet

bactéricide de différentes flavanones sur un *Staphylococcus aureus* (Ulanowska et al., 2007). Le mécanisme d'action des polyphénols est sans doute très complexe, parmi les hypothèses avancées (Mila et Scalbert, 1994):

- L'inhibition des enzymes extracellulaires microbiennes.,
- La séquestration du substrat nécessaire à la croissance microbienne ou la chélation de métaux tels que le fer.,
- L'inhibition du métabolisme microbien.

c) Anthocyanines

Les anthocyanines sont des composés phénoliques d'origine naturelle responsable de la couleur de nombreuses fleurs, fruits et baies. Ils sont glycosylés, polyhydroxylés (Figure 05) et ont une large distribution dans le règne végétal (Longo et al., 2005 ; Currie et al., 2006 ; Qin et al., 2010). L'intérêt pour ce type de pigment a augmenté essentiellement en raison de leur possible utilisation comme colorant naturel. A cause de leur hydrosolubilité, les anthocyanes sont le plus grand groupe de pigments solubles dans l'eau. Ils peuvent avoir des effets bénéfiques pour la santé comme agents anti-inflammatoires (Longo et al., 2005) et agent antioxydant (Ghosh et Konishi, 2005).

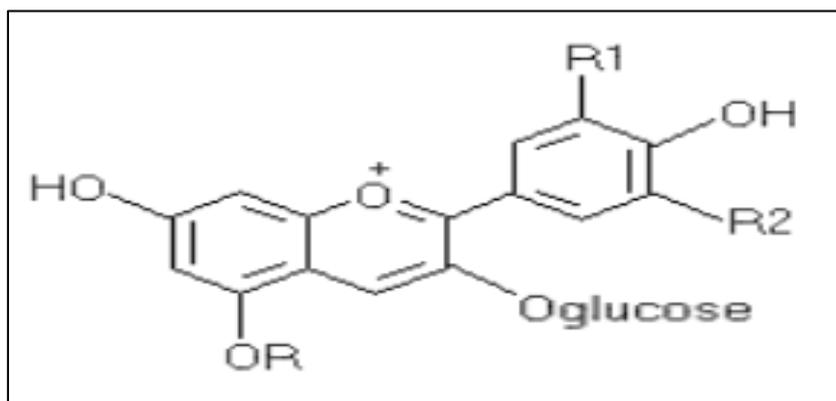


Figure 05: Structure chimique d'anthocyanane (Sava et al., 2006).

d) Stilbènes

Les stilbènes sont des composés à petits poids moléculaire (environ 200-300g/mol). D'origine naturelle, ils sont présents dans un large éventail de sources végétales, de produits d'aromathérapie et de compléments alimentaires. Les stilbènes agissent comme agents protecteurs naturels pour défendre la plante contre les attaques virales et microbiennes, et les expositions aux ultraviolets excessives (Roupe et al., 2006). Parmi les stilbènes les plus

abondant, le resvératrol (Figure 06), qui est connu essentiellement pour ses diverses propriétés biologiques, d'où son utilité pharmaceutique et médicinale (Delmas et al., 2003).

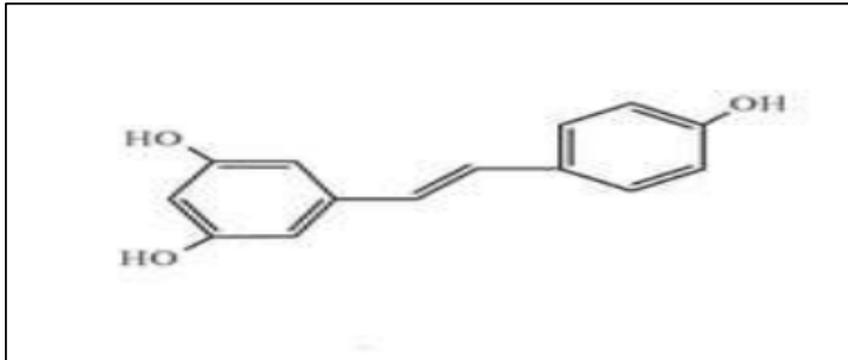


Figure 06: Un exemple de stilbènes: le resvératrol (Macheix et al., 2005).

e) Lignines

Ce sont les composants majeurs de la paroi cellulaire. Les lignines (du latin lignum, bois) sont les polymères les plus abondants après la cellulose, forme la paroi végétale (Ralston et al., 2005). Ils forment une structure hétérogène et agissent à la fois sur le maintien de l'intégrité structurale de la paroi cellulaire, ainsi qu'un échafaudage pour les polysaccharides (Figure 07). Les polysaccharides augmentent le caractère hydrophobe de la structure de la lignine, ce qui facilite le transport de l'eau dans les tissus, en empêchant l'absorption d'eau. Cette structure hydrophobe est cruciale pour l'action capillaire, ce qui permet à l'eau de passer à travers les capillaires de lignine doublés sans adsorber dans la cellule végétale (Holderness et al., 2008).

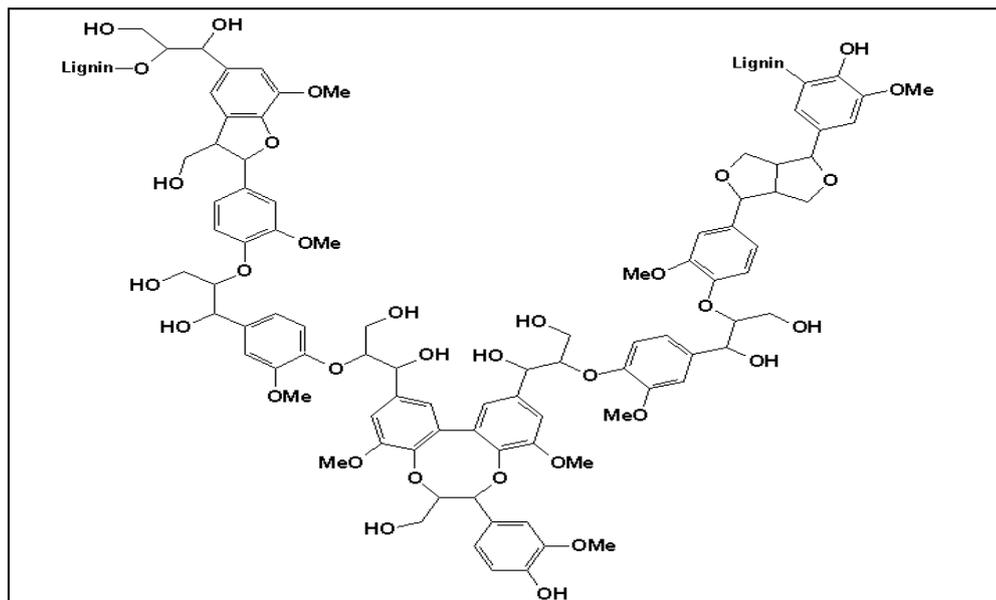


Figure 07: Structure chimique des lignines (Wertz et al., 2015).

f) Tanins

Les tanins sont des formes phénoliques condensées, ayant un poids moléculaire allant de 500 à 3000 daltons. Dans la nature, les tanins se trouvent dans de nombreuses familles de différentes plantes supérieures telles que le châtaignier et le bois de chêne (Paolini et al., 2003). Ils sont solubles dans l'eau (Akiyama et al., 2001). Le terme tanin vient de la source de tanins utilisée pour le tannage des peaux d'animaux en cuire (Khanbabaee et Ree, 2001). En outre, ils ont certaines propriétés spéciales telles que l'aptitude à la précipitation des alcaloïdes, de la gélatine et des autres protéines. Selon la nature des assemblages moléculaires, les tanins sont classés en 2 groupes : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Reed et al., 1995 ; Sereme et al., 2010).

➤ Tanins condensés

Les tanins condensés, également appelés proanthocyanidines, sont des métabolites secondaires synthétisés par l'intermédiaire de la voie biosynthétique des flavonoïdes. Ils sont largement répandus dans l'alimentation (fruits, vin, thé etc.) et jouent un rôle important dans la défense contre les herbivores (Bogs et al., 2005 ; Holderness et al., 2008). Les tanins condensés résultent de la polymérisation de molécules élémentaires de flavanes (flavanes ol 3, flavane ol-4, flavane diol -3,4) (Figure 08). Ils sont désignés aussi sous le nom de tanins

catéchiques. Les proanthocyanidols ont été isolés ou identifiés dans tous les groupes de végétaux, gymnospermes et fougères compris (Tanner et al., 2003).

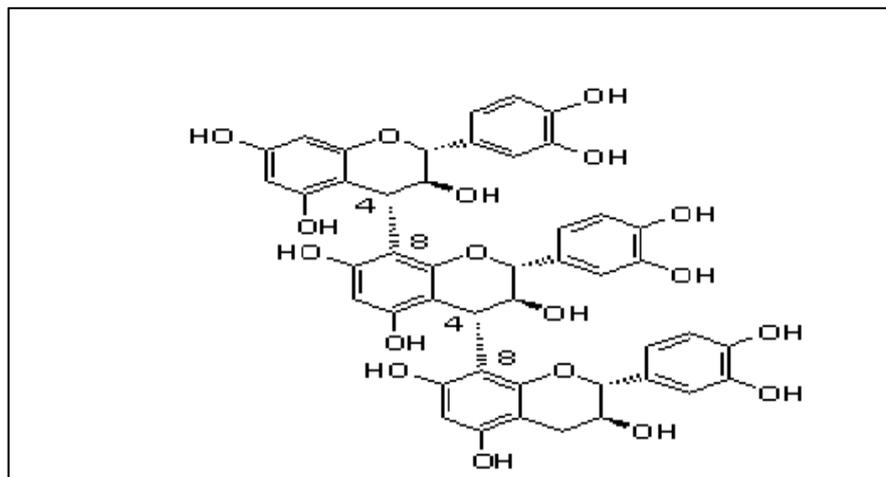


Figure 08: Structure chimique des tanins condensés (Bruneton, 2009).

➤ Tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables sont des résidus d'acide gallique qui contiennent un noyau de sucre entouré des groupes phénoliques (Figure 09). Ces résidus peuvent être modifiés par la suite par une autre addition de groupements phénoliques et de chaînes latérales comprenant un à n monomères d'acides galliques. Des liaisons carbonées à carbonées entre noyaux conduisent à des molécules plus rigides (Nonaka, 1989). Ils sont nommés tannins hydrolysables parce que le traitement avec des acides faibles hydrolyse facilement les résidus d'acide gallique et produit des acides phénoliques avec un hydrate de carbone coré. Cependant, la production de diverses structures tanniques hydrolysables suggère qu'ils sont employés dans une fonction spécialisée. L'utilisation des tanins hydrolysables est indiquée dans la défense des plantes contre les toxines et pour éviter la prédation herbivore (Holderness et al., 2008).

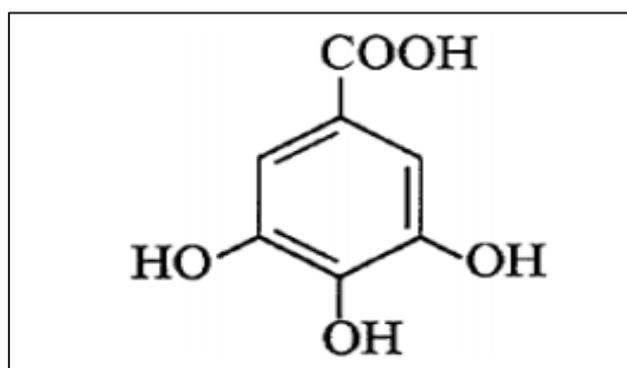


Figure 09: Structure chimique de l'acide gallique (Bruneton, 2009).

h) Coumarines

Ce sont des substances naturelles, organiques et aromatiques constituées de neuf atomes de carbone caractérisées par le noyau 2H-1-benzopyrane-2-one (Figure 10). Les coumarines sont très largement distribuées dans le règne végétal ; elles ont la capacité de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes (Mpondo et al., 2015).

Les coumarines sont formées dans les feuilles et s'accumulent surtout dans les racines et les écorces, ainsi que dans les tissus âgés ou lésés. Cette substance ainsi que ses dérivés ont des actions phytobiologiques (Hostettmann, 1992), bactériostatiques et antifongiques (Rufini et Sampaolo, 1977). Elles ont également un effet anti-œdémateux (Hoult et Paya, 1996).

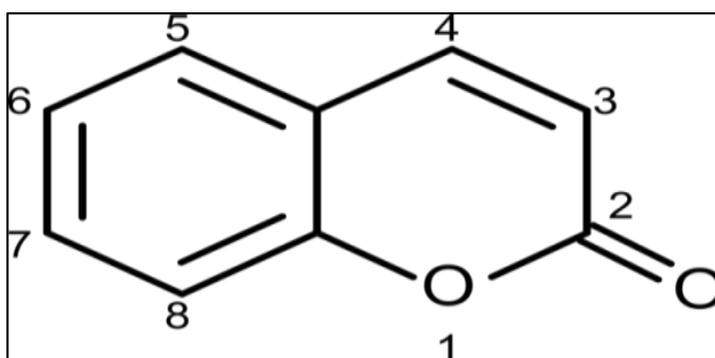


Figure 10: Structure d'une molécule de coumarine (Cowan, 1999).

1.2.2 Alcaloïdes

Ce sont des substances organiques azotées d'origine végétale, de caractère alcalin et de structure complexe (noyau hétérocyclique) ; elles sont retrouvées dans plusieurs familles de plantes. La plupart des alcaloïdes sont solubles dans l'eau et l'alcool et ont un goût amer et certains sont fortement toxiques (Wichtl et Anton, 2009).

Certains alcaloïdes sont utilisés comme moyen de défense contre les infections microbiennes (Nicotine, caféine, morphine, lupinine) (Figure 11) (Hopkins, 2003) et comme anticancéreux (vincristine et la vinblastine) (Iserin et al., 2001).

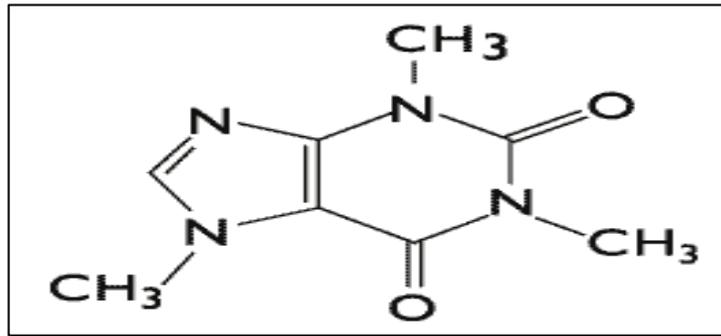
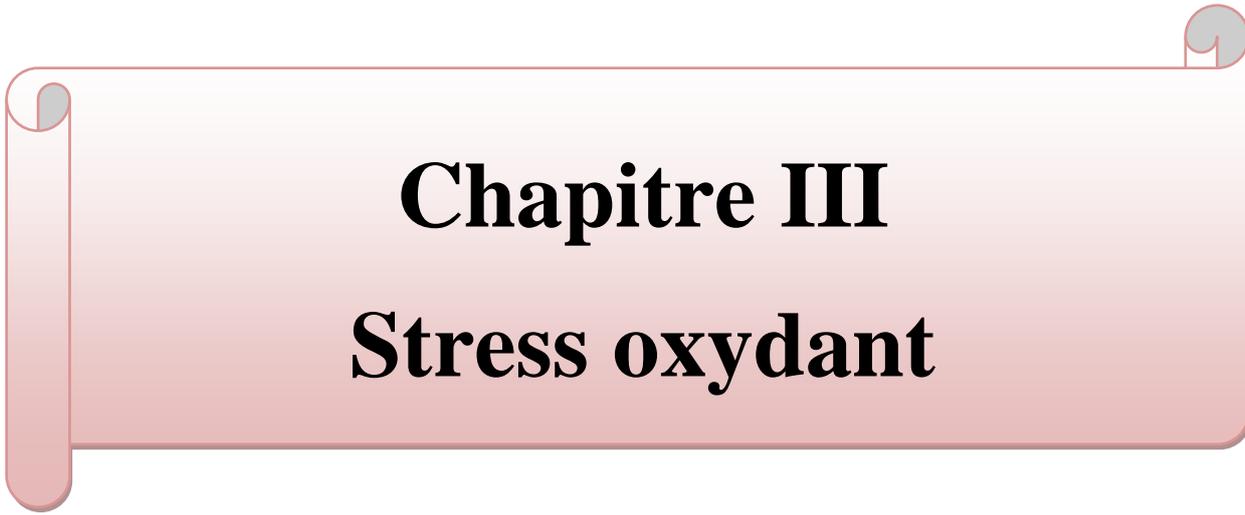


Figure 11: Exemple d'alcaloïde: la caféine (Osbourn et Lanzotti, 2009).

1.2.3 Terpénoïdes

Les terpènes forment un groupe de produits naturels largement représenté et d'un intérêt chimique considérable, très diversifiés. Ils constituent le principe odoriférant des végétaux. Cette odeur est due à la libération des molécules très volatiles contenant 10, 15, 20 atomes de carbones. Extraites, ces molécules sont employées comme condiment (girofle) ou comme parfum (rose, lavande). Ces squelettes peuvent être arrangés de façon linéaire ou bien former des anneaux (Malecky, 2005 ; Benaïssa, 2011).



Chapitre III
Stress oxydant

1. Stress oxydant

Le stress oxydant peut-être défini comme un déséquilibre entre les systèmes producteurs d'espèces radicalaires oxydantes et les systèmes de défense antioxydants au profit des premiers. Ceci implique la production d'espèces réactives de l'oxygène (Arous, 2014). Ce phénomène est associé à une libération massive de radicaux libres (Favier, 2003). Le stress oxydatif est à l'origine de certaines maladies. Il est souvent initié et propagé par une surproduction d' O_2^- et de H_2O_2 , et par leur conversion en de puissants oxydants dangereux pour les cellules (Favier, 1997). Ce stress peut avoir diverses origines : mauvaise alimentation, phénomènes inflammatoires chroniques ou aigus et habitudes de vie inadéquates (tabagisme, consommation excessive d'alcool etc.) (Pincemail et Defraigne, 2004).

1.1 Mécanisme d'oxydation

L'oxydation est le phénomène qui fait rouiller les métaux, flétrir les légumes et les fruits, et rancir les graisses (Bénard et al., 1964). La réaction d'oxydation est une réaction de type radicalaire mettant en jeu des espèces très réactives (Judde, 2004). Elle est initiée par la lumière, la chaleur, ou les traces de métaux lourds (Cu^{2+} et Fe^{3+}). Cette réaction est au départ très lente, puis s'accélère de façon exponentielle avec la formation de peroxyde ; c'est une réaction en chaîne de radicaux libres.

1.2 Radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique, atome ou molécule, contenant un électron non apparié. Extrêmement instable, donc très réactif et, par conséquent, sa durée de vie est généralement très courte, de l'ordre de 10^{-4} secondes ; ce composé peut réagir avec les molécules les plus stables pour appairier son électron (André, 1998 ; Ames, 1998).

L'oxygène (O_2) est une molécule biradicalaire formée de deux atomes présentant sur leurs orbitaux externes deux électrons non appariés. Il est donc susceptible de capter facilement 1 puis 2 électrons pour être partiellement réduit en anion superoxyde (O_2^-), puis en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Il est ainsi à l'origine de la formation d'espèces réactives oxygénées (ERO) (Sies, 1993 ; De Leiris, 2003).

L'appellation « dérivés réactifs de l'oxygène » n'est pas restrictive, elle inclut les espèces réactives de l'oxygène (ERO), proprement dit, mais aussi certains dérivés non radicalaires dont la toxicité est importante tel que le (H_2O_2), et les espèces réactives de l'azote (ERN) à savoir le peroxydinitrite ($ONOO^-$) (Pasquier, 1995 ; Fontaine et al., 2002).

- **Action sur l'ADN**

L'ADN est constamment attaqué par des espèces réactives qui peuvent affecter sévèrement sa structure et sa fonction. Les modifications structurales de l'ADN résultent essentiellement de la modification de ses bases, la coupure des brins d'ADN et l'altération de nombreuses protéines qui sont en contact avec l'ADN (Jena, 2012). Ces modifications peuvent conduire à des mutations génétiques affectant les gènes suppresseurs des tumeurs (Borrego et al., 2013).

- **Action sur les protéines**

Les protéines sont facilement attaquées par les ERO (Xiang et al., 2013), leur oxydation est définie comme une modification induite soit directement par les interactions avec les radicaux libres ou indirectement par la réaction avec des sous-produits secondaires du stress oxydatif. Les dommages protéiques causés par les radicaux libres impliquent plusieurs réactions chimiques comme l'oxydation des chaînes latérales d'acide aminé, fragmentation des chaînes de polypeptides et les changements de conformation des protéines. Ces modifications peuvent conduire à diverses conséquences fonctionnelles telles que l'inhibition des activités enzymatiques, une susceptibilité accrue à l'agglomération et la protéolyse (Shacter, 2000 ; Kuka et al., 2012).

- **Action sur les lipides**

Le stress oxydatif cause la peroxydation lipidique dans les membranes cellulaires quand les radicaux libres réagissent avec les constituants membranaires essentiellement les acides gras polyinsaturés et les LDL. La peroxydation des lipides implique la destruction des lipides membranaires, des troubles métaboliques et inflammatoires, la formation et la propagation des radicaux lipidiques avec de nombreux effets délétères comme le malondialdéhyde (MDA) qui est un produit caractéristique de ce processus (Zhao et al., 2013).

- **Action sur les carbohydrates**

Les radicaux libres tels que $\text{OH}\cdot$ réagissent avec les carbohydrates par une abstraction d'un atome d'hydrogène d'un des atomes de carbone, pour produire un radical centré de carbone. Cela conduit à des ruptures dans la chaîne des molécules importantes comme l'acide hyaluronique dans le liquide synovial entourant les articulations (Devasagayam et al., 2004).

1.5 Moyens de protection : Les antioxydants

Un antioxydant est toute substance capable de retarder ou d'inhiber l'oxydation des substrats biologiques (Al-Mamary et al., 2002 ; Boyd et al., 2003 ; Karou et al., 2005). Ce sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent ainsi inoffensifs (Vansant, 2004). Ces antioxydants ont deux origines, l'une apportée par l'alimentation sous forme de fruits et de légumes riches en vitamines C, E, caroténoïdes, ubiquinone, flavonoïdes, glutathion ou acide lipoïque etc. tandis que l'autre est endogène représentée par des enzymes, tels que les superoxydases dismutases (SOD) et la catalase (rôle de protection), les glutathion peroxydases (GSH-Px) (rôle de détoxification) ou des protéines (ferritine, transferrine, albumine) (Curtay et Robin, 2000). Pincemail et Defraigne (2004) ajoutent aussi quelques oligo-éléments comme le sélénium, le cuivre et le zinc qui sont des cofacteurs importants pour l'activité de certains enzymes antioxydants.

Les polyphénols sont connus par leur activité antioxydante (Zhu et al., 2012) qui est due à la présence d'un nombre important de groupements hydroxyles phénoliques (Hannan et al., 2012). Les propriétés redox de ces composés leur permettent d'agir en tant qu'agents réducteurs, donateurs d'hydrogène et éliminateurs de l'oxygène singulet. Certains montrent des propriétés chélatrices de métaux (Proestos et al., 2013) et d'autres peuvent empêcher la production enzymatique des ROS telles que l'inhibition de cyclooxygénase, lipoxygénase et cytochrome P450 (Ferguson, 2001). Les polyphénols peuvent également augmenter l'expression des enzymes qui ont une activité antioxydante telles que la glutathion peroxydase, la superoxyde dismutase et la catalase (Jayasena et al., 2013).

D'après Halliwell (1994), les mécanismes d'action d'un antioxydant peuvent comprendre: **(a)** le piégeage direct des ROS ; **(b)** l'inhibition des enzymes et la chélation des traces métalliques responsables de la production de ROS ; **(c)** la protection des systèmes de défense antioxydants.

Matériel et Méthodes

- **Cadre de l'étude**

Notre étude expérimentale a été réalisée au sein des laboratoires communs I et II d'analyses physico-chimiques, le laboratoire pédagogique de Microbiologie ainsi que le laboratoire de recherche de Biochimie Analytique et Biotechnologies (LABAB) de la Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou (UMMTO), durant la période de Mars à Juin 2019.

L'objectif principal de ce travail est d'évaluer l'activité antioxydante et antimicrobienne de la poudre obtenue par la méthode de séchage à l'air libre des feuilles d'*Helminthotheca echioides*.

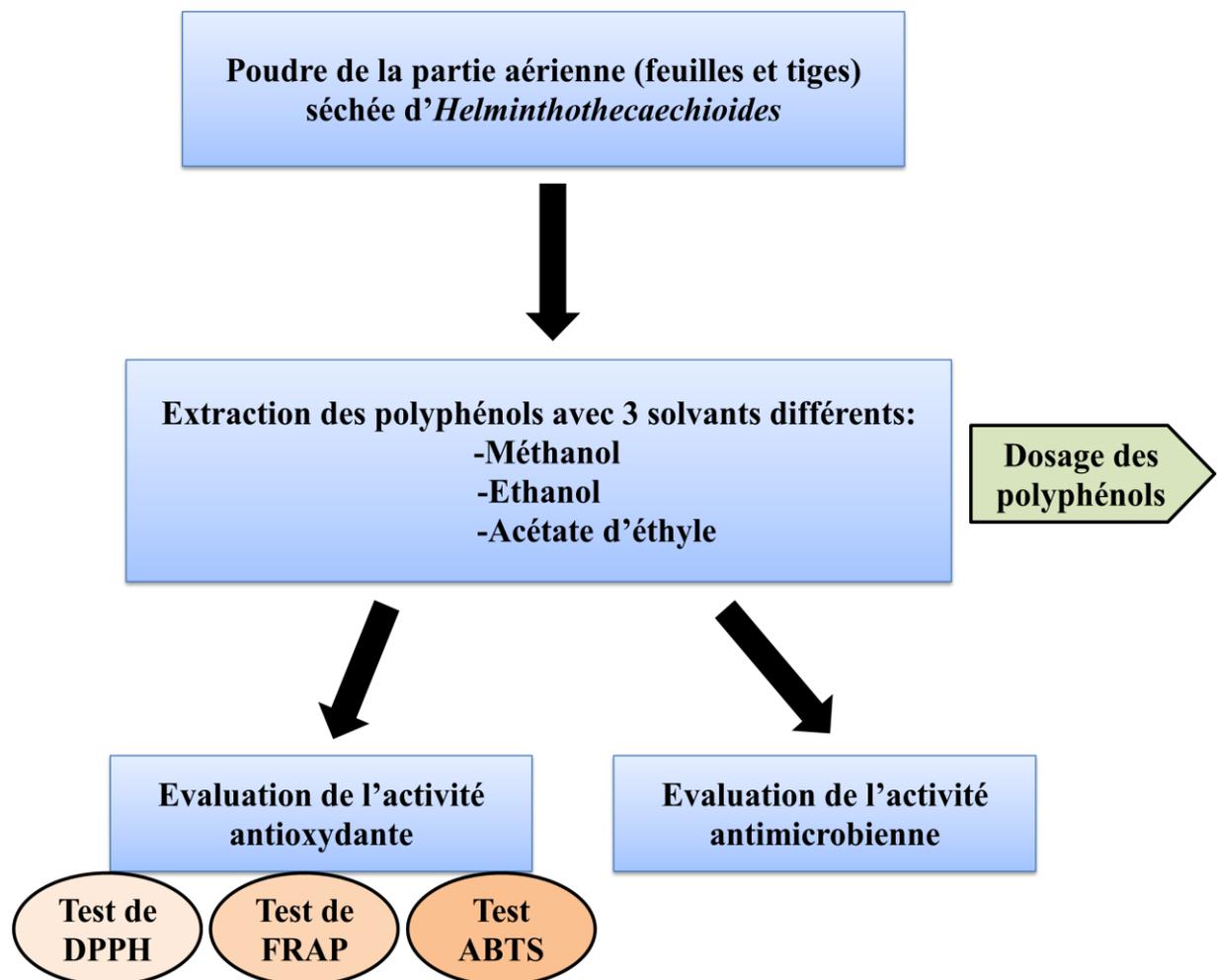


Figure 13: Diagramme résumant le travail expérimental effectué.

1. Matériel et méthodes

1.1 Matériel

a. Appareils

Tableau III: L'appareillage utilisé lors du travail expérimental

Appareil	Référence	Appareil	Référence
Spectrophotomètre UV-visible	Biothech engineering	Balance de précision	Kern, Sartorius
Centrifugeuse réfrigérée	Hetich universal k2/s	Balance	Denever Instrument
Bain marie	Wisebathe	Vortex	VELP Scientific
Autoclave	Pbinternational	Agitateur magnétique	Labinco, VELP Scientific
Etuve	Binder, Memmert	Congélateurs	ENIEM
pH mètre	Hanna Instrument	Réfrigérateurs	Maxipower
Rotavapor	Stuart		

➤ Consommable

Verrerie, micropipettes, papier whatman, filtres, papier absorbant, disques d'antibiotiques, Boîtes de Petri, embouts jaunes et bleus, cuves du spectrophotomètre et des écouvillons.

b. Produits chimiques et milieux de cultures utilisés

Tableau IV: Les produits chimiques, réactifs, solvants organiques, sels et milieux de culture utilisés.

Produits chimiques et réactifs	DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl), ABTS(2,2-azini-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate), ferrocyanure de potassium ($K_3Fe(CN)_6$), persulfate de potassium ($K_2S_2O_8$), TCA (acide trichloroacétique), chlorure de fer ($FeCl_3$), folin-ciocalteu, acide gallique, acide ascorbique, acide p-coumarique, acide cinnamique, acide caféique
Solvants organiques	Acétate d'éthyle, éthanol, acide formique, méthanol
Sels	Chlorure de sodium (NaCl), carbonate de sodium (Na_2CO_3), phosphate dissodique Na_2HPO_4 , phosphate dipotassium K_2HPO_4 .
Milieux de culture	BHIB (Brain Heart Infusion Broth), Gélose nutritive (GN), Mueller Hinton Agar (MH), PDA.

c. Matériel végétal

➤ Echantillonnage de la plante et conservation

La plante *Helminthotheca echioides* a été récoltée dans la région d'Azib Ahmed (wilaya de Tizi-Ouzou) (Figure 14) durant le mois de Mars 2019. Les feuilles et les tiges ont été triées, lavées à l'eau du robinet, essuyées à l'aide d'un papier absorbant, puis séchées à l'air libre à l'abri de la lumière. Après séchage pendant 20 jours, ces dernières ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre. La poudre ainsi obtenue a été tamisée sur un tamis pour avoir une poudre fine et homogène. Cette dernière a été ensuite conservée dans un récipient en verre et stockée à l'abri de lumière et de l'humidité jusqu'à l'extraction (Figure 15).



Figure 14 : Région de récolte de la pante



Récolte de la plante, triage, et nettoyage



Séchage à l'air libre



Broyage et tamisage



Stockage à l'abri de la lumière

Figure 15: Diagramme représentant les étapes de séchage à l'air libre des feuilles d'*Helminthotheca echioides*.

d. Matériel biologique

Les tests d'activités antimicrobiennes des différents extraits phénoliques de notre plante ont été effectués sur 4 souches bactériennes référencées et deux souches fongiques référencées. Les souches bactériennes ont été fournies par le laboratoire pédagogique de Microbiologie de l'Université de Tizi-Ouzou et les souches fongiques par le laboratoire de Microbiologie de l'Université des Sciences et de la Technologie Houari-Boumediène de Bab Ezzouar (Tableau V).

Tableau V: Souches microbiennes et souches fongiques utilisées.

Souches	Types	Références
<i>Escherichia coli</i>	Bactérie Gram négatif	ATCC25922
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Bactérie Gram négatif	ATCC27857
<i>Staphylococcus aureus</i>	Bactérie Gram positif (SARM)	LGA251
<i>Staphylococcus aureus</i>	Bactérie Gram positif (SARM)	MU50
<i>Botrytis cinerea</i>	Moisissure	Non déterminée
<i>Fusarium verticilliorde</i>	Moisissure	Non déterminée

2. Méthodes

2.1 Extraction des polyphénols

➤ Principe

La méthode d'extraction suivie dans notre étude est la macération, il s'agit d'un simple contact entre le support solide et le solvant, elle consiste à laisser séjourner la matière végétale dans le solvant pour extraire les composés phénoliques (Leybros et Fremeaux, 1990).

➤ Mode opératoire

Les polyphénols ont été extraits de la plante par macération en utilisant trois solvants : L'éthanol, le méthanol et l'acétate d'éthyle (Figure 16).

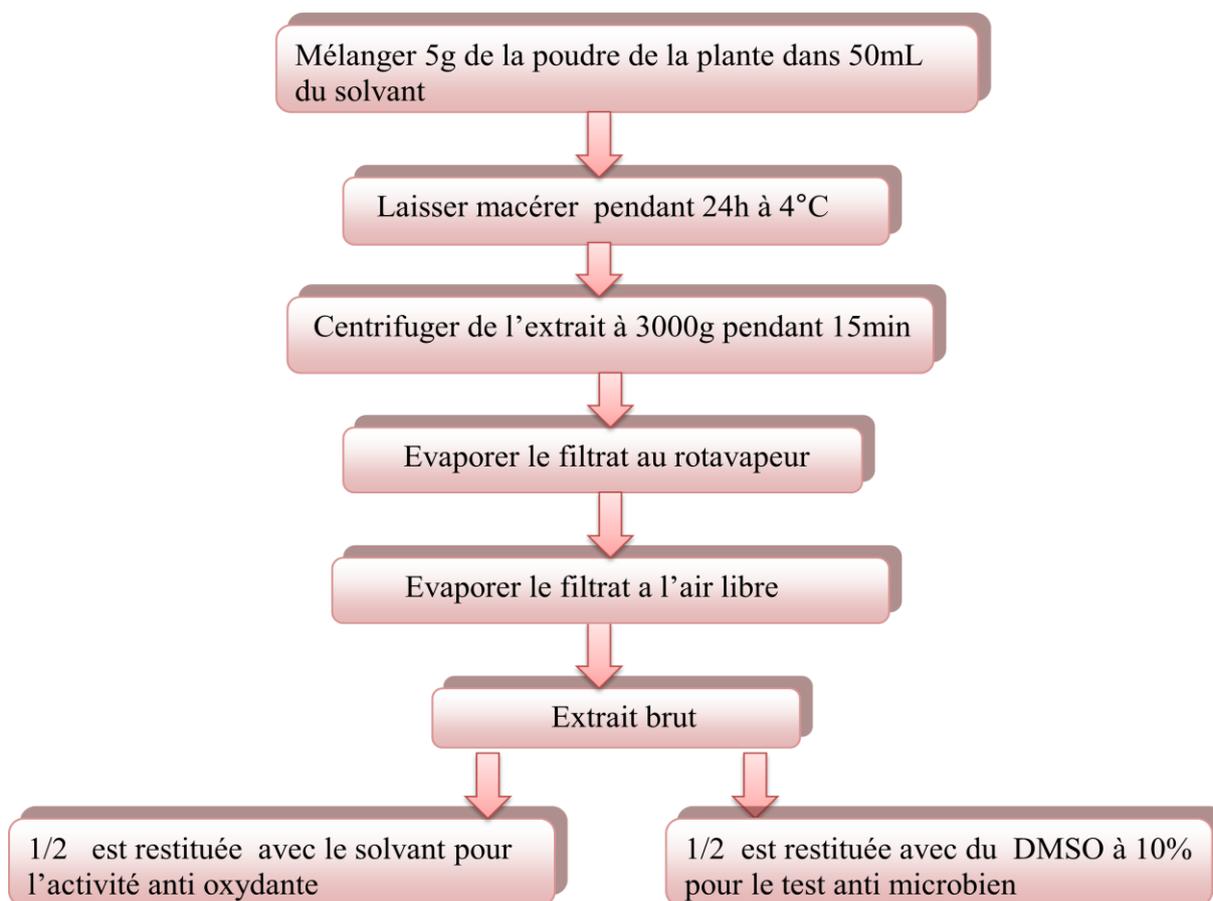


Figure 16: Protocole d'extraction des polyphénols.

a) Extraction méthanolique des polyphénols

- Mélanger 5g de poudre de la plante dans 50mL de méthanol ; laisser macérer pendant 24h au réfrigérateur à 4°C, en protégeant le flacon avec du papier aluminium contre la lumière avec agitation ;
- Filtrer au papier whatman;
- Centrifuger l'extrait à 3000g pendant 15 min ;
- Évaporer le filtrat au rotavapeur ;
- Les résidus secs sont pesés puis repris dans le méthanol ou dans le DMSO à 10% pour le test antimicrobien.

b) Extraction des polyphénols avec l'acétate d'éthyle

- Mélanger 5g de poudre de la plante dans 50mL d'acétate d'éthyle ; laisser macérer pendant 24h au réfrigérateur à 4°C, en protégeant le flacon avec du papier aluminium contre la lumière ;

- Filtrer au papier whatman ;
- Centrifuger l'extrait à 3000g pendant 15 min ;
- Évaporer le filtrat au rotavapeur ;
- Les résidus secs sont pesés puis repris dans l'acétate d'éthyle ou dans le DMSO 10% pour le test antimicrobien.

c) **Extraction éthanolique des polyphénols**

- Mélanger 5g de poudre de la plante dans 50mL d'éthanol dans le 1^{er} extrait et dans le 2^{ème} extrait (80% d'éthanol avec 20% d'acide formique) ; laisser macérer pendant 24h au réfrigérateur à 4°C, en protégeant le flacon avec du papier aluminium contre la lumière ;
- Filtrer au papier whatman ;
- Centrifuger l'extrait à 3000g pendant 15 min ;
- Évaporer le filtrat au rotavapeur ;
- Les résidus secs sont pesés puis repris dans l'Ethanol ou dans le DMSO 10% pour le test antimicrobien.

2.1.1 Rendement de l'extraction des composés phénoliques

Le rendement en pourcentage (%), est défini comme étant le rapport entre la masse d'extrait et celle de la plante sèche en poudre. Il est calculé par la formule suivante :

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

PB : poids d'extrait brut.

PA : poids de la plante sèche en poudre.

2.2 Dosage des composés phénoliques totaux (TCP)

➤ **Principe**

Les polyphénols totaux ont été déterminés par spectrophotométrie en utilisant la méthode de Folin-Ciocalteu. Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué d'un mélange de deux acides : acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols pour former un complexe bleu stable d'oxydes de tungstène et de molybdène. La coloration produite, dont l'absorption maximum est au voisinage de 760 nm, est proportionnelle à la quantité des composés phénoliques présents dans les extraits végétaux (Ribéreau-Gayon et Gautheret,

1968). La quantification des polyphénols totaux a été faite à l'aide d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y = ax$), réalisée dans les mêmes conditions que celles de l'échantillon, en utilisant l'acide gallique comme standard. Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalents de l'acide gallique par gramme de matière végétale sèche et en poudre (mg EAG/g MS).

➤ Protocole

Cent vingt-cinq microlitres de chaque extrait ou dilution et 500 μ L d'eau distillée ont été ajoutés à 125 μ l du réactif de folin-ciocalteu. Après 6 min, un volume de 1,25mL de la solution Na₂CO₃ à 7% a été ajouté. Le volume total est agité puis ajusté à 3mL avec l'eau distillée. Les absorbances ont été mesurées à 760 nm après incubation pendant 30 min à l'obscurité (Figure 17).

La concentration des CPT a été déterminée à partir d'une courbe étalon en utilisant l'acide gallique comme standard avec une gamme allant de 0 à 200 μ g/ml. La teneur en composés phénoliques des échantillons analysés est calculée par la formule suivante :

$$\text{TCP} = \text{C} \cdot \text{V} / \text{m}$$

C : Concentration de l'extrait ;

V : Volume du solvant utilisé pour l'extraction ;

m : Masse en grammes de la prise d'essai.

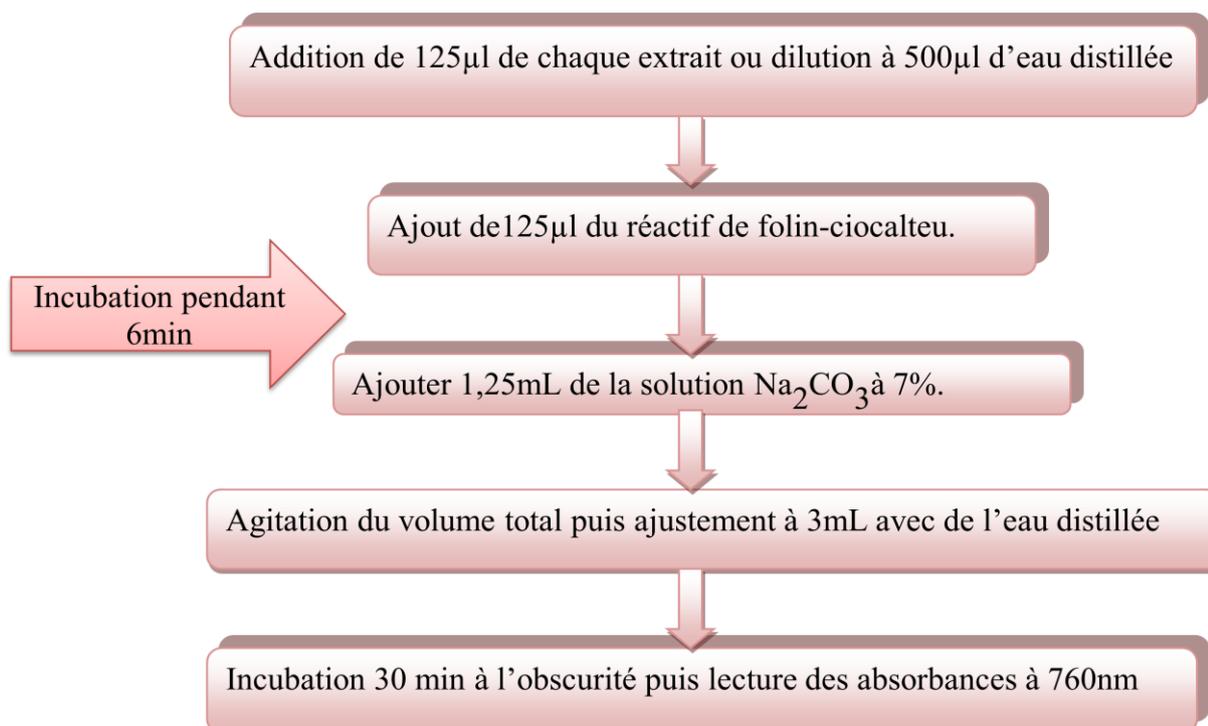


Figure 17: Diagramme représentant le protocole de dosage des polyphénols.

2.3. Evaluation de l'activité antioxydante

Afin d'évaluer l'activité antioxydante des composés phénoliques des échantillons étudiés, trois tests *in vitro* en duplicata ont été réalisés pour chaque échantillon : le test de DPPH, le pouvoir réducteur FRAP et le test de réduction du radical ABTS.

2.3.1 Test ABTS (acide 2, 2'-azino-bis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonique)

➤ Principe

Ce test est basé sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique ABTS^{•+} de couleur bleu verte en le transformant en ABTS incolore. Le radical préformé ABTS^{•+} est généré en présence des ions persulfates.



En présence d'un antioxydant, le passage du radical ABTS^{•+} à la forme non radicalaire s'accompagne de la disparition de la coloration bleu verte intense qui peut être suivie par la mesure de la densité optique à une longueur d'onde de 734 nm (Chen et al., 1997). Ce test est simple, opérationnel, reproductible, et peut être utilisé dans différents milieux.

➤ Protocole

Le test ABTS a été réalisé selon la méthode de Re et al. (1999) et Pellegrini et al. (1999) avec quelques modifications. Une solution ABTS à une concentration de 7mM a été préparée dans de l'eau distillée puis mélangée avec une solution de persulfate de potassium d'une concentration de 2.45Mm dans de l'eau distillée. Le mélange a été laissé au repos à température ambiante dans l'obscurité 12 à 16 heures.

La solution de l'ABTS^{•+} a ensuite été diluée dans de l'éthanol afin d'avoir une absorbance de 0.70 (± 0,02) à 734nm. Un volume de 100µl d'extrait a été additionné à 1mL de la solution ABTS. Le mélange a été incubé pendant 6min à l'obscurité puis les absorbances ont été mesurées à 743nm. L'acide ascorbique a été utilisé comme standard à des concentrations allant de 0 à 500µg/mL (Figure 18). Pour déterminer l'IC50, différentes concentrations d'extrait ont été testées. Le pourcentage de réduction du radical ABTS^{•+} a été calculé par la formule suivante :

$$PI\% (ABTS^+) = \frac{\text{absorbance du blanc} - \text{absorbance de l'échantillon}}{\text{Absorbance du blanc}} \times 100$$

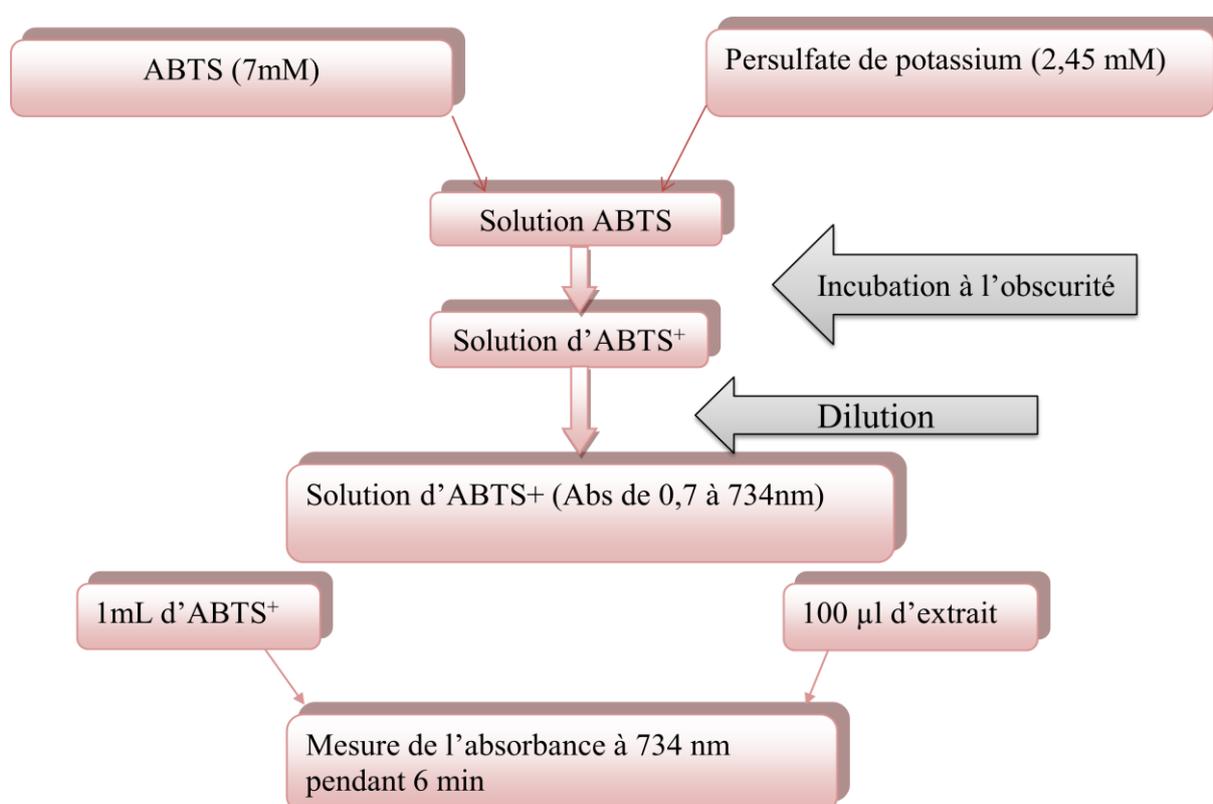


Figure 18: Protocole de l'activité antioxydante du radical ABTS^{•+}.

2.3.2 Test DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl)

➤ Principe

La molécule de 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH[•]) est un radical libre stable, dont la solution possède une coloration violette et une absorption caractéristique à 517 nm. Quand une solution de DPPH[•] est mélangée avec une substance donneuse d'atomes d'hydrogène, antioxydante, il y'a formation de la forme réduite (Figure 19). Ceci provoque la perte de la coloration violette et l'apparition d'une coloration jaune caractérisée par une bande d'absorption dans le visible à 517 nm (Brand-Williams, 1995).

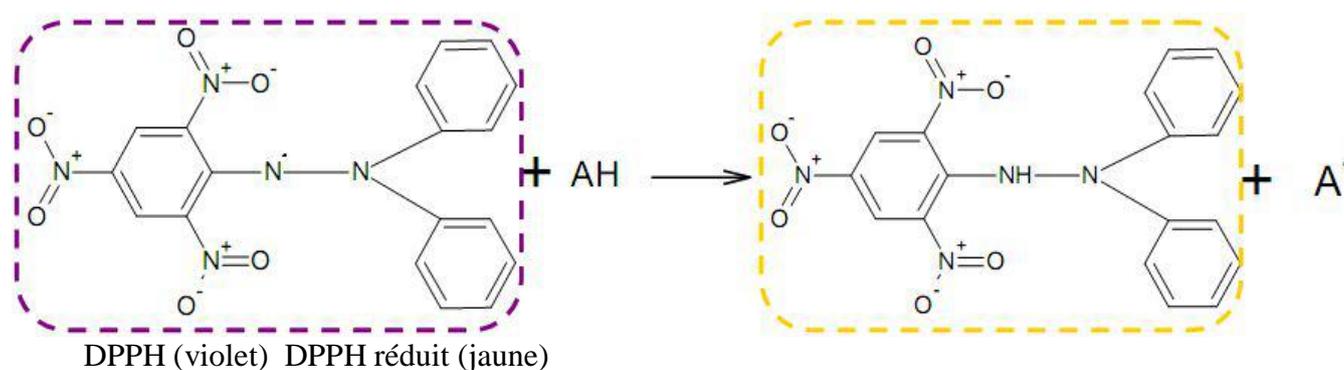


Figure 19: Structure chimique du radical DPPH[•] et de sa forme réduite.

➤ Mode opératoire

Le protocole expérimental utilisé est celui de Brand-Williams et al. (1995). La solution de DPPH a été préparée par solubilisation de 2mg de DPPH dans 50mL d'éthanol. Un volume de 1mL de DPPH[•] a été ensuite ajouté à 50µl de chaque extrait. Après 30 min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 517 nm.

L'activité antioxydante a été exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH[•], et calculée comme suite :

$$\text{Inhibition(\%)} = \frac{\text{absorbance du témoin} - \text{absorbance de l'échantillon}}{\text{absorbance du témoin}} \times 100$$

La concentration efficace (EC50) qui est la concentration d'extrait ou de l'antioxydant de référence responsable de 50% d'inhibition des radicaux DPPH[•] présents dans le milieu réactionnel, est déterminée sur le graphique représentant le pourcentage d'inhibition du DPPH[•] en fonction des concentrations des extraits ou des antioxydants de référence.

2.3.3 Test du pouvoir réducteur sur le ferrocyanure de potassium (FRAP)

➤ Principe

Le pouvoir réducteur des extraits phénoliques est basé sur la réduction de Fe^{3+} présent dans le complexe $(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6)$ en Fe^{2+} en présence d'un antioxydant qui possède le pouvoir de céder des électrons. L'absorbance du milieu réactionnel est déterminée à 700nm ; une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits.

➤ Mode opératoire

Le protocole expérimental suivi est celui d'Ouzaizu (1986) avec une petite modification (volume des extraits et des produits utilisés). Un volume de 250 μL des extraits phénoliques de différentes concentrations ont été mélangés avec 250 μl de tampon phosphate (pH = 6.6) et 250 μL de ferrocyanure de potassium $(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6)$ à 1%. Le mélange obtenu a été ensuite incubé à 50°C pendant 20 min puis 250 μL de l'acide trichloroacétique à 10% ont été ajoutés. Le mélange a subi une centrifugation à 3000g pendant 10mn et le surnageant a été récupéré. Cinq cents microlitres de ce dernier ont été mélangés avec le même volume d'eau distillée et 100 μL d'une solution de FeCl_3 à 0.1 %. L'acide ascorbique à différentes concentrations allant de 0 à 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ a été utilisé comme standard (Figure 20).

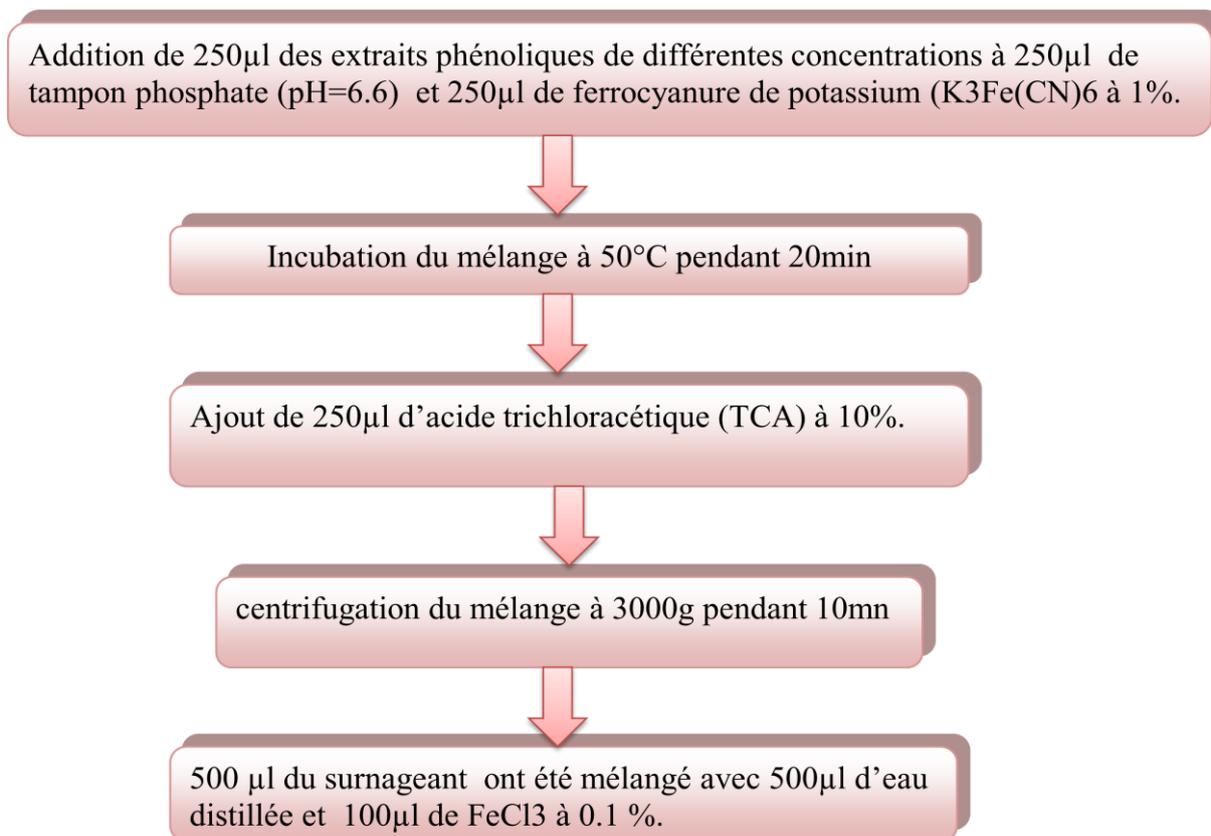


Figure 20: Protocole du pouvoir réducteur sur le ferrocyanure de potassium (FRAP).

2.4. Evaluation de l'activité antimicrobienne et antifongique

La gélose Mueller Hinton a été utilisée pour l'étude de la sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis des quatre extraits. Le milieu PDA a été utilisé pour l'étude de l'activité antifongique de nos extraits.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits de notre plante, a été réalisée selon la méthode de diffusion en milieu gélosé (aromatogramme) (Treki et al., 2009). Cette technique repose sur l'apparition d'une zone d'inhibition dans le milieu de culture autour du disque contenant l'extrait de la plante (Bssaibis et al., 2009).

➤ Préparation des disques

Les disques ont été préparés à partir du papier Whatman, avec un diamètre de 6 mm. Ces derniers ont été ensuite mis dans un tube à essai et stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes, puis conservés jusqu'à utilisation.

➤ Stérilisation du matériel et des milieux de culture

Les milieux de culture, Muller Hinton et PDA, ont été stérilisés à l'aide d'un autoclave pendant 15 min à 121°C. Les milieux ont été ensuite coulés dans des boîtes de Petri à 4mm de hauteur puis séchés sur la paillasse durant quelques minutes dans la zone de stérilité, assurée par le bec bunsenet incubé pendant 24h, la stérilité des milieux a été vérifiée.

L'eau physiologique, les tubes à essai utilisés dans la préparation des solutions ont été également stérilisés à l'autoclave.

➤ Revivification et repiquage des souches

Pour permettre aux bactéries stressées de récupérer leurs potentialités, 1 mL de la suspension bactérienne a été prélevé et additionnée à 9 mL de BHIB. Les tubes ont été incubés pendant 24h à 37°C. Les bactéries ont été ensemencées à l'aide d'une anse sur gélose nutritive en réalisant des stries serrées, puis incubées à 37°C pendant à 24h.

Le repiquage des souches fongiques a été réalisé sur le milieu PDA, suivi d'une incubation de 5 jours à 30°C pour *Fusarium verticilliorde* et de 10 jours pour *Botrytis cinerea*.

➤ Préparation de l'inoculum et standardisation

A partir d'une culture pure des souches à tester, quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques ont été raclées. L'anse a été déchargée dans 5 mL d'eau physiologique stérile à 0.9% ; la suspension bactérienne a été homogénéisée et la turbidité a été ajustée à 0,5 McFarland, ce qui correspond à $1-2 \times 10^8$ UFC/mL pour les bactéries (D.O = 0,08 à 0,1/ $\lambda = 625$ nm) et 10^6 spores/mL pour les champignons filamenteux ($\lambda = 530$ nm) (Pfaller et al., 1998).

➤ Préparation de l'aromatogramme

• Evaluation de l'activité antibactérienne

L'ensemencement des souches bactériennes testées a été réalisé par écouvillonnage sur la surface des milieux de culture. Quatre disques imprégnés de chaque extrait phénolique ont été déposés délicatement sur la surface de la gélose à l'aide d'une pince stérile. De même, des disques imprégnés d'antibiotiques (témoins positifs) et des disques imprégnés de DMSO (témoins négatifs) ont été utilisés afin de comparer les résultats avec ceux obtenus avec les extraits testés. Les boîtes de Petri ont été ensuite incubées à 37°C pendant 24h. Quatre disques ont été également imbibés par les quatre solvants utilisés pour l'extraction des polyphénols,

afin de confirmer que ces derniers n'ont aucun effet inhibiteur contre les souches testées. Les diamètres des zones d'inhibition (en mm) ont été mesurés (Biyiti et al., 2004).

- **Evaluation de l'activité antifongique**

L'inhibition de la croissance fongique a été déterminée selon la méthode de Bautista-Banos et al. (2002). Des puits de 5mm de diamètre ont été réalisés au niveau des boîtes de Petri contenant la souche fongiqueensemencée sur le milieu PDA. Le contenu des puits a été ensuite déposé délicatement sur des boîtes de Petri contenant 20 mL du milieu PDA et 20 µL de chaque extrait. Le contenu des puits a été également déposé sur une boîte de Petri contenant uniquement le milieu de culture afin de servir de témoin positif. Les boîtes de Petri ont été ensuite incubées pendant 5 à 7 jours.

- **Lecture des résultats**

La lecture se fait par la mesure des diamètres des zones d'inhibition autour des disques. Après mesure des zones d'inhibition (Ponce et al., 2003), les souches sont classées en :

- Souche résistante (-) : diamètre < à 8mm ;
- souche sensible (+): diamètre compris entre 9 et 14 mm;
- souche très sensible (++) : diamètre compris entre 15 et 19 mm;
- souche extrêmement sensible (+++) : diamètre > à 20 mm).

Résultats et Discussion

1. Rendement des extractions

L'extraction des composés phénoliques de la plante étudiée avec les solvants (éthanol, éthanol additionné à l'acide formique, méthanol, acétate d'éthyle), nous a permis de déterminer les rendements de leurs extraits bruts (Tableau VI).

Tableau VI : Les pourcentages d'extraction des polyphénols de la partie aérienne d'*H. echioides*.

Solvant	Rendement
Ethanol	17.2 %
Ethanol + acide formique	16.6 %
Méthanol	9.2 %
Acétate d'éthyle	9.6 %

D'après les résultats obtenus, l'extrait éthanolique a montré le taux d'extraction le plus élevé (17.2 %), comparé à l'extrait éthanolique additionné à l'acide formique (16.6%) et à ceux d'acétate d'éthyle et du méthanol, qui ont donné un rendement de (9.6%) et (9.2%) respectivement. Cela témoigne de la richesse des feuilles d'*H. echioides* en composés de polarité élevée dont les composés phénoliques, étant donnés leur richesse en groupement hydroxyle.

La différence de rendement des quatre fractions est due à la différence de la nature chimique des composés phénoliques de l'extrait et la nature du solvant utilisé. La différence dans les polarités des solvants d'extraction influence la solubilité des constituants chimiques d'un échantillon ainsi que le rendement d'extraction. Le taux d'extraction des composés phénoliques est influencé par la taille des particules de l'échantillon ; la meilleure extraction étant obtenue avec le plus petit diamètre (Sulaiman et al., 2011).

En outre, de nombreux facteurs influencent le rendement tels que la teneur en polyphénols, les caractéristiques physico-chimiques et la composition chimique de la plante, les conditions environnementales, la technique d'extraction, le séchage, la période et la zone de récolte, les pratiques culturelles et l'âge du matériel végétal (El oualilalami et al., 2013).

2. Dosage des polyphénols totaux (TCP)

La teneur en polyphénols a été estimée par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu. L'extraction des polyphénols par macération, bien que généralement longue et exigeante en solvants organiques qui sont chers et dangereux pour la santé (Garcia, 2010), est la seule

méthode utilisable dans le cas de l'extraction d'un ensemble de molécules fragiles (Ben Amor, 2008).

La teneur en PPT est exprimée en mg équivalent acide gallique/g de matière sèche (mg EAG/g MS). Les résultats correspondant à la quantité de polyphénols contenus dans chaque extrait sont présentés dans le (Tableau VII). Une coloration bleue est obtenue, cette coloration varie en fonction de la concentration de l'extrait de la plante en composés phénoliques.

La courbe d'étalonnage établie à l'aide de différentes concentrations de l'acide gallique, nous a permis d'estimer la teneur en composés phénoliques. Les quantités de polyphénols correspondantes à chaque fraction ont été calculées à partir de la courbe d'étalonnage et exprimée en équivalent milligramme d'acide gallique par gramme de Matière sèche, en utilisant l'équation de type : $y = 0.004x$, $R^2 = 0.999$ (Annexe 16).

Tableau VII : Résultats du dosage des polyphénols des quatre extraits de la partie aérienne d'*Helminthotheca echioides*.

Type du solvant	Teneur en polyphénols (mg EAG/gMS)
Extrait éthanolique	6.2 ±0.45
Extrait éthanolique/acide formique (80%/20%)	11.1125 ±0.30
Extrait à l'acétate d'éthyle	2.275 ±0.51
Extrait méthanolique	30.25 ±0.35

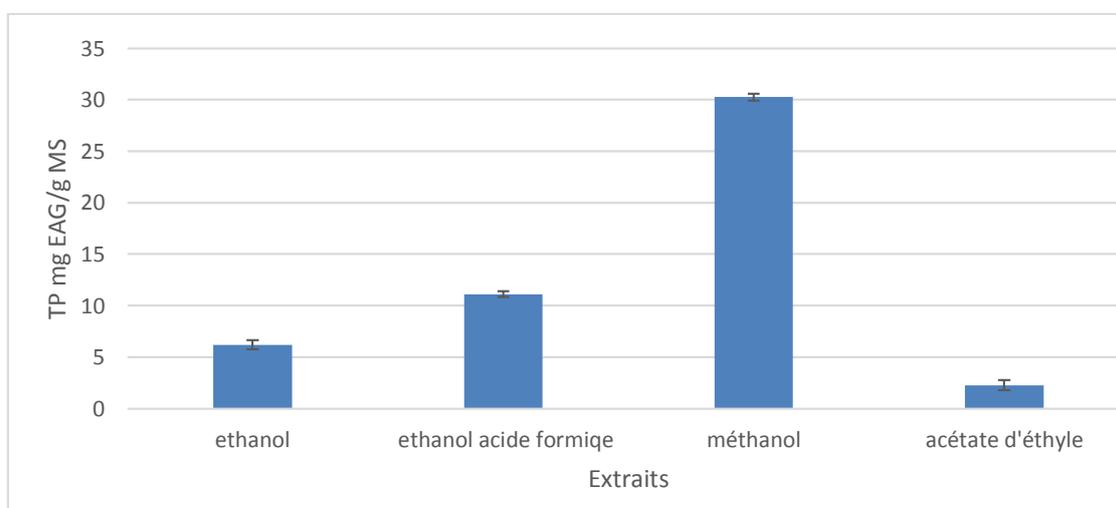


Figure 21 : Diagramme représentant la teneur en polyphénols totaux des quatre extraits.

D'après les résultats obtenus (Figure 20 et Tableau VII), nous constatons que les polyphénols sont présents dans les quatre fractions avec des teneurs variables d'un extrait à un autre. Cependant, il apparaît clairement que c'est l'extrait méthanolique qui a donné la teneur en polyphénols totaux la plus élevée avec 30.25 ± 0.35 mg EAG/g MS, suivi par les extraits éthanoliques et éthanol additionné d'acide formique, avec des teneurs de 6.2 ± 0.45 mg EAG/g MS et de 11.1125 ± 0.30 mg EAG /g MS, respectivement. L'extrait d'acétate d'éthyle a donné la plus basse teneur en polyphénols totaux, de l'ordre de 2.275 ± 0.51 mg EAG /g MS.

Yizhong et al. (2003), ont démontré que l'éthanol est le meilleur solvant d'extraction de certaines plantes de la famille des Astéracées ; ils ont obtenu des teneurs qui varient de 1.94 à 3.74g EAG /g d'extrait. Ces résultats sont largement supérieurs à ceux que nous avons obtenus dans notre étude avec l'extrait éthanolique. Tawaha et al. (2007), ont obtenu à leur tour des teneurs en composés phénoliques des extraits méthanoliques d'*Artemisia herba alba* de l'ordre de 3.463g EAG/g MS ; ces valeurs étant également largement supérieures par rapport à nos résultats.

Les teneurs en polyphénols diffèrent d'une étude à une autre. Cela est probablement dû à différents facteurs comme la complexité de ces composés, la variété des plantes (différentes familles), le type et la concentration du solvant, la différence de la période et la région de récolte.

Par ailleurs, l'addition d'acide formique à l'éthanol dans le solvant préparé a augmenté son pouvoir extractant. Ces résultats sont en accord avec ceux de Bourgou, (2016) et ceux de plusieurs auteurs qui ont révélé que les solvants mixtes sont très efficaces pour extraire les polyphénols. Selon Mohammedi et Atik (2011), l'utilisation de solvants mixtes comme le méthanol/acide formique aboutit à un fort enrichissement des extraits en polyphénols. La supériorité des solvants mixtes seraient dues à l'augmentation de la solubilité des composés phénoliques dans les extraits obtenus par des solvants mixtes comparés à ceux obtenus par des solvants purs comme l'extrait à l'acétate d'éthyle (Trabelsi et al., 2010). La macération et le soxhlet sont considérés comme étant des méthodes conventionnelles d'extraction des composés phénoliques approuvées par divers auteurs pour leurs efficacités (Liu et al., 2013).

3. Activité antioxydante

La mise en évidence du pouvoir antioxydant des extraits phénoliques de la plante étudiée a été réalisée par trois techniques chimiques : la réduction du fer (FRAP), le piégeage du radical libre DPPH, le piégeage du radical ABTS.

a. Test DPPH

L'évaluation de l'activité antioxydante des différents extraits vis-à-vis du radical DPPH, H est exprimée par la concentration inhibitrice à 50% (IC50) qui correspond à la concentration des polyphénols nécessaire pour inhiber ou réduire 50% de la concentration initiale du DPPH• (Villano et al., 2007). Ce dernier est inversement proportionnel à l'activité anti-radicalaire. Tous les IC50 sont calculés à partir de l'équation de régression linéaire des pourcentages d'inhibition en fonction de la concentration des composés phénoliques présents dans les différents extraits testés (Annexe 5, 6, 7 et 8). Les valeurs des concentrations des IC50 sont rapportées dans le (Tableau VIII).

Tableau VIII: Les valeurs de l'IC50 calculées à partir des courbes d'étalonnage.

Extrait et standards	Concentration des IC50 (µg /mL)
Extrait éthanolique	84.7±2.33
Extrait méthanolique	41.025±1.94
Extrait éthanolique + acide formique	140.445±0.55
Extrait acétate d'éthyle	8.965±0.12
Acide ascorbique	86.65

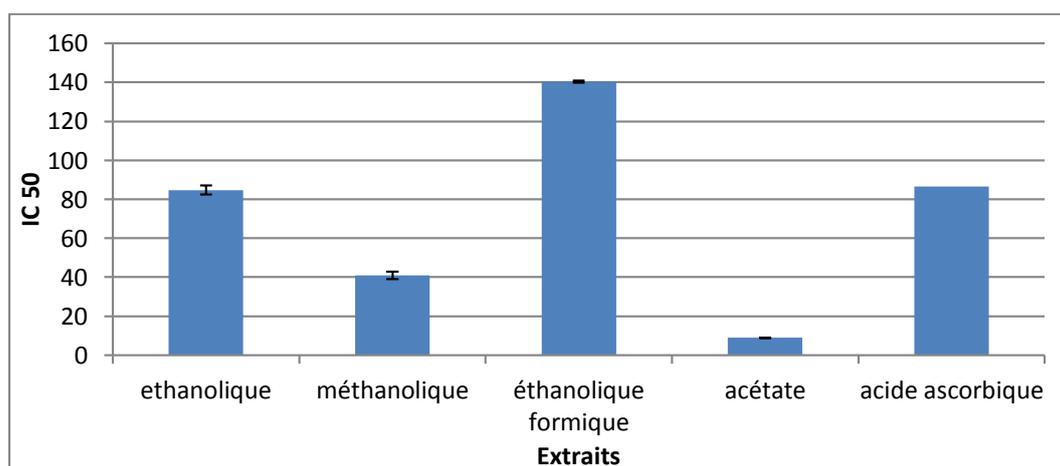


Figure 22: Diagramme représentant l'IC50 des différents extraits.

Le test de DPPH a permis de mettre en évidence une activité antioxydante appréciable de la plante étudiée. Cette activité dépasse pour certains extraits (éthanolique, méthanolique et l'acétate d'éthyle) l'activité de l'acide ascorbique, considéré comme un puissant antioxydant. On constate également que l'ensemble des extraits renferment des propriétés antiradicalaires

intéressantes qui se manifestent avec des valeurs faibles des IC₅₀, dues à leurs capacités de céder des électrons pour réduire le radical DPPH.

Toutes les valeurs des IC₅₀ des différents extraits (éthanolique, méthanolique, et acétate d'éthyle) sont inférieures à celles marquées par l'acide ascorbique (86.65µg/mL). Ceci montre que tous les extraits ont une capacité réductrice supérieure de l'acide ascorbique à l'exception de l'extrait éthanolique additionné à l'acide formique qui a une valeur supérieure à celle du standard (140.445µg /mL) donc il présente une faible activité (Figure21).

Les écarts entre les IC₅₀ des différents extraits sont probablement liés à la différence du profil phénolique qui varie en fonction de l'extrait, de la méthode d'extraction des composés phénoliques et de la polarité des solvants utilisés. Akrouf et al. (2011) ont étudié l'activité antioxydante de trois extraits d'*Artemisia campestris*, une plante appartenant à la famille des Astéracées, et ont trouvé une valeur d'IC₅₀ de 2053µg / mL pour l'extrait éthanolique, cette valeur est relativement très faible si elle est comparée à celle de notre extrait éthanolique qui a donné une valeur de 84.7±2.33µg/mL. De plus, l'extrait d'acétate d'éthyle, selon akrouf et al. (2011), a montré une faible activité antioxydante comparée à notre extrait qui présente une forte activité antioxydante.

Cette bonne activité antioxydante de l'extrait d'acétate d'éthyle peut être expliquée par la nature des composés phénoliques qui sont des acides phénoliques tels que l'acide gallique et ses dérivés et les flavonoïdes.

b. Test ABTS

L'évaluation de l'activité antioxydante des différents extraits vis-à-vis du radical ABTS est exprimée par la concentration inhibitrice à 50% (IC₅₀). Elle est calculée à partir de l'équation de régression linéaire des pourcentages d'inhibition en fonction de la concentration des composés phénoliques testés (Annexe 1, 2, 3 et 4). Les valeurs des concentrations des IC₅₀ sont rapportées dans le (Tableau IX).

Tableau IX: Les valeurs des IC50 calculées à partir des courbes d'étalonnage.

Extraits et standards	Concentration des IC50 ($\mu\text{g /mL}$)
Extrait éthanolique	28.88 \pm 0.021
Extrait méthanolique	46.32 \pm 1.124
Extrait éthanolique + acide formique	88.505 \pm 1.54
Extrait acétate d'éthyle	30.875 \pm 1.025
Acide ascorbique	14.49

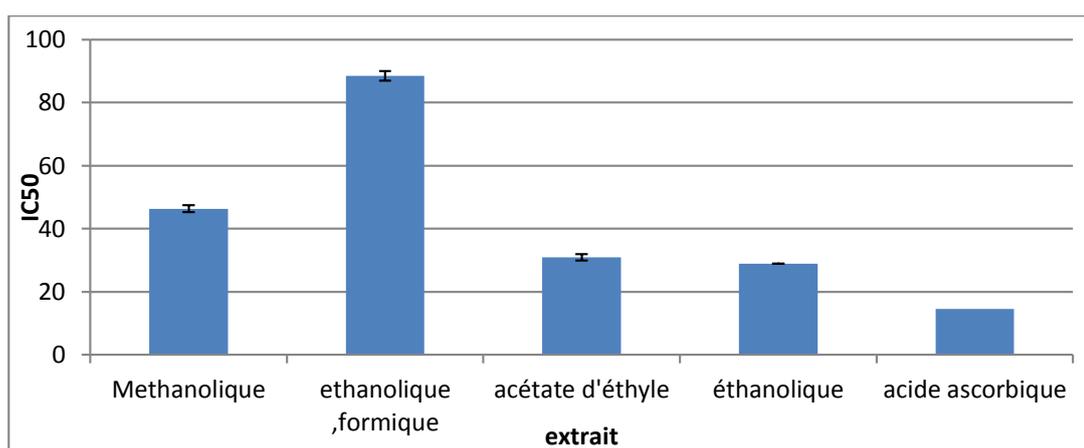


Figure 23: Diagramme représentant les IC50 des différents extraits

D'après les résultats obtenus (Tableau IX et Figure 22), toutes les valeurs des IC50 des différents extraits (éthanoliques, méthanolique et d'acétate d'éthyle) sont supérieures à celles marquées par l'acide ascorbique (14.49 $\mu\text{g/mL}$). Ceci montre que tous les extraits (éthanoliques, méthanolique et d'acétate d'éthyle) ont une capacité réductrice modérée par rapport à celle de l'acide ascorbique à l'exception de l'extrait éthanolique additionné à l'acide formique qui a un pouvoir antioxydant plus ou moins faible comparé à celle du standard avec une valeur de (88.505 $\mu\text{g/mL}$).

En effet, plusieurs études ont montré que les groupements hydroxyles dans les composés phénoliques sont responsables de leur pouvoir antioxydant (Heim et al., 2002). Beretta et al. (2005) et Blasa et al. (2007) ont montré que la variation de l'activité antioxydante est due à la qualité et à la quantité des composés phénoliques responsables de cette activité.

c. Test FRAP

Pour comparer entre les activités des différents extraits, nous avons déterminé graphiquement le $PR_{0.5}$ à partir des équations de régression de la densité optique en fonction de la concentration des extraits (Annexe 9, 10, 11 et 12) ; qui est définie comme la concentration d'un composé en $\mu\text{g/mL}$ qui donne une densité optique de 0,5 à 700nm, qui est inversement proportionnelle au pouvoir réducteur (Ardestani et Yazdanparast, 2007). Les valeurs des concentrations des $PR_{0.5}$ sont rapportées dans le (Tableau 09).

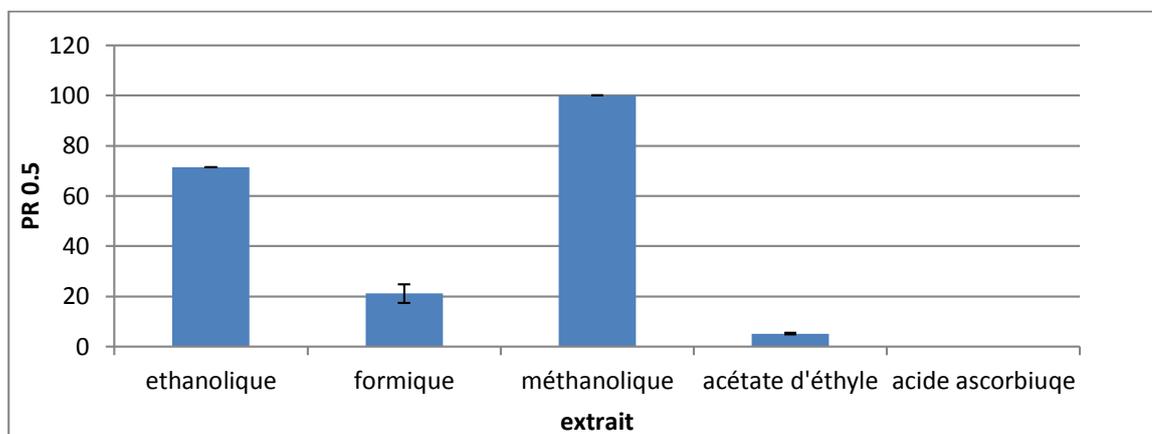


Figure 24: Diagramme représentant le $PR_{0.5}$ en fonction des différents extraits.

Tableau X: Les valeurs des $PR_{0.5}$ des différents extraits calculés à partir des courbes d'étalonnage.

Extraits et standards	Concentration de 0.5 ($\mu\text{g/mL}$)
Extrait éthanolique	71.42±0
Extrait méthanolique	100±0
Extrait éthanolique + acide formique	21.15±3.740
Extrait acétate d'éthyle	5.18±0.26
Acide ascorbique	0.019

D'après le (Tableau X et la Figures 23), on remarque que tous les extraits possèdent un potentiel réducteur inférieur à celui du standard déterminé par des valeurs de $PR_{0.5}$ supérieures à celle de l'acide ascorbique ($0.019\mu\text{g/mL}$). Il apparaît clairement que les différents extraits présentent des valeurs de pouvoir réducteur variables. On pourrait expliquer cet écart par la variation des composés phénoliques présents dans chaque extrait.

Le pouvoir réducteur de ces quatre extraits est dû à la présence des polyphénols et de groupement hydroxyle dans les composés phénoliques qui peuvent servir comme donneur d'électron. Par conséquent, les antioxydants peuvent être considérés comme des réducteurs et inactivateurs des oxydants (Siddhuraju et Becker, 2007). Quelques études antérieures ont également montré que le pouvoir réducteur d'un composé peut servir comme indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle (Jeong et al.,2004).

La nature et la concentration des antioxydants contrôlent l'intensité du pouvoir réducteur ; la position et le nombre d'hydroxylations interviennent dans cette propriété. Selon Mc Donald et al. (2001), la présence de composés *O*-diphénols (acide gallique, acide caféique) augmente la capacité antioxydante en améliorant la stabilité du radical phenoxy.

4. Etude statistique

- **Corrélation entre le pouvoir antiradicalaire DPPH/ABTS et le pouvoir réducteur (FRAP)**

Afin d'évaluer l'activité antioxydante des différents extraits, trois tests ont été utilisés, à savoir le test DPPH, ABTS et FRAP. Ces trois tests sont basés sur les propriétés redox des antioxydants présents dans les différents extraits étudiés. Pour déterminer la relation existante entre ces trois tests, nous avons procédé au test de régression linéaire qui repose sur l'évaluation de la force de la liaison existante entre deux variables quantitatives, mesurable par le coefficient de corrélation linéaire R.

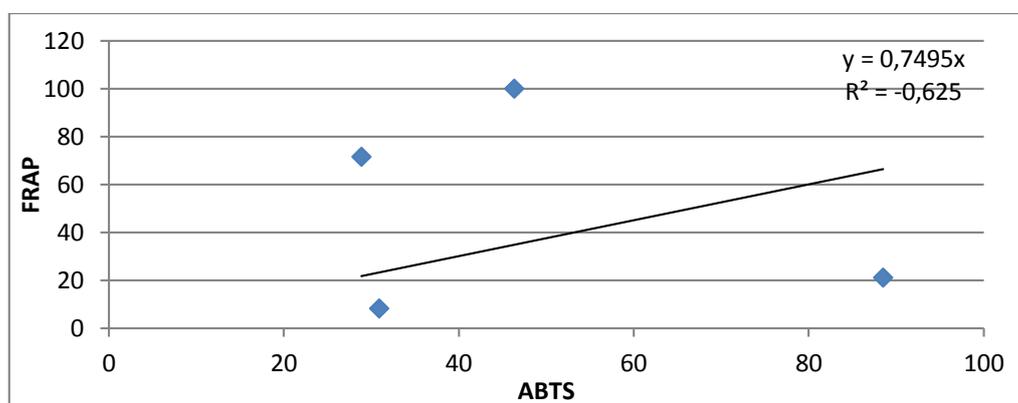


Figure 25: Corrélation entre le pouvoir antiradicalaire ABTS et le pouvoir réducteur.

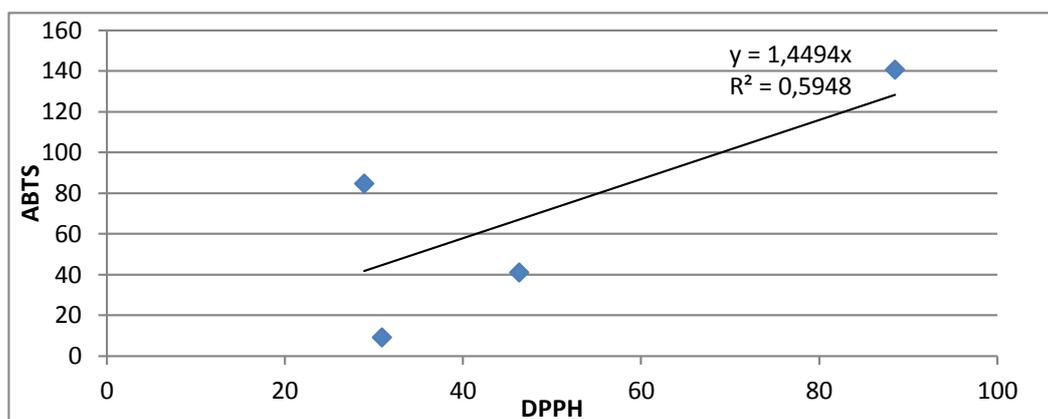


Figure 26: Corrélation entre le pouvoir antiradicalaire ABTS et DPPH.

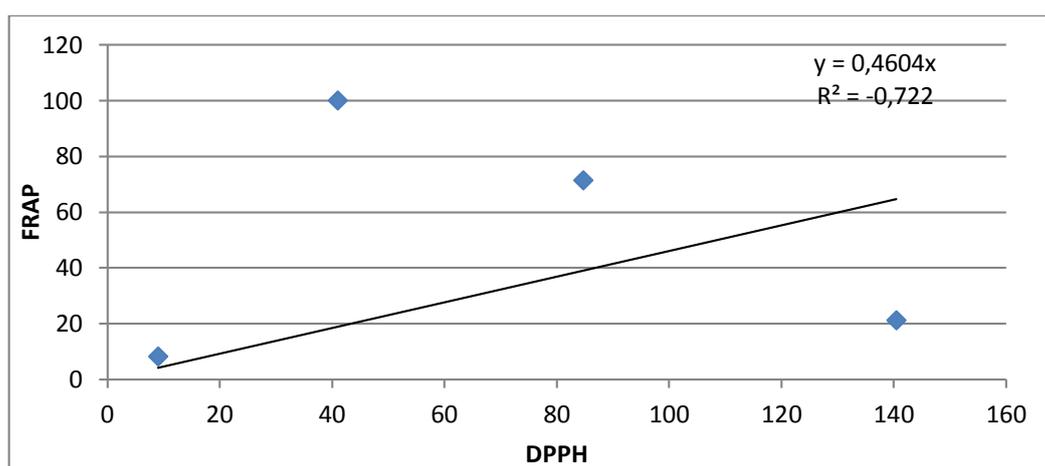


Figure 27: Corrélation entre le pouvoir antiradicalaire DPPH et le pouvoir réducteur.

Les matrices de corrélations démontrés révèlent l'existence d'une corrélation moyenne entre le DPPH et l'ABTS avec un $r^2=0.594$ (Figure 25). Cependant une corrélation négative a été obtenue avec le pouvoir réducteur FRAP et le DPPH avec un $r^2=-0.72$ (Figure 26), et même entre le pouvoir réducteur FRAP et ABTS avec un $r^2=-0.625$ (Figure 24).

Pour les extraits de plante, leur capacité à céder le proton ou l'électron pour exprimer les propriétés antioxydantes est différente. Ce résultat a été corroboré par Miliauskas et al. (2004) qui ont montré, qu'un antioxydant efficace dans un test n'est pas forcément efficace dans un autre. D'autre part, les activités antioxydantes sont plus variables dans les espèces de la plante (inter-espèce) que dans la même espèces (intra-espèce) (Ksouri et al., 2008).

La seule explication de l'absence de cette corrélation est dû à la synergie des composés phénoliques dans les différents extraits (Rice-Evans et al., 1997) et au fait que l'activité antioxydante dépend non seulement de la concentration mais aussi de la structure de ces molécules. Diverses études ont déterminé expérimentalement les capacités des extraits

naturels à piéger les radicaux libres. Cette activité dépend d'un certain nombre de paramètres tels que la dose, la structure, les substituants et le degré de polymérisation de la molécule (Kitagawa et al., 1992).

5. Activité antimicrobienne

Les résultats de la présente étude montrent que les souches bactériennes *E. coli*, *S. aureus* et *P. aeruginosa* (Annexe16), ne présentent pas de sensibilité vis-à-vis des différents extraits phénoliques des feuilles et tiges d'*H. echinoides* ; tandis que les antibiotiques testés se sont révélés très efficaces avec des diamètres d'inhibition variable. Les témoins négatifs, le DMSO et les solvants utilisés, n'ont exercé aucune activité inhibitrice.

Ces résultats sont plutôt surprenants, étant donné les teneurs considérables en polyphénols que renferme notre plante. De plus, une étude similaire a été réalisée par Babouri et Chaiani (2018) et dans laquelle ils ont obtenus des résultats positifs avec les extraits phénoliques de la partie aérienne d'*H. echinoides* vis-à-vis de ces mêmes souches bactériennes. Cette différence pourrait s'expliquer par la région dans laquelle la plante a été cultivée, notamment par la différence des conditions climatiques et la nature du sol ainsi que par la période de récolte. En effet, notre plante a été récoltée début Mars, tandis que celle de la précédente étude a été récoltée au mois d'Avril et au mois de Mai ; sachant qu'un climat printanier est nécessaire au développement et à la maturation des plantes de la famille des Astéracées, où la floraison se fait au mois d'Avril, Juin et Juillet. On pourrait donc penser que la présence ou l'absence de la fleur ainsi que le stade de maturation de la plante a pu jouer un rôle déterminant dans l'activité antibactérienne comme cela a été rapporté dans certaines études (Satrani et al., 2007 ; Elharas et al., 2013). En outre, la méthode de dosage, la sensibilité et la pureté des réactifs ainsi que la polarité des solvants utilisés, auraient pu également avoir une influence sur cette activité.

Par ailleurs, l'étude de l'activité antibactérienne de *Chromolaena odorata*, appartenant à la famille des Astéracées, a montré que les extraits de cette plante ont une activité marquée sur *S. aureus* et *E. coli*. La même étude rapporte également que les extraits des feuilles de *Tridax procumbens*, appartenant aux Astéracées également, ont inhibé *S. aureus* à près de 98% et *E. coli* à près de 70% (Agban et al., 2013). D'autres auteurs, à partir des extraits méthanolique et à l'acétate d'éthyle de feuilles de *T. Procumbens* récoltés en Inde, ont aussi montré une activité antimicrobienne significative sur *S. aureus*, *E. coli* et d'autres bactéries comme *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi* et *Bacillus cereus* (Bharathi et al., 2012). Pai et al. (2011), ont montré aussi que la plupart des bactéries, source d'infections

nosocomiales, sont sensibles à l'activité inhibitrice des extraits aqueux et éthanolique de *T. procumbens*. Irobi (1997), a montré que les extraits éthanoliques des écorces de racines de *C. odorata* ont une activité antibactérienne très élevée sur *S. aureus*, sur *E. coli*, *Pseudomonas* sp, *Streptococcus faecalis*, *Klebsiella* sp, *Bacillus stearothermophilus* et *Bacillus thuringiensis*.

Les extraits phénoliques des feuilles et tiges d'*H. echioides* n'ont montré aucune inhibition de la croissance des souches fongiques testées. Pourtant, les travaux réalisés par Babouri et Chaiani (2018) ont montré que notre plante était riche en cétones, comme l'a démontré l'analyse spectroscopique IR, réputés pour leurs activités antifongiques et parasitaires (Leray, 2010).

Par ailleurs, l'évaluation de l'activité antifongique des extraits aqueux des feuilles de *C. odorata*, ont montré une inhibition *in vitro* de la croissance de *Cryptococcus neoformans*, *Microsporium gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes* et *Trichophyton rubrum*. En outre, l'évaluation de l'activité antifongique d'*Artemisia mesatlantica*, a montré une activité inhibitrice contre *Aspergillus niger* et *Penicillium expansum*, réalisés sur la plante *Artemisia campestris* (Ngono Ngane, 2006 ; Bencheqroun et al., 2012).

Toutes ces études tendent à confirmer le potentiel antimicrobien des plantes appartenant à la famille des Astéracées.

Conclusion et perspectives

Le présent travail est consacré à l'évaluation des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes des extraits phénoliques de la picris fausse vipérine, *Helminthotheca echioides*, récoltée dans la région d'*Azib Ahmed* en Mars 2019.

L'extraction des polyphénols de la partie aérienne de la plante, a permis d'obtenir des rendements qui diffèrent en fonction des solvants utilisés (éthanol, méthanol et acétate d'éthyle), même si la teneur en composés phénoliques était conséquente.

L'évaluation de l'activité antioxydante des différents extraits phénoliques d'*H. echioides* en utilisant la méthode de piégeage du radical libre DPPH, a montré que ce dernier est efficacement inhibé par les extraits testés. En effet, la capacité antioxydante la plus élevée a été observée dans les extraits les plus polaires, il s'agit en occurrence du méthanol et de l'acétate d'éthyle. Pour le test de réduction du radical libre ABTS, l'activité antiradicalaire est élevée dans l'extrait le plus polaire (extrait éthanolique). Cependant, cette activité est faible pour les deux autres extraits, méthanoliques et éthanoliques additionnés d'acide formique.

En ce qui concerne l'activité antimicrobienne, les résultats obtenus indiquent que les quatre extraits n'exercent aucune activité inhibitrice vis-à-vis des souches bactériennes et fongiques testées. Néanmoins, les activités antimicrobiennes obtenues à partir de cette même plante dans des études antérieures, nous encouragent à approfondir cette partie de notre étude, afin d'envisager des perspectives d'application de cette plante comme agent de bioconservation ou tout simplement en thérapeutique.

Notre travail n'est qu'une étude préliminaire sur les innombrables propriétés que peut renfermer cette plante, et les résultats obtenus semblent encourageants. Pour la suite de ce travail, nous pouvons envisager quelques perspectives :

- Etendre l'éventail des tests antioxydants ainsi que l'isolement et la caractérisation des composés actifs, en vue d'identifier les différentes molécules responsables des différentes activités biologiques de cette plante ;
- Elargir l'étude sur d'autres parties de la plante (racines et fleurs) ;
- Extraire et doser les flavonoïdes ;
- Extraire les Huiles Essentielles.

Références bibliographiques

- **Agban A., Gbogbo K A., Amana EK., Tegueni K., Batawila K., Koumaglo K., Akpagana K. (2013).** Évaluation des activités antimicrobiennes de *Tridaxprocumbens* (asteraceae), *Jatropha multifida* (euphorbiaceae) et de *Chromolaena odorata* (asteraceae). *Science européenne*. J, 9 (36) : 278-290.
- **Ait youcef M. (2006).** Plantes médicinales de kabylie. Édition Ibis press .349p.
- **Akharaiyi F. C., et Boboye B., (2010).** *Journal national*. Prod. (3) : 27-34.
- **Akrout A., Gonzalez L A., El Jani H J., Madrid P.C. (2011).** Activités antioxydantes et antitumorales d'*Artemisiacampestris* et de *Thymelaeahirsuta* du sud de la Tunisie. *Chimie alimentaire*. Tox. (49): 342–347.
- **Allane T., Benamara S. (2010).** Activités antioxydantes de quelques fruits communs et sauvages d'Algérie. *Phytothérapie*, 8 (3), 171-175.
- **Al-Mamary M., Al-Meerri A., Al-Habori M. (2002).** Activités anti-oxydantes et composés phénoliques totaux de différents types de miel. *Recherche en nutrition*, (22) : 1041-1047.
- **André R. (1998).** La maladie de parkinson. Ed. Masson. 16-19.
- **Anonyme K. (2001).** Encyclopédie des plantes médicinales. Identification, préparation, soins. Larousse, Paris, France p : 336.
- **Ansari F., Erntell M., Goossens H., Davey P. (2006).** Surveillance européenne de la consommation d'antimicrobiens (ESAC), Enquête ponctuelle sur l'utilisation d'antimicrobiens dans les hôpitaux européens.15 ; 49 (10) : 1496-504.
- **Ardestani A., et Yazdanparast R. (2007).** Potentiel antioxydant et piégeant les radicaux libres des extraits d'*Achilleasantolina*. (104) : 21-29
- **Ardestani A., Yazdanparast R. (2007).** Potentiel de dégagement d'antioxydant et d'absence de radical aromatique d'extrait d'*Achilleasantolina*, (104) : 21-29
- **Arous S. (2014).** Etude phytochimique et évaluation de l'activité antiradicalaire des extraits de *Fredolia aretioides*.
- **Athamena S. (2009).** Etude quantitative des flavonoïdes des graines de *cuminumcyminum* et les feuilles de *rosmarinus officinalis* et l'évaluation de l'activité biologique, mémoire magister, université el-hadjlakhdar-batna.
- **Aurousseau B. (2002).** "Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage : conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits." *Productions Animales*, 15(1) : 67-82.
- **Vather R. (2006).** Héritage d'un antioxydant chez une cassis de nouvelle –Zélande.

- **Babouri K., Chaiani H. (2018).** Evaluation de l'activité antimicrobienne de plante *Helminthotheca echioides*.
- **Badeau M. (2006).** Effets d'un antioxydant, le tempol, sur les actions métaboliques et vasculaires de l'insuline chez le rat insulino-résistant avec un surplus de poids. Effets de l'insuline sur le transport du glucose dans le muscle squelettique, la réactivité vasculaire, l'expression des protéines eNOS, le stress oxydatif et les effets hémodynamiques régionaux, Université Laval.
- **Barreda K., Luis P., Maria C T., Eduardo B O., Ian R., Félix F., Viviana D. (2015).** Evolution précoce du clade d'angiospermes Asteraceae dans le Crétacé de l'Antarctique. *112 (35): 10989-10994.*
- **Bautista-Banos S., Barrera-Necha L., Bravo-Luna I., Bermudes-Torres L. (2002).** Activité antifongique d'extraits de feuilles et de tiges de diverses espèces de plantes sur l'incidence de *Colletotrichum loesporeoides* de papaye et de mangoier après stockage. *Examen Mex Fitopatol 20 : 8-12.*
- **Beckman K. B., Ames B. N. (1998).** La théorie des radicaux libres du vieillissement mûrit. *Examen physiologique. (78) : 574-581.*
- **Benaissa O. (2011).** Etude des métabolismes terpéniques et flavoniques d'espèces de la famille des composées, genres *Chrysanthemum* et *Rhantherium*. *Activité Biologique, Thèse Doctorat, université Mentouri Constantine. 63p.*
- **Bénard J., Moreau J., Lelong P., and Herenguel J. (1964).** L'oxydation des métaux : Gauthier-Villars Paris.
- **Bencheqroun H K., Ghanmi M., Satrani B. (2012).** Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Artemisia atlantica*, plante endémique du Maroc. *Bulletin de la société royale\$, (81) : 4-21.*
- **Beretta G., Granata P., Ferrero M., Orioli M., Facino R.M., (2005).** Normalisation des propriétés antioxydantes du miel par une combinaison d'essais spectrophotométriques / fluorométriques et de chimométrie. *Anal. Chimie analytique, (533) 180-191.*
- **Berger M., Que Y. (2009).** Traitement nutritionnel du grand brûlé." *Réanimation, 18(8), 694-701.*
- **Bernard B. (1988).** Dictionnaire de botanique. Ellipse. 398 p.
- **Biyiti L F., Meko J L., Tamze V.(2004).** Recherche De l'Activité Antibactérienne De quatre Plante Médicinales Camérounaises. *Pharmacie traditionnelle. Médecine d'Afrique, (13) :11-20.*

- **Blasa M., Candiracci M., Accorsi A., Piacentini M P., Piatti E. (2007).** Les flavonoïdes au miel comme agents de protection contre les dommages oxydatifs des globules rouges humains. *Chimie alimentaire*, (104): 1635-1640.
- **Boari B., Maria C., Francesco D., Bernardo P., Francesco S. (2013).** Nourriture internationale
- **Bogs J., Downey M O., Harvey J S., Ashton A R., Tanner G J., Robinson S P. (2005).** Synthèse De Proanthocyanidine Et Expression De Gènes Codant Leucoanthocyanidine Réductase Et Anthocyanidine Réductase Dans Les Baies De Vigne En Développement Et Les Feuilles De Vigne. *Société américaine des biologistes des plantes*, 139 : 652-663.
- **Bourgou S., Ksouri R., Skandranf I., Chekir-Ghedira L., Marzouk., B. (2008).** Activités antioxydantes et antimutagènes de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique de tunisiannigellasativa L. (*ranunculaceae*). *Journal italien des sciences de l'alimentation*, (20): 191-201.
- **Boutaghane N. (2013).** Etude phytochimique et pharmacologique de plantes médicinales Algériennes *Genista ulicina* Spach (*Fabaceae*) et *Chrysanthemum macrocarpum* (et Kralik ex Batt (*Asteraceae*)). Thèse doctorat : Pharmaco-chimie. Constantine : Université de Constantine, 158 p.
- **Boyd B., Ford C., Koepke M., Gary K., Hom E., Analley S., and Analley B (2003).** Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose sur des personnes en bonne santé. *Glycoscience et Nutrition*, 4 (6): 7.
- **Brand W., Cuvelier W., Berset C. (1995).** Utilisation de la méthode des radicaux libres pour évaluer l'activité antioxydante. *Technologie*, (28): 25–30.
- **Bremer K. (1994).** Cladistique et classification des astéracées. Portland, Oregon : Presse sur le bois. 752 p.
- **Bruneton J. (2009).** Pharmacognosie : Phytochimie, plantes médicinales, 4^{ème} édition de médicales internationales (Tec et Doc), Paris : 1288.
- **Bssaibis F. (2009).** Activité Antimicrobienne De *Dittrichia Viscosa* L; *Revu. Microbien. Environnement*, 3(1) :44-45.
- **Chaabi M. (2008).** Etude phytochimique et biologique d'espèces végétales africaines, diplôme de doctorat en Pharmacognosie. P168, 169.
- **Chanwitheesuk A., Teerawutgulrag A., Kilburn J.D., Rakariyatham N. (2007).** Acide gallic, antimicrobien . *Chimie alimentaire*. 100 : 1044-1048.
- **Coffi R., Philippe E T., Zannou I. (2012).** Efficacité des composés métabolites secondaire extrait des Foliolles du Palemier à l'Huile Contre Les larves De La Mineuse Des

Feuilles, *Coelaenomenodera La eensis* (Coleoptera :Chrysomelidae) Bulletin De La Recherche Agronomique Du Bénin (BRAB) Numéro Spécial Productions Végétales et Sociologie Rurales.

- **Cotelle N. (2001).** Rôle des flavonoïdes dans le stress oxydatif. *Chimie médicinale*. (1) : 569-590.
- **Cowan M. (1999).** Produits végétaux comme agents antimicrobiens. *Microbiologie clinique*. 12 (4): 564-582.
- **Crozier A., Clifford M N., Ashihara H. (2006).** Métabolites secondaires de la plante : occurrence, structure et rôle dans le régime humain, 372p.
- **Curtay J P., Robin J M. (2000).** Intérêt des complexes antioxydants. Centre d'Etude et de Développement de la Nutrithérapie. Octobre 2000 *Nutrithérapie*, 1-4.
- **Daisie. (2015).** Fournir Des Inventaires D'espèces Exotiques Envahissantes Pour l'europe. Passerelles Européenne De Espèces Exotiques Envahissantes
- **Delattre J., Beaudoux J L., Bonnefont-Rousselot D. (2005).** "Radicaux libres et stress oxydant (aspects biologiques et pathologiques)."
- **Dellil L. (2007).** Plantes médicinales en Algérie. Editions Berti, France, p : 240.
- **Delmas D., Rebé C., Lacour S., Filomenko R., Athias A., Gambert P., Malki, (2006).** Aspects moléculaires de la médecine 27 (1) : 1-93.
- **Devasagayam T B., Tilak J C., Boloor K., Sane K S., Ghaskadbi S S., Lele R D. (2004).** Radicaux libres et antioxydants dans la santé humaine : état actuel et perspectives d'avenir. *JAPI* (52) : 794-804.
- **Diallo D., Sanogo R., Yasambou H., Traore A., Coulibaly K., Maiga A. (2004).** Etude sur les constituants du *Ziziphysmauritanica* Lam. (Rhamnaceae), utilisé traditionnellement pour traiter le diabète au Mali, (7) : 1073-1080.
- **Dibong S D., Mpondo E., Ngoye A., Kwin M F., Betti J L. (2011).** Ethnobotanique et phytomédecine des plantes médicinales de Douala, Cameroun, *Journal*, 37 : 2496 – 2507.
- **Ebrahimzadeh M A., Nabavi S M., Nabavi S F. (2010).** Activités biologiques de *MenthaSpicata* L. *Pharmacology en ligne* 1 : 841-848.
- **Ebrahimzadehm A., NabavisF., MahmoudiM., EslamiB., Dehpoura A. (2010).** Effets biologiques et pharmacologiques du *delphinium melbursense*. *Journal africain de biotechnologie*, 9 (34) : 5542-5549.
- **El oualilalami A., El-Akhal F., Ouedrhiri W., OuazzaniChahid F., Guemmouh R., Greche H. (2013).** Composition chimique et activité antibactérienne des huiles

essentielles de deux plantes aromatiques du centre nord marocain : *Thymus vulagris* et *Thymus satureioidis* les technologies de laboratoire, Volume 8, N°31.

- **Elharas K., Daagare A., Mesifioui A., Ouhssine M. (2013).** « Activité antibactérienne de l'huile essentielle des inflorescences de *Laurusnobilis* et *LavandulaAngustifolia*. *Afrique science*, 9(2) :134-141.
- **Epifano F., Genovese S., Menghini L., Curini M. (2007).** Chimie et pharmacologie des métabolites secondaires de plantes oxyprénylés. *Phytochimie* (68): 939 - 953.
- **Favier A. (1997).** Le stress oxydant : intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur.Présenté aux Annales de biologie clinique.Effet des méthodes de cuisson sur l'activité antioxydante et la teneur en nitrates de certaines plantes méditerranéennes sauvages Francesca.
- **Favier A. (2006).** Stress Oxydant et pathologies humaines, *Annales de pharmacothérapie Journal SAGE*, (64) : 390-396.
- **Ferguson L R. (2001).** Rôle des polyphénols végétaux dans la stabilité génomique. *Mécanismes fondamentaux et moléculaires de la mutagenèse*, (475) : 89-111.
- **Fontaine E., Barnoud D., Schwebel C., Leverve X. (2002).** Place des antioxydants dans la nutrition du patient septique. *Réanimation*, (11) : 411.
- **Fuhrman B., Lavy A., Aviram M. (1995).** La consommation de vin rouge au cours des repas réduit la sensibilité du plasma humain et des lipoprotéines de faible densité à la peroxydation des lipides.
- **Fuhrman B., Lavy A., Aviram M. (1995).** La consommation de vin rouge au cours des repas réduit la sensibilité du plasma humain et des lipoprotéines de faible densité à la peroxydation des lipides. *Nutrition alimentaire*. (61) : 549-554.
- **Gaussen H., Leroy F. (1982).** Précis de botanique (végétaux supérieurs). France : Elsevier Masson. 592 p.
- **Greuter. (2006) Composition (Pro Parte Major).** La Ressource d'Information Pour La Diversité Végétale Euro-Méditerranéenne.
- **Guillaume J. (2008).** Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master Biochimie et moléculaire ; Thème, Etude phytochimique et activités biologiques d'une plante médicinale : *Euphorbiacharacias L.*
- **Halliwell B. (1994).** Radicaux libre et antioxydants. *Examen de nutrition*, (52) :253-265.
- **Hannan A., Karan S., Chatterjee T K A. (2012).** Etude comparative de l'activité antioxydante in vitro de différents extraits de graines d'arec recueillies à partir de la plante

Areca Catechu cultivée à Assam. Journal international de pharmacie et des sciences pharmaceutiques, 4 (2) : 420-427.

- **Harborne J B., Williams C A. (2000).** Progrès en recherche de flavonoïde depuis 1992. Phytochimie. (55): 481 à 504.
- **Harkati B. (2011).** Valorisation et identification structurale des principes actifs de la plante de la famille Asteraceae : Scorzonera undulata. Thèse doctorat : Chimie organique : Constantine : Université de Mentouri Constantine, 4-5.
- **Hartmann T. (2007).** Des déchets aux produits écochimiques: cinquante années de recherche sur le métabolisme secondaire des plantes. Phytochimie. P (68), 2831-2846.
- **Heim E. K., Tagliaferro A R., Bobilya D J. (2002).** Flavonoïdes antioxydants : chimie ; les relations métabolisme et structure-activité. Le journal de Nutrition Biochimique, (13) : 572 - 584.
- **Heller W., Forkmann G. (1993).** Biosynthèse des flavonoïdes. Chapman and Hall, Londres: 499-535.
- **Hennebelle T., Sahpaz S., Bailleul. (2004).** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. Phytothérapie (1):3-6.
- **Holderness J., Hedges J F., Daughenbaugh K., Kimmel E., Graff J., Freedman B., Jutila M A. (2008).** Réponse des lymphocytes T aux tanins d'origine végétale, 28 (5): 377-402.
- **Holub. (1973).** Contribution à la taxonomie et à la nomenclature de *Leuzea conifera* DC. Et *Rhaponticum auct* – *Folia Geobotanica*. Phytotaxonomie. 8: 377-395.
- **holzapfel S. (1994).** Une révision du genre *Picris* (Asteraceae, Lactuceae). En Australie. *Willdenowia*, (24): 97-217.
- **Holzapfel S. et Lack H W. (1993).** Nouvelle espèce de *picris* (Asteraceae, Lactuceae) d'Australie. *Willdenowia*, 23: 181-191.
- **Hopkins W G. (2003).** Physiologie végétale. 2ème édition américaine, de Boeck et Lancier S A, Paris: 514.
- **Hostettmann K., Hostettmann A., Marston J.-L. (1995).** Phytochimie des plantes utilisées en médecine traditionnelle, Clarendon Press, Oxford. Composés d'acide hydrocinnamique. *Journal de la chimie agricole et alimentaire*, (45): 2374–2378.
- **Irobi O N. (1997).** Propriétés antibiotiques de l'éthanol extrait de *Chromolaena odorata* (Asteraceae). *Revue internationale de recherche en pharmacognosie et phytothérapie*, (35): 111-115.

- **Iserin P., Masson M., Restellini J. P., Ybert E., Moulard F., Zha E., De la roque R., De la roque O., VICAN P., Deelesalle T., Biaujeaud M., Ringuet J., Bloth J., Botrel A., (2001).** La rousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins. 2ème édition de VUEF, Hong Kong: 335.
- **Jayasena T., Poljakb A., Smytheb G., Braidya N., Münchd G., Sachdeva P. (2013).** Le rôle des polyphénols dans la modulation des sirtuines et d'autres voies impliquées dans la maladie d'Alzheimer. Recherche sur le vieillissement. Revue.
- **Jeun J M., Annie F., Chrystian J L. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux
- **Jeong SC, Cho SP., Yang BK., GuYA., Jang JH., Huh TL., Song CH. (2004).** Production d'un exo-polymère anti-complément produit par *Auricularia Auricula-judae* en culture submergée. Lettres Biotechnologiques, (26): 923.
- **Judde A. (2004).** "Prévention de l'oxydation des acides gras dans un produit cosmétique: mécanismes, conséquences, moyens de mesure, quels antioxydants pour quelles applications?" Oléagineux, Corps Gras, Lipides,11(6), 414-418.
- **Karou D., Dicko M. H., Simporé J., Yameogo S., Sanon S., Traoré A. S. (2005).** Activité antioxydantes et antibacteriennes des polyphenols extraits de plantes medicinales de la pharmacopee traditionnelle du Burkina Faso. Maîtrise des Procédés en vue d'améliorer la qualité et la sécurité des aliments, Utilisation des OGM, Analyse des risques en agroalimentaire. Université de Ouagadougou.
- **Khanbaba K., Ree T.R. (2001).** Tanins: Classification et définition. Journal de la société royale de chimie, 18:641-649.
- **Kitagawa S., Fujisawa H., and Sakurai H. (1992).** Effet fixant des phénols dihydriques et polyhydriques sur les radicaux anions superoxydes, étudié par spectrométrie à résonance de spin électronique. Bulletin Chimique et Pharmaceutique, 40 (2): 304-307.
- **Krief S. (2003).** Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, thèse doctorat, musée national d'histoire naturelle. 32p.
- **Ksouri R., Megdiche W., H. Falleh, N. Trabelsi, M. Boulaaba, A. A. Smaoui et Abdelly C. (2008).** Influence de facteurs biologiques, environnementaux et techniques sur le contenu en phénol et les activités antioxydantes des halophytes tunisiens. Comptes Rendues de Biologies, 331 (11): 865–873.
- **Kuka S., Tatarkova Z., Kaplan P. (2012).** Dommages oxydatifs causés aux protéines et aux lipides au cours du vieillissement. Acta Medica Martiniana, 12 (1): 5-11.
- **Leclercq, B. (1992).** Nutrition et alimentation des volailles. Institut national de la recherche agronomique 147, rue de l'université, 7500 Paris.

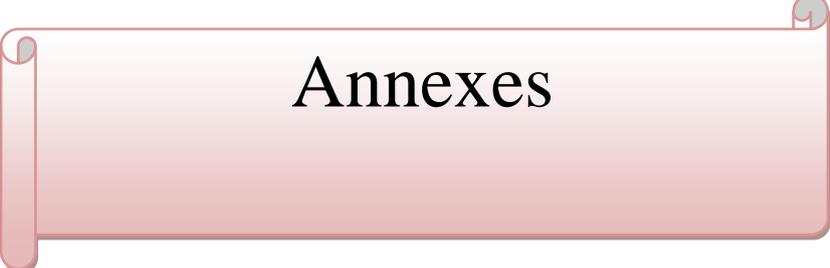
-
- **Longo L., Vasapollo G., Rescio L. (2005).** Identification des anthocyanes chez M. (2007). Polyphenols sources alimentaires et biodisponibilité. Annales de l'Institut Supérieur de la Santé, (43): 348-361.
 - **Macheix J.J., Fleuriet A and Jay-Allemand, C. (2006).** Les composés phénoliques des végétaux. Sciences des aliments, 26: 189-190.
 - **Malecky M., (2005).** Métabolisme des terpenoïdes chez les caprins, thèse Pour obtenir le grade de docteur de l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Agro Paris Tech. p 9, 13-19, 20, 27.
 - **MALEŠEV D., KUNTIĆ V. (2007).** Etude de chélates de métal-flavonoïdes et détermination des flavonoïdes via des réactions de complexation métal-flavonoïdes. Journal de la Société chimique serbe, 72 (10): 921-939.
 - **ManittoP. (1981).** Biosynthèse de produits naturels. John Willey et fils. New York.
 - **McDonald S., Prenzler PD., Autolovich M., RobardsK. (2001):** Contenu phénolique et activité antioxydante des extraits d'olive. Chimie alimentaire, (73): 73-84
 - **Messai L. (2011).** Etude phytochimique d'une plante médicinale de l'est algérien (*Artemisia herba alba*). Thèse Doctorat: Phytochimie ; Université de Mentouri Constantine.
 - **Mezache N. (2010).** Détermination structurale et évaluation biologique de substances naturelles de quelques espèces de la famille Asteraceae : *Senecio giganteus* Desf. Et *Chrysanthemum myconis* L. Thèse Doctorat: Phytochimie: Université Mentouri Constantine : 4-5.
 - **Mila I., Scalbert A. (1994).** Propriétés antimicrobiennes des tanins par la carence en fer Une nouvelle hypothèse. Symposium international sur les phénols naturels dans la résistance des plantes.381(2): 749-755.
 - **Miliauskas G., P. Venskutonis, van Beek (2004).** Criblage de l'activité d'élimination des radicaux de certains extraits de plantes médicinales et aromatiques. Chimie alimentaire, (85): 231-237.
 - **B. Miller B., Biggins D., Hanebury L et Vargas A. (1993).** Réintroduction du furet à pieds noirs. Dans Conservation créative : gestion interactive des animaux sauvages et captifs : 455–463. Olney, P.J.S., Mace, G.M. & Feister, A.T.C. (Edition). Londres : Chapman et Hal.
 - **Mpondo ME., Yinyang J., Dibong SD. (2015).** Valorisation des plantes médicinales à coumarines des marchés de Douala Est (Cameroun). Journal de biosciences appliquées, (85): 7804– 7823.

- **Nijveldt R. J., Nood E.V., Hoorn D., Boelens P., Norren K. Leeuwen P. (2001).** Flavonoïdes : examen des mécanismes d'action probables et de leurs applications potentielles. Société américaine de nutrition clinique. (74): 418-425.
- **Nonaka, G. I (1989).** Isolement et élucidation de la structure des tanins. Chimie pure et appliquée, 61 (3): 357-360.
- **Osbourn A.E., Lanzotti V. (2009).** Synthèse, fonction et application des produits Naturel d'origine végétale. Édition Springer, New York : 11-35.
- **OuzaizuM. (1986).** Études sur un produit de réaction de brunissement préparé à partir de glucose aminé. Journal Japonais de nutrition. 44,307-315. Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie, (28): 25-30.
- **Pai C., Kulkarni U., Borde M., Murali S., Mrudula P. et DeshmukhY. (2011).** Activité antibactérienne de *Tridax procumbens* avec une référence particulière aux agents pathogènes nosocomiaux. Journal britannique de la recherche pharmaceutique. 1 (4): 164-173.
- **Pasquier C. (1995).** Stress oxydatif et inflammation. Revue française des laboratoires, (276): 87-92.
- **FallPfaller MA., Messer SA., KarissonA. (1998).** Evaluation du procédé de détermination de la susceptibilité au fluconazole de 402 isolats de levure cliniques à l'aide de trois milieux d'agar différents. Journal de microbiologie clinique, 36 (9): 2958-9.
- **Philips S., Arulv., Padmakeerthig B., Renjuv., Et Santhas. (2010).** Détecteur de radicaux libres Activité de piégeage des radicaux libres des extraits de feuilles d'Indigofera aspalathoides: une analyse in vitro. Journal des sciences pharmaceutiques et de la recherche (2): 322-328. Phytothérapie 7: 161.
- **Pincemail J., and DefraigneJ. (2004).**"Les antioxydants : un vaste réseau de défenses pour lutter contre les effets toxiques de l'oxygène." Présenté à Symposium « antioxydants et alimentation », Institut Danone, Bruxelles.Plantes à tanins sur les strongyloses gastro-intestinales chez le mouton et la chèvre. Institut Technique de l'Agriculture Biologique - Acta., 17-19.
- **Proestos C., Lytoudi K., Mavromelanidou O. K., Zoumpoulakis P., Sinanoglou V. J. (2013).** Capacité antioxydante d'extraits de plantes sélectionnées et de leurs huiles essentielles. (2): 11-22.
- **Puupponen-Pimiä R., Nohynek L., Alakomi H.L., Oksman-Caldentey K.M. (2005).** Composés de baies bioactifs - nouveaux outils contre les agents pathogènes. Microbiologie appliquée et biotechnologie. 67: 8-18.

- **Puupponen-Pimiä R., Nohynek L., Alakomi H.L., Oksman-Caldentey K.M. (2005).** L'action des composés phénoliques sur les baies contre les agents pathogènes intestinaux humains. *Biofacteurs*. 23: 243-251.
- **Qiao., M. Qiao G.G., Ying A.C., chanteur Y.G Zhu. (2018).** Examen de la résistance aux antibiotiques en Chine et de son environnement International, (110): 160-172.
- **Qin C., Li Y., Niu W., Ding Y., Zhang R., Shang X. (2010).** Analyse et caractérisation des anthocyanes dans le mûrier. *Journal tchèque des sciences des aliments*, 28: 117-126 *Biologie radicale et médecine*, (26) 1231-1237.
- **Ralston L., Subramanian S., Matsuno M., Yu O. (2005).** Reconstruction partielle de la biosynthèse des flavonoïdes et des isoflavonoïdes chez la levure à l'aide de chalcone isomérases de soja de type I et de type II. *Plant Physiology*, 137 (4): 1375-1388.
- **ReR., pellegrini N., proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice E. (1999).** Reconstruction De La Biosynthèse Des Flavonoïdes Et Des Isoflavonoïdes Dans La Levure Utilisant Du Soja.
- **Reed J.D. (1995).** Toxicologie nutritionnelle des tanins et des polyphénols apparentés dans les légumineuses fourragères. *Journal des animaux et science* (73): 1516-1528.
- **Ribéreau-Gayon P., Gautheret R. J. (1968).** Les composés phénoliques des végétaux: Dunod Paris.
- **Rice-Evans C.A., N.J. Miller P.G., Bolwell P.M., Bramley & J.B., Pridham (1995).** Activités relatives des antioxydants des flavoïdes polyphénoliques dérivés de plantes. *Rad. Res*, (22) : 375-383.
- **Rodriguez-Vaquero M.J., Alberto M.R., Manca De., Nadra M.C. (2007).** Effet antibactérien des composés phénoliques de différents vins. *Contrôle des aliments*. 18: 93-101.
- **Rodriguez-Vaquero M J., Alberto M.R., Manca De., Nadra. M.C. (2007).** Influence des composés phénoliques des vins sur la croissance de la listeria monocytogenes. *Contrôle des aliments*. 18: 587-593.
- **Roupe K., Remsberg C., Yonez A., Davies N., M. (2006).** Pharmacométrie de stilbènes: Seguing Vers la clinique. *Pharmacologie clinique actuelle*. (1): 81-101.
- **Samy R. P., Krishnakone G. P., (2008).** Le potentiel thérapeutique des plantes en tant qu'antimicrobiens pour la découverte de médicaments - un bilan. *E CAM*. 1-12.
- **Sarni manchado P., Veronique C., (2006).** Les polyphénols en agroalimentaires. *Collection sciences et techniques agroalimentaires*, édition Lavoisier, Paris (France): 398.

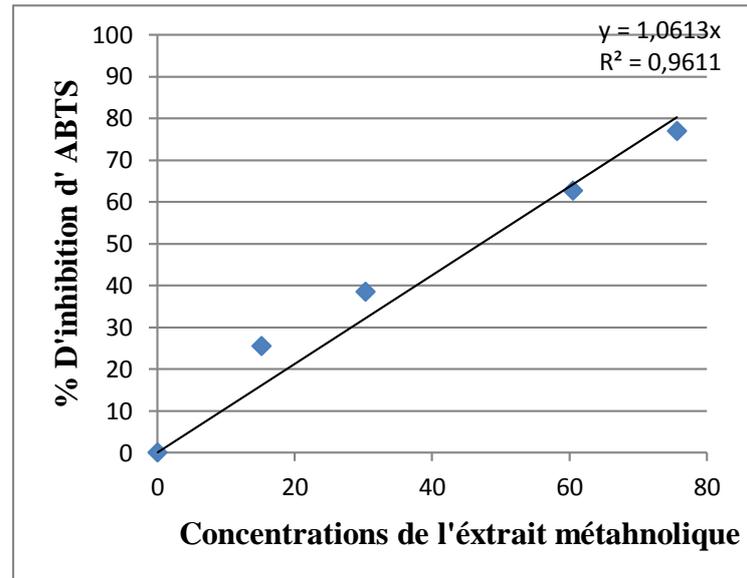
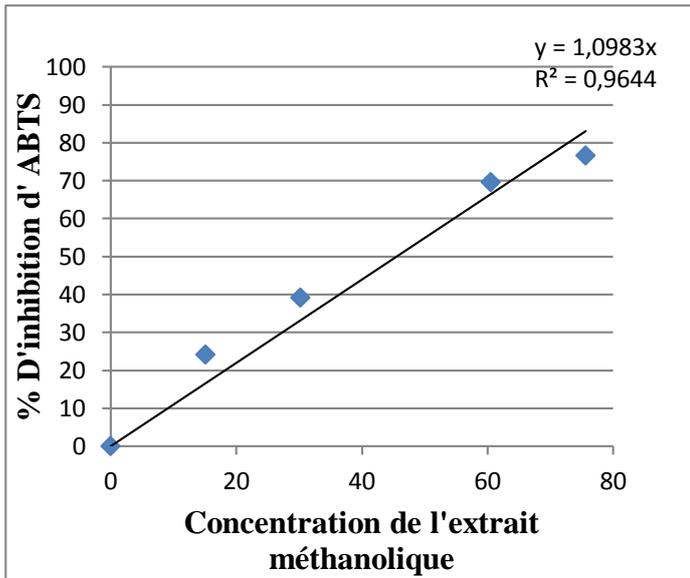
- **Sarni-Manchado P., Cheynier V. (2006).** Les polyphénols en agroalimentaire. Edition. Lavoisier, Paris, p. 3-4.
- **Sarni-Manchado P., Veronique C. (2006).** Les polyphénols en agroalimentaires. Collection sciences et techniques agroalimentaires, édition Lavoisier, Paris (France): 398.
- **Satrani B., Ghanmi M., Farah A., Aafi A., Fougrach H., Bourkhiss B., & Talbi M. (2007).** « Composition chimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Cladanthusmixtus*. Bulletin de la Société de pharmacie de Bordeaux, (146): 85-96 ».
- **Scharf D H., Heinekamp T., Brakhage A. (2014).** Pathogènes fongiques humains et végétaux; Le rôle des métabolites secondaires. PlosPathog 10: E1003859. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003859>.
- **Sergeant C., Hamon C., Simonoff M., Constans J., Conri C., Peuchant C., Delmas-Beauvieux M-C., Clerc C., Pellegrin J.L., Leng B., Pellegrin I. & Fleury H. (1998).** Stress oxydant dans le cancer, le sida et les maladies neurodégénératives. Editeurs: L. Montagnier, R. Olivier, C. Pasquier; Marcel Dekker. Inc. New York Bâle-Hong Kong, 409-427.
- **Shacter E. (2000).** Quantification et signification de l'oxydation de protéines dans des échantillons biologiques. Revu sur le métabolisme des médicaments, 32 (3 & 4): 307-326.
- **Siddhuraju P., Becker K. (2007).** Activité anti-oxydante et piégeant les radicaux libres des extraits de graines de niébé transformés (*Vigna unguiculata Walp*). Chimie alimentaire, 101 (1): 10-19.
- **Sies H. (1993).** Stratégies de défense antioxydante. Journal européen de biochimie. (215): 213-219.
- **Sirbu C ; Oprea A. (2013).** Une Nouvelle Contribution Sur la Flore Vasculaire De Roumanie. Acta Horti Bortanici Bucurestiensis. 40(1).19-26.
- **Squalli H., EL Quartia A., Ennabili A., Ibn doua S., Frah A., (2007).** Bulletin de la Société de pharmacie de Bordeaux, 146:271. stilbènes: Pharmacologie clinique actuelle. (1): 81-101.
- **Tanner G.J., Francki K.T., Abrahams S., Watson J.M., Larkin P J et Ashton A R. (2003)** Biosynthèse des proanthocyanidines chez les plantes : purification des légumineuses. Le journal de chimie biologique, 278(34) : 31647-31656.
- **Tela Botanica – Le Réseau De Botanique Français (Tela Botanica - Le Réseau De La Botanique Francophone).** Montpellier France. [Http ; // . Tela-Botanica.Org](http://Tela-Botanica.Org).
- **Tela Botanica. (2015).** Fiche eflora des *Asteraceae*. (En ligne) *Thymus satureioidis* les technologies de laboratoire, Volume 8, N°31.

-
- **Treki A.S., merghem R., Dehimatl. (2009).** Etudes Phytochimique et évaluation De L'activité Antibactérienne d'une Labiée : Thymus Hirtus. Sciences et Technologie.volume, (29): 25-29.
 - **Ulanowska K., Majchrzyk A., Moskot M., Jak-bkiewicz-BaneckaJ., Wagrzyn G. (2007).** Évaluation des effets antibactériens des flavonoïdes par estimation des temps de génération dans les cultures bactériennes liquides. Biologie (62): 132-135.
 - **USDA-ARAS. (2016).** Réseau D'information Sur Les Ressources Génétique (GRIN). Système National De Matériel Phytogénétique Base De Données En Ligne Beltsville.
 - **Vansant G. (2004).** Radicaux libres et antioxydants : principes de base. Antioxydants et alimentation, Institut Danone.
 - **Vibrans H. (2015).** Mauvaise Herbes Du Mexique (Malezas De Mexico). <http://WWW.Conabio.Gob.Mx/Malezasdemexico /inicio/Home-Malezas-México.Htm>.
 - **Ano Villano D., Fernandez-Pachon M.S., Moya M.L., Troncoso A. M., Garcia-Parrilla M.C. (2007).** Capacité de balayage radicalaire de composés polyphénoliques vis-à-vis du radical libre DPPH. ATalanta, (71): 230-235.
 - **voutquenne L., Lavaud C., Massiot G., Delaude C. (1998) .**Cinq nouvelles saponines de Harpullia Cupanioides, Phytochimie, (49): 2081-2085.
 - **Wertz J.L., Richel A., Gerin P. (2015).** Molécules issues de la valorisation de la lignine. Edition Wallonie, p. 01-37.
 - **Wichtl M., Anton R. (2009).** Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Édition LAVOISIR, Paris: 38, 41.
 - **Xiang Q., Wang Y., Wu W., Meng X., Qiao Y., Xu L. and Liu X. (2013).** L'acide carnosique protège contre les dommages protéiques induits par les ROS / RNS et régule positivement l'expression de HO-1 dans les macrophages RAW264.7. Journal des aliments fonctionnels, s (5): 362-369.
 - **Zhao Y., Dou J., Wu T., AkberAisa H. (2013).** Étude des activités d'antioxydantes et d'inhibition de l'acétylcholinestérase de Gossypium Herbaceum. Molecules (18): 951-962.
 - **Zhu M et al, (2012).** InQuideau, S., D. Deffieux, Douat-Casassus, C et Pouységu, L. Polyphénols végétaux: propriétés chimiques, activités biologiques et synthèse. (50): 586-621.
 - **Zhu Q., Qian Y., Zheng Z. P., Lo C., Chen F. and Wang M. (2012).** Les polyphénols naturels atténuent la modification induite par la peroxydation lipidique sur la BSA. Journal des aliments f

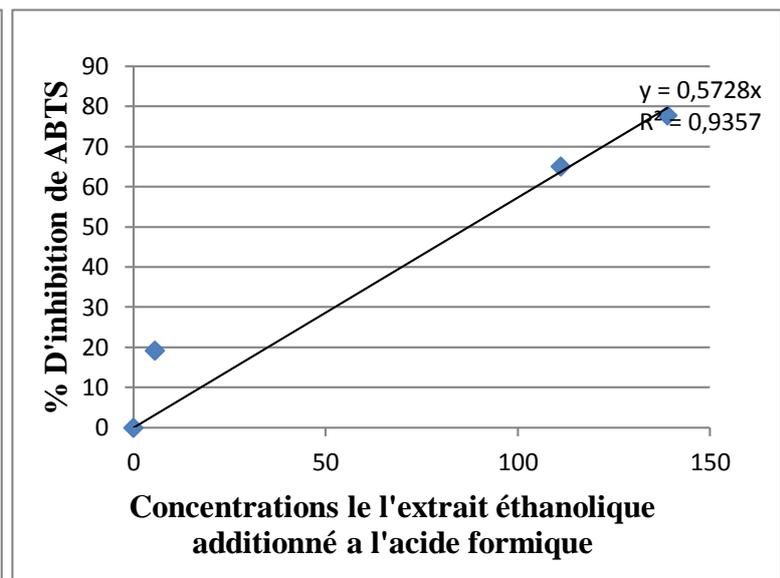
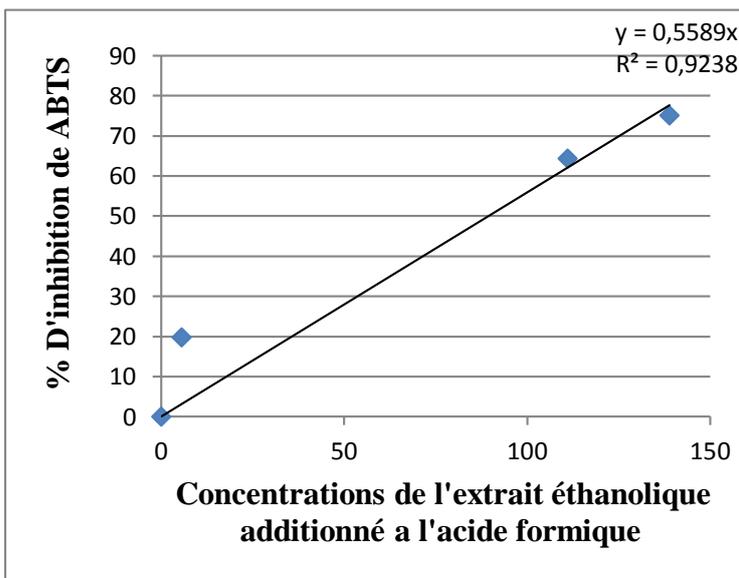


Annexes

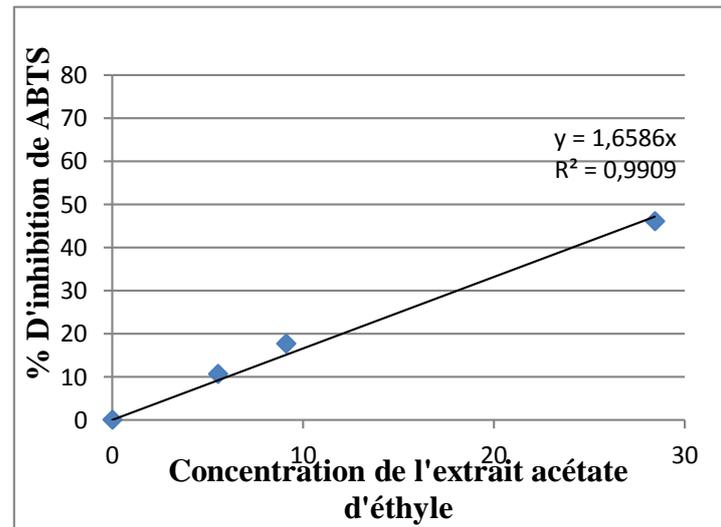
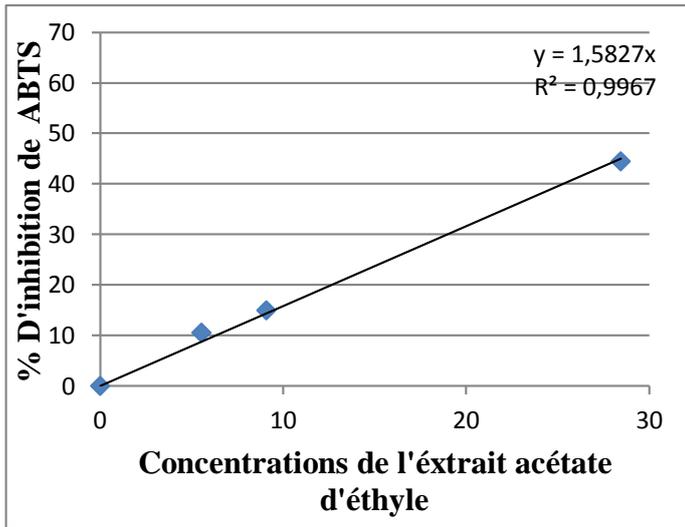
Annexe 01: Courbes d'étalonnage représentant le pourcentage d'inhibition d'ABTS en fonction des concentrations d'extrait méthanolique.



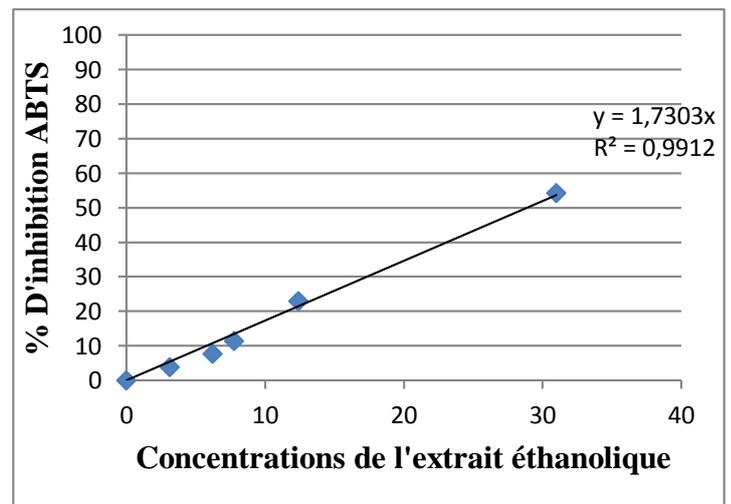
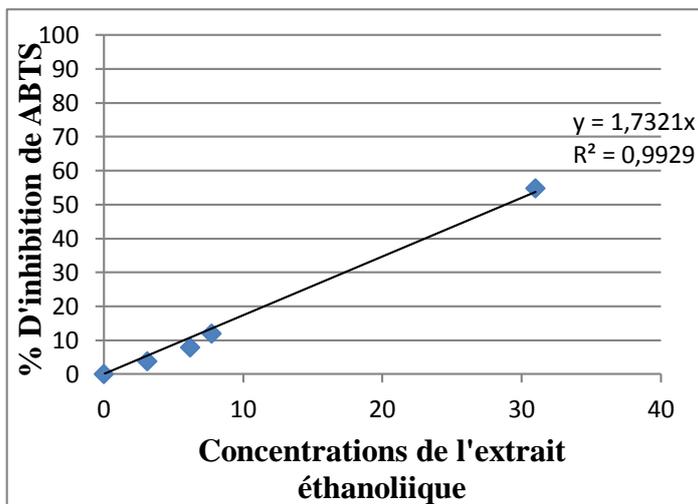
Annexe 02: Courbes d'étalonnage représentant le pourcentage d'inhibition d'ABTS en fonction des concentrations d'extrait éthanolic additionné à l'acide formique.



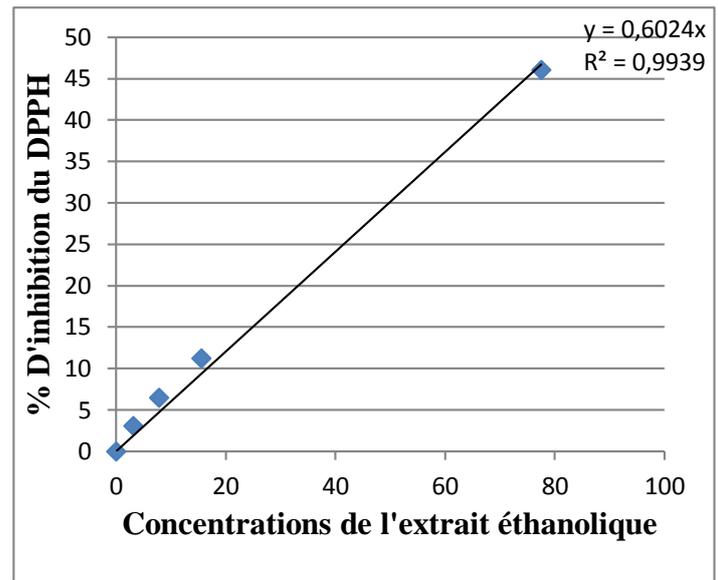
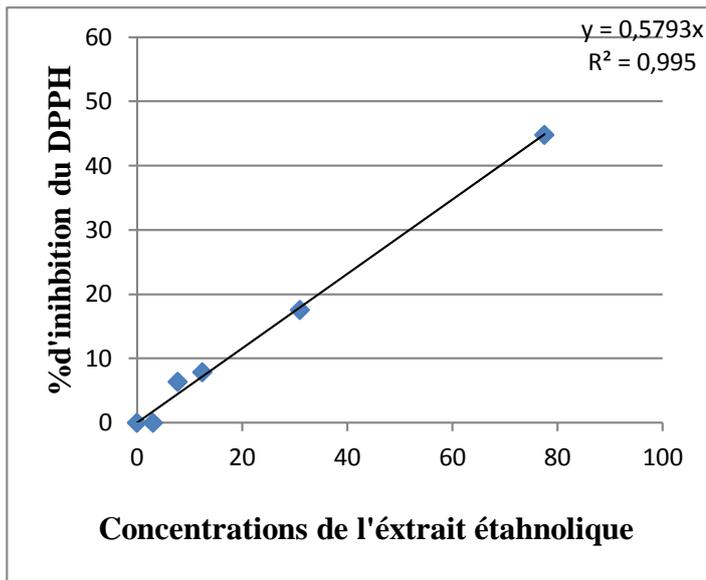
Annexe 03: Courbes d'étalonnage représentant le pourcentage d'inhibition d'ABTS en fonction des concentrations d'extrait acétate d'éthyle



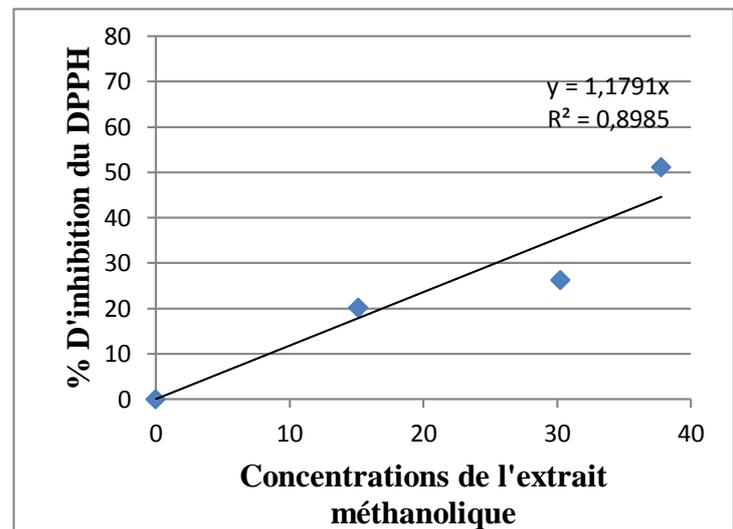
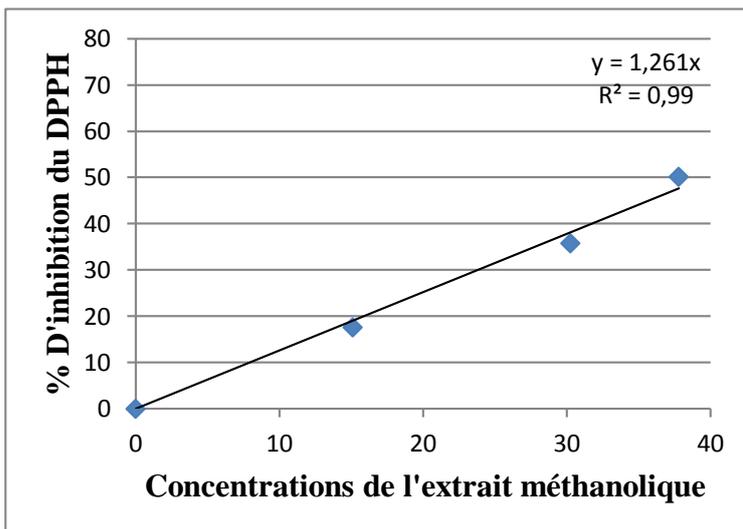
Annexe 04: Courbes d'étalonnage représentant le pourcentage d'inhibition d'ABTS en fonction des concentrations d'extrait éthanolique



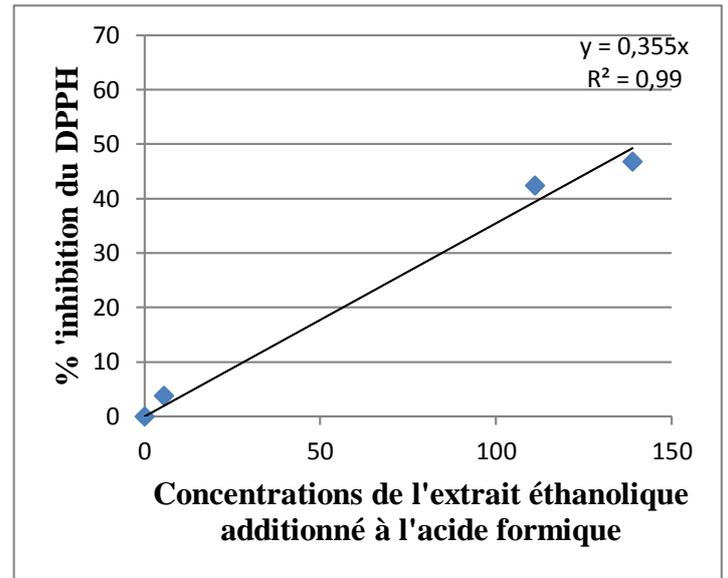
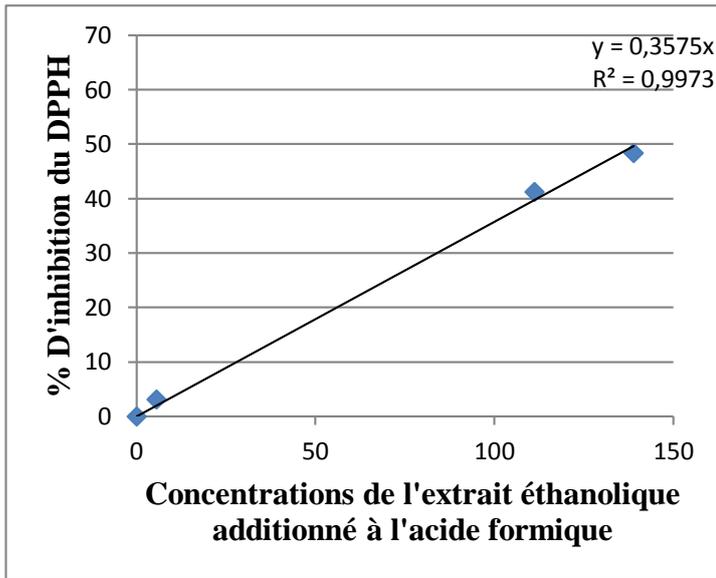
Annexe 05: Courbes d'étalonnage représentant le pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations d'extrait éthanolique



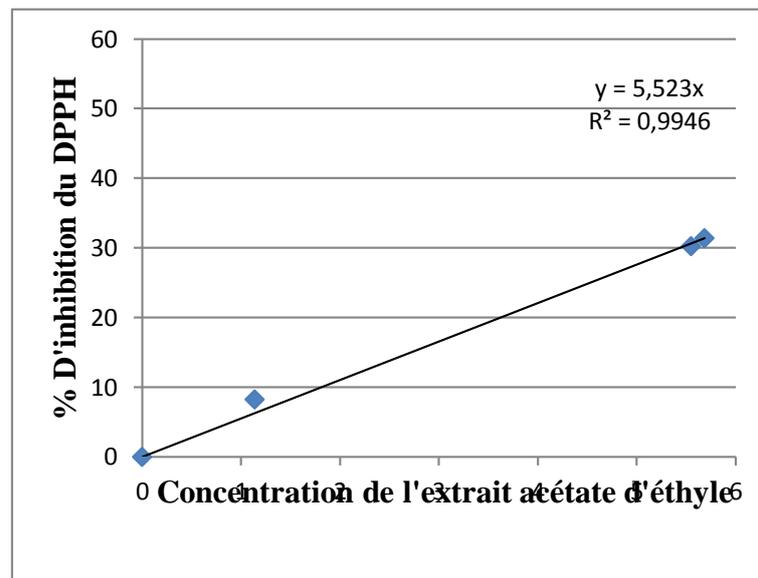
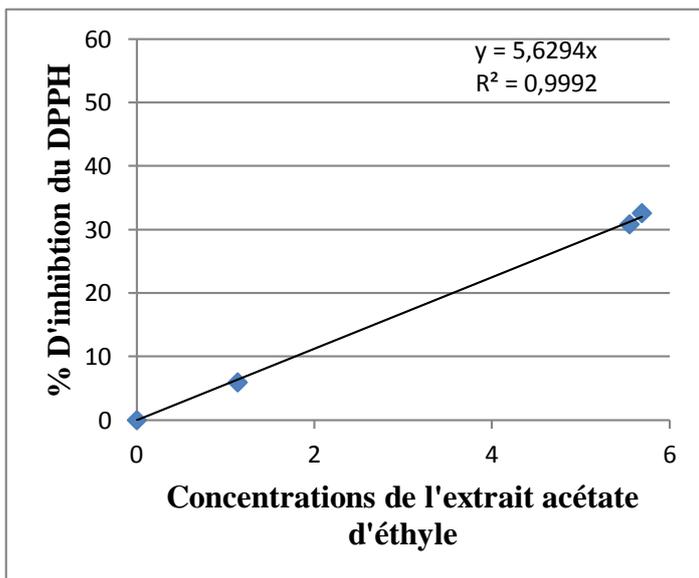
Annexe 06: Courbes d'étalonnage représentant le pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations d'extrait Méthanolique



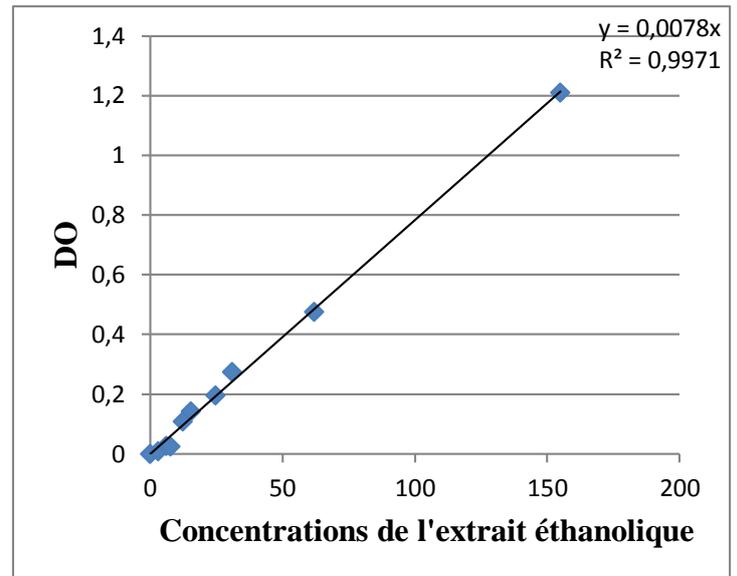
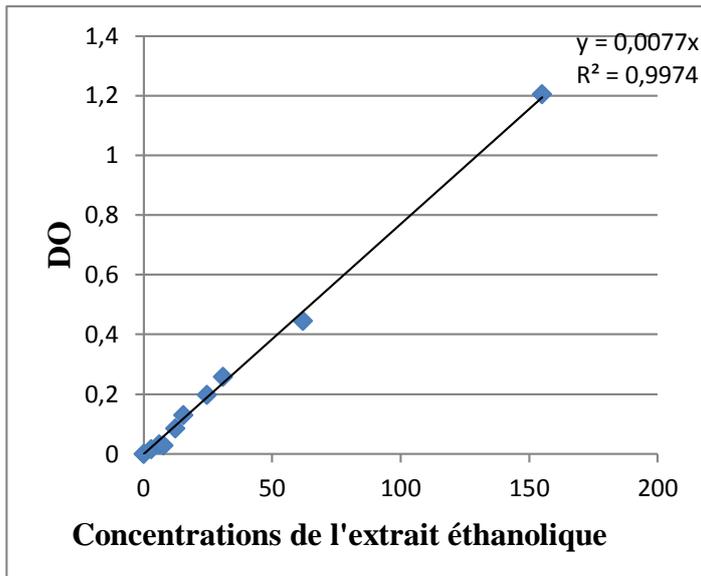
Annexe 07: Courbes d'étalonnage représentant le pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations d'extrait éthanolique additionné à l'acide formique



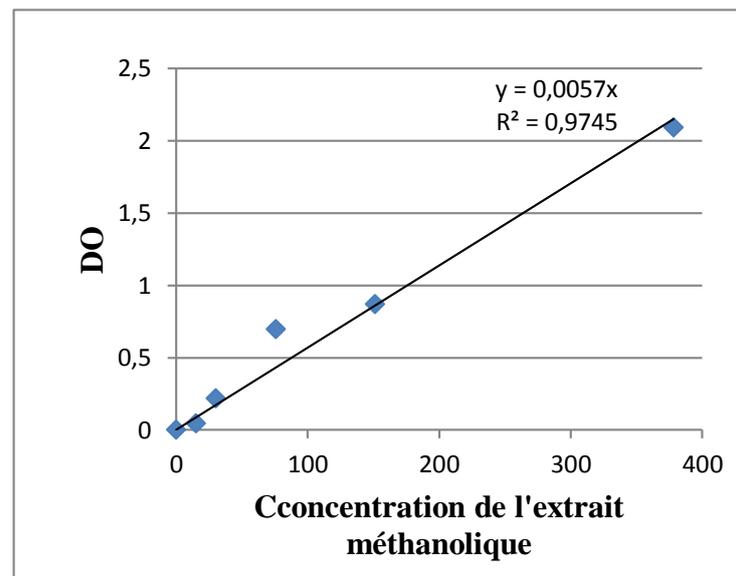
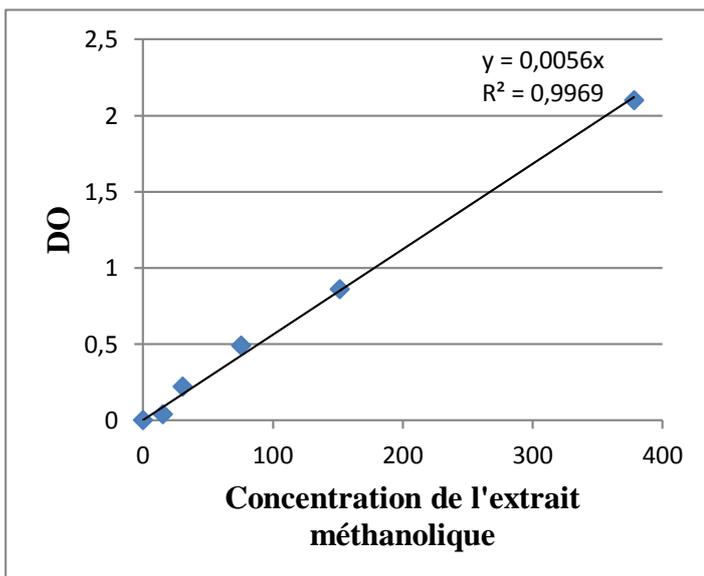
Annexe 08: Courbes d'étalonnage représentant le pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations d'extrait acétate d'éthyle



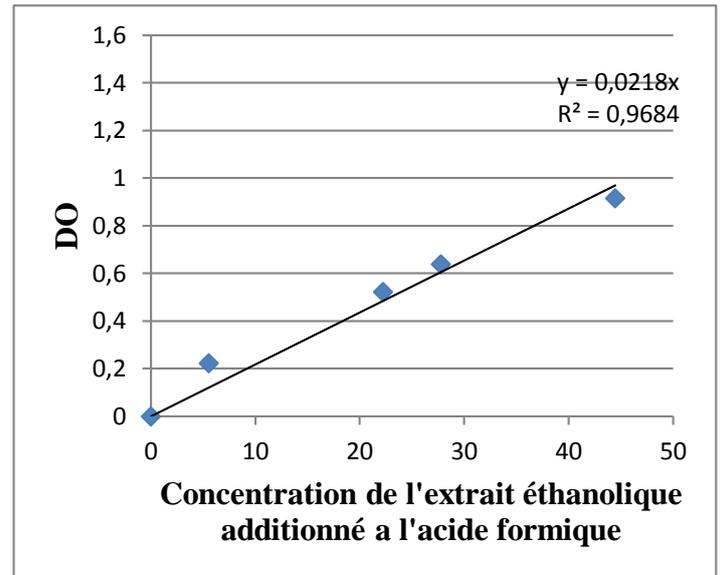
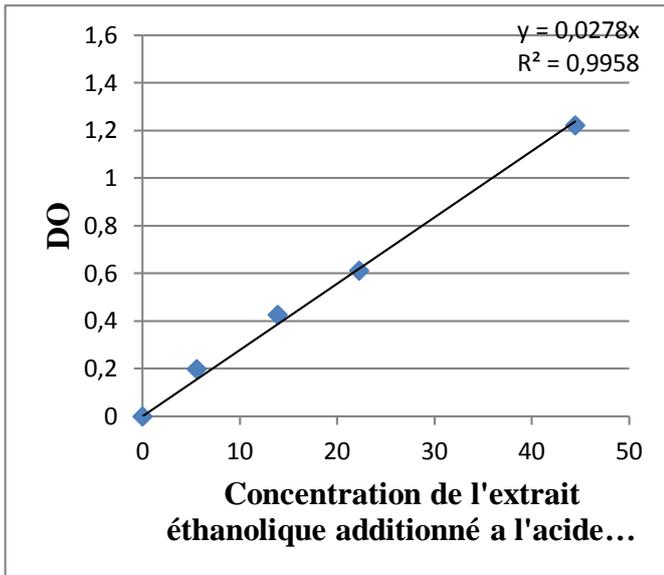
Annexe 09: courbe d'étalonnage représentant les DO de l'extrait éthanolique de la FRAP en fonction des concentrations de cet d'extrait



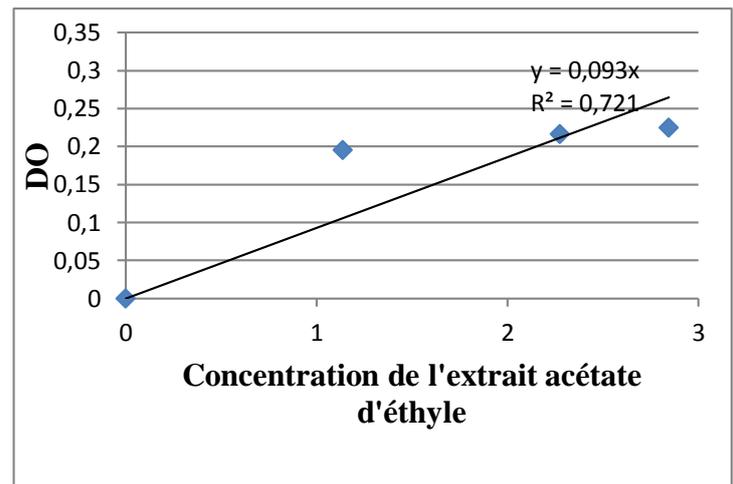
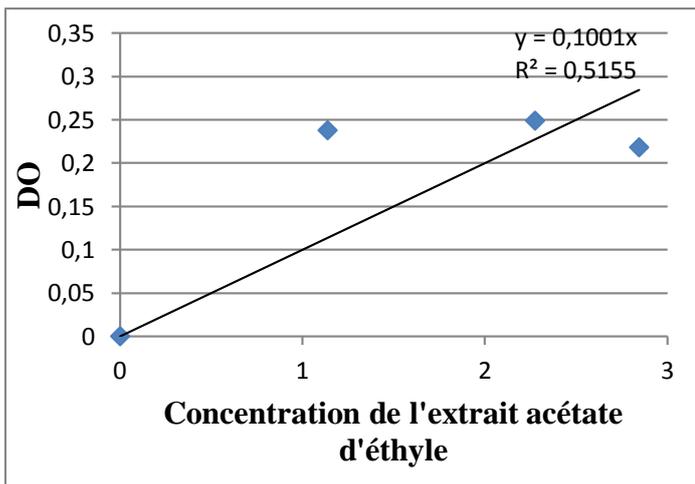
Annexe 10: Courbe d'étalonnage représentant les DO de l'extrait méthanolique de la FRAP en fonction des concentrations de cet d'extrait

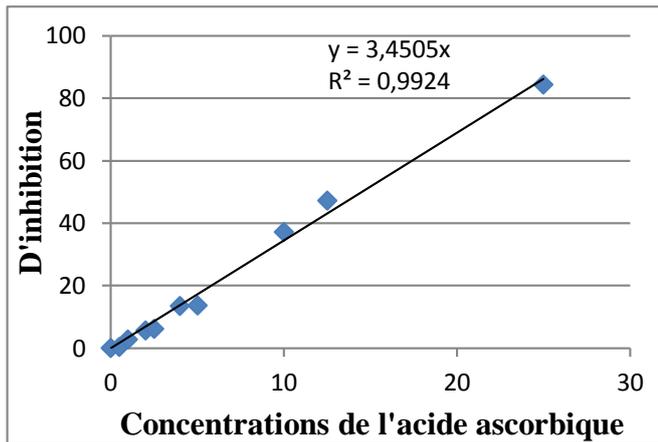
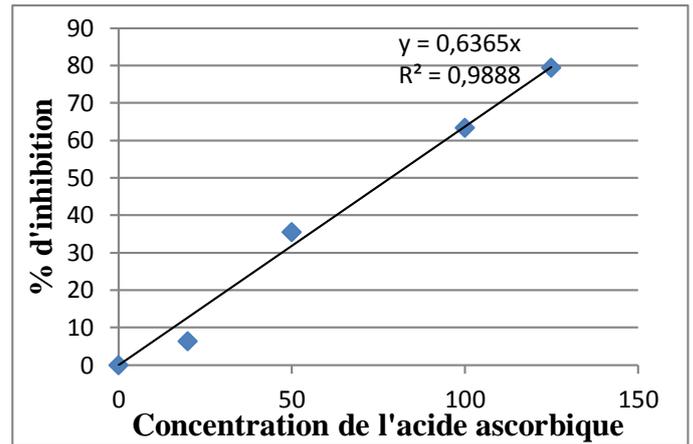
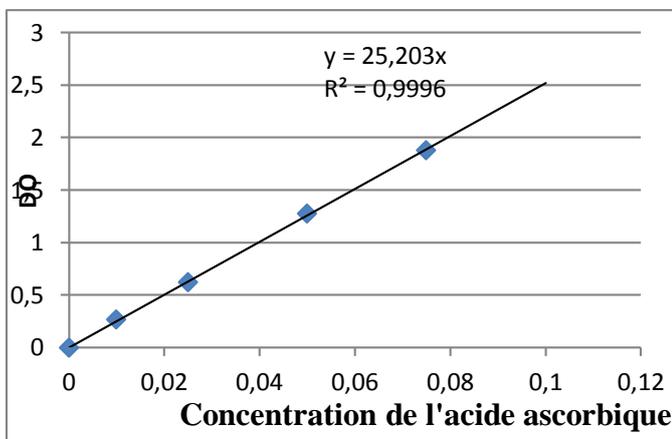
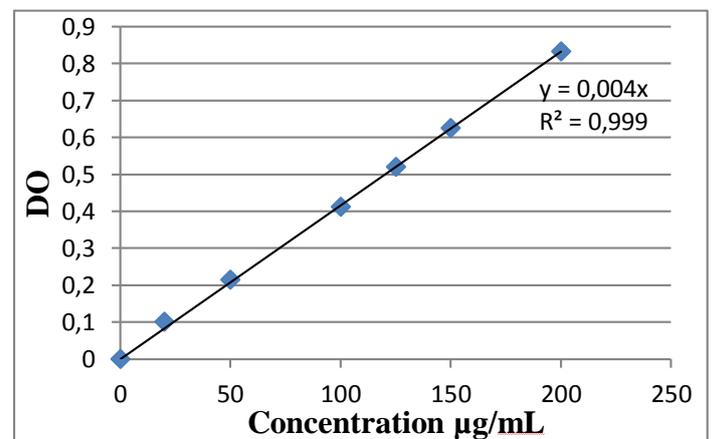


Annexe 11 : courbe d'étalonnage représentant les DO de l'extrait éthanolique additionné à l'acide formique de la FRAP en fonction des concentrations de cet d'extrait



Annexe 12: Courbe d'étalonnage représentant les DO de l'extrait acétate d'éthyle de la FRAP en fonction des concentrations de cet d'extrait



Annexe13: Courbe se standard d'ABTS**Annexe14:** Courbe de standard du DPPH**Annexe15:** Courbe de standard de la FRAP**Annexe16:** Courbe de standard d'acide
gallique**Annexe 17:** résultats de l'aromatogramme sur les souches testées.

Résumé

Les extraits naturels de plantes contiennent une variété de composés phénoliques auxquels sont attribuées diverses activités biologiques. Ce travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation de la partie aérienne (feuilles et tiges) d'*Helminthotheca echioides*, une plante médicinale de la famille des Astéracées, utilisée dans la médecine traditionnelle et la gastronomie locale de la région de Kabylie. Pour cela, le pouvoir antioxydant et antimicrobien de cette plante a été étudié. La détermination des composés phénoliques des extraits méthanoliques, éthanoliques et d'acétate d'éthyle, a montré des teneurs variables en polyphénols ; la valeur la plus élevée étant obtenue avec l'extrait méthanolique (30.25mg équivalent acide gallique/g de matière sèche). Les différentes méthodes utilisées pour évaluer l'activité antioxydante ont montré que les extraits phénoliques de la plante étudiée, présentent une forte capacité à inhiber le radical DPPH ainsi que le radical ABTS, et un pouvoir réducteur modéré. L'évaluation du pouvoir antimicrobien des différents extraits vis-à-vis de quatre souches bactériennes et deux souches fongiques, a montré que toutes les souches sont résistantes à tous les extraits phénoliques testés. Ce travail constitue une étude préliminaire qui permet de mettre en évidence l'intérêt de l'utilisation de cette plante en phytothérapie. De plus, elle permettra de mettre en lumière les innombrables bienfaits de cette plante dont les propriétés ont longtemps été sous-estimées.

Mots clés: *Helminthotheca echioides*, polyphénols, activité antimicrobienne, activité antioxydante, pouvoir réducteur, DPPH, ABTS.

Summary

Natural plant extracts contain a variety of phenolic compounds which various biological activities are attributed. This work is part of the development of the aerial part (leaves and stems) of Bristly Oxtongue, a medicinal plant of the family Asteraceae, used in traditional medicine and local gastronomy of the region of Kabylia. For this, the antioxidant and antimicrobial power of this plant has been studied. Determination of the phenolic compounds of the methanolic, ethanolic and ethyl acetate extracts showed variable contents of polyphenols, the highest value being obtained with the methanolic extract (30.25mg gallic acid equivalent / g of dry matter) The different methods used to evaluate the antioxidant activity showed that the phenolic extracts of the studied plant, have a strong ability to inhibit the radical DPPH and the radical ABTS, and a moderate reducing power. The evaluation of the antimicrobial potency of the different extracts with respect to four bacterial strains and two fungal strains showed that all the strains are resistant to all the phenol extracts tested. This work constitutes a preliminary study which makes it possible to highlight the interest of the use of this plant in herbal medicine. In addition, it will highlight the innumerable benefits of this plant whose properties have been underestimated.

Keywords: *Helminthotheca echioides*, polyphenols, antimicrobial activity, antioxidant activity, reducing power, DPPH, ABTS.