



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2021/

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV **Filière :** Sciences Biologiques
Spécialité : Biochimie Appliquée

Présenté par :

BANOUH Nahi Chemseddine & BENNAI Charihane

Thème

*Evaluation des activités biologiques des extraits d'implisse,
pourpier, thuya berbère et la mélisse de
la région du Bouira*

Soutenu le : 15/07/2021

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>LEKBAL Farouk</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Président</i>
<i>DAHMOUNE Farid</i>	<i>Pr</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promoteur</i>
<i>MOUSSA Hamza</i>	<i>Doctorant</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Co-Promoteur</i>
<i>REMINI Hocine</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examineur</i>

Année Universitaire : 2020/2021

Remerciements

«Un voyage de mille kilomètres commence par un seul pas»

Nos profonds remerciements s'adressent en premier lieu à notre encadreur M. Dahmoune Farid, pour avoir accepté de diriger ce travail, pour son aide, ses encouragements, ses précieux conseils, sa confiance, sa patience, ... tout au long de la réalisation de ce mémoire, soyez assurée, Docteur de toutes nos estime et nos profonds respects.

Nous tenons à remercier très chaleureusement notre co-promoteur M. Moussa Hamza, pour ses conseils, pour sa disponibilité, pour n'avoir jamais fermé la porte de son bureau et ainsi permis de discuter à de nombreuses reprises de ce travail, monsieur merci beaucoup d'être à notre côté le long de ce voyage.

Nous exprimons nos profonds remerciements aux membres de jury qui vont juger notre recherche.

Notre sincères remerciements vont à Mr, d'avoir accepté de présider le jury.

Avec tout notre respect en tiens à remercie Mr, d'avoir accepté d'examiner ce travail

Nos remerciements très chaleureux vont aux ingénieures de laboratoire et doctorants pour leur aide et leurs conseils.

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



Dédicace

Je dédie ce modeste travail...

*A celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, à ma mère **Leila**.*

*A mon père **Mohamed Salah**, école de mon enfance, qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager, à me donner aide et protection.*

Que dieu les garde et les protège.

*A ma chère grande mère **Hassiba** que ce travail soit l'expression des vœux que n'avez cessé de formuler dans vos prières.*

Que dieu vous préserve santé et longue vie.

A mes grands pères et ma grande mère paix à leurs âmes.

*A mes sœurs : **Wissam et Radja**.*

Je prie Dieu que vous réussissiez.

*A mon binôme **Charihane**.*

*A ceux qui ont participé à me former à ce que je suis aujourd'hui : mes chères oncles **Abdelkader, Ahmed et Merzak**, mes très chères amis **Drifa, Houda, Hamza, Yassine et Samia**.*

*Et à tous ceux qui m'ont donné un coup de main et à tous les proches de mon cœur : **Fatah, Abdelmalek, Mohamed, Samir, Kahina, Faiza, Chaima**.*





Dédicace

J'ai l'honneur de dédier ce travail à :

MES CHERS PARENTS

*A ma très chère mère, la prunelle de mes yeux,
pour votre amour, aide morale et votre compréhension.*

*A mon très chère père **MOUHAMMED**, vous étiez toujours derrière moi et vous m'avez
toujours encouragée. Aucun remerciement n'est trop grand pour vous.*

*A ma source de bonheur, mes formidable sœurs **AZIZA, FATIHA, HADJER, HOURIA,**
KHALISSA et ZAHRA*

*A mes chère frère **MOULOUD** et **ALI***

*Mon binôme **NAHI** et tous le respect à **Monsieur MOUSSA hamza***

*A tous mes camarade : **KAHINA, MOUNA, AMEL, IMEN, FAIZA, ROUKA***

Et sons oublier, toutes mes amies de la promotion 2021



Table de Matière

Remerciements	2
Dédicace	3
Dédicace	4
INTRODUCTION	12
Chapitre I : Propriétés biologiques des plantes médicinales de la région de Bouira	4
1 Synthèse bibliographique des plantes médicinales étudiées	4
1.1 <i>Imlillesse (Rhamnus alaternus L.)</i>	4
1.2 <i>Thuya berbère (Tetraclinis articulata L.)</i>	6
1.3 <i>Le pourpier (Portulaca oleracea L.)</i>	9
1.4 <i>La mélisse (Melissa officinalis L.)</i>	11
1.5 <i>Classification botanique détaillée des plantes étudiées</i>	13
Chapitre 02 : Les Techniques d'Extraction et les Activités Biologiques	15
2 Les techniques d'extraction conventionnelle et non-conventionnelle	15
2.1 <i>Extraction assistée par ultrasons</i>	15
2.2 <i>Extraction conventionnelle (Macération)</i>	16
3 Les activités biologiques étudiées sur les plantes médicinales de la région de Bouira	17
3.1 <i>L'activité antioxydante des extraits des plantes médicinales</i>	18
3.2 <i>L'activité antibactérienne des extraits des plantes médicinales</i>	20
3.3 <i>L'activité antifongique des extraits des plantes médicinales</i>	23
Chapitre 03 : Matériel et méthodes	27
4 Matériels et réactifs	29
5 La Récolte des matrices végétales	29
6 Les souches bactériennes et fongiques testées	30
7 Préparation des poudres des plantes étudiées	31
8 Préparation des extraits à partir des poudres obtenue des feuilles des médicinales de la région de Bouira ...	33
8.1 <i>Extraction assistée par ultrasons</i>	33
8.1.1 Principe	33
8.1.2 Mode opératoire	33
8.2 <i>Extraction conventionnelle (macération)</i>	33
8.2.1 Principe	33
8.2.2 Mode opératoire	34
8.3 <i>Extraction conventionnelle (Agitation à bain marie)</i>	34
9 Evaluation des activités biologiques des plantes médicinales de la région de Bouira	34
9.1 <i>Evaluation de l'activité antioxydants des plantes médicinales de la région de Bouira</i>	35

Table de Matière

9.2 Evaluation de l'activité antioxydants totale (AAT)	35
9.3 Test PARF (Le Pouvoir antioxydant réducteur ferrique)	36
9.4 Test antiradicalaire par la décoloration d'ABTS*	36
10 Préparation des milieux de culture et des extraits pour l'activité antibactérienne et l'activité antifongique .	37
10.1 Stérilisation du matériel	37
10.2 Préparation d'extraits des plantes	37
10.3 Préparation du milieu de culture	37
11 Evaluation de l'activité antibactérienne des plantes médicinales de la région de Bouira	38
11.1 Préparation de l'inoculum (la revivification des souches bactérienne)	38
11.2 Préparation des boites de pétri	38
11.3 Ensemencements	38
11.4 Antibiogrammes	38
12 Evaluation de l'activité antifongique des plantes médicinales de la région de Bouira	39
12.1 Préparation du milieu de culture	39
12.2 Préparation de l'inoculum (la revivification des champignons)	39
12.3 Préparation des boites de pétrie	39
12.4 Ensemencements	39
Chapitre 03 : Résultats et discussion	42
13 Comparaison entre les techniques d'extractions de la plante médicinale <i>Rhamnus alaternus</i> L. de la région de Bouira	42
13.1 Etude comparative des techniques d'extraction de la plante médicinale <i>Rhamnus alaternus</i> L. par le test de phosphomolybdate d'ammonium	42
13.2 Etude comparative des techniques d'extraction de la plante médicinale <i>Rhamnus alaternus</i> L. par le test de décoloration d'ABTS	43
13.3 Etude comparative des techniques d'extraction de la plante médicinale <i>Rhamnus alaternus</i> L. par le test FRAP Erreur ! Signet non défini.	
14 Discussion des résultats de comparaison entre les techniques d'extraction employée	43
15 Comparaison entre les activités antioxydantes des plantes étudiées	44
15.1 Résultats de comparaison entre les activités antioxydantes des extraits	44
15.2 Discussion des résultats de comparaison entre les activités antioxydantes des extraits	46
15.2.1 La Mélisse	46
15.2.2 Thuya berbère	47
15.2.3 Le pourpier	48
15.2.4 Imlilisse	48
16 Récapitulatif sur l'activité antioxydante des plantes médicinales de la région de Bouira	49
16.1.1 L'activité antibactérienne et antifongique	49
CONCLUSION	55
Référence	58

Table de Matière

RESUME..... 4

Liste des abréviations

OMS : Organisation mondiale de santé

EAU : Extraction assisté par ultrasons

CLHP : Chromatographie en phase liquide à haute performance

DAD : Détecteur à barrette de diodes

ADN : Acide désoxyribonucléique

RLO : Radicaux libres d'oxygène

SOD : Superoxyde dismutase

PDA : Potato dextrose agar

ATCC : American type culture collection

AOC : Capacité antioxydante

PARF : Pouvoir antioxydant réducteur ferrique

ABTS : acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)

UFC : Unité formant colonie

EAA : Equivalent à l'acide ascorbique

UV : Ultraviolet

IC₅₀ : Concentration inhibitrice médiane qui inhibe 50% des radicaux libre

Liste des figures

Figure 1: Photographie des feuilles, tiges et fruits de <i>Rhamnus alaternus</i> L. (original, 2021)	5
Figure 2: Photographie de la morphologie de <i>Tetraclinis articulata</i> L. (original, 2021).....	8
Figure 3 : Photographie de la morphologie de la partie aérienne de <i>Portulaca oleracea</i> L. (original, 2021)....	10
Figure 4: Photographie morphologique des compartiments de <i>Melissa officinalis</i> L. (original, 2021).....	12
Figure 5: Schéma du phénomène de cavitation produit par l'ultrason (Wen, Zhang et al. 2018).....	16
Figure 6: Schéma explicative de chemin de travail suivez dans notre étude.....	28
Figure 7 : Les champignons utilisés dans l'évaluation de l'activité antifongique. (Original, 2021).....	31
Figure 8 : Schéma représentatif des étapes d'obtention de la poudre des plantes médicinales à partir des feuilles.....	32
Figure 9 : Photo représentatif des techniques d'extraction utilisée sur la poudre de <i>Rhamnus alaternus</i> L. (A : ultrasons, B : macération, C : agitation bain marie) (Originale, 2021)	34
Figure 10: Schéma explicative du principe de l'activité antioxydant totale (AAT).	35
Figure 11 : Schéma explicative du principe de l'activité antioxydant par piégeage de radical libre ABTS*	36
Figure 12 : Etude comparative des techniques d'extraction de la plante médicinale <i>Rhamnus alaternus</i> L. par le test de phosphomolybdate d'ammonium	42
Figure 13 : Etude comparative des techniques d'extraction de la plante médicinale <i>Rhamnus alaternus</i> L. par le test de décoloration de l'ABTS.	43
Figure 14 : Etude comparative des techniques d'extraction de la plante médicinale <i>Rhamnus alaternus</i> L. par le test de FRAP.....	Erreur ! Signet non défini.
Figure 15 : Pourcentages d'inhibition du radical libre ABTS en fonction des différentes concentrations des extraits des plantes étudiées et leur IC50.....	Erreur ! Signet non défini.
Figure 16 : Etude des propriétés antioxydants des plantes médicinales de Bouira en utilisant le test de phosphomolybdenum (les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide ascorbique par g). Erreur ! Signet non défini.	
Figure 17 : Comparaison entre l'activité antioxydant des plantes médicinales étudiée et l'activité de l'acide ascorbique suite au protocole FRAP	46
Figure 18 : Images montrent les contaminations des champignons et la charge bactérienne.	50

Liste des tableaux

Tableau 1: Classification des plantes médicinales de la région de Bouira.....	14
Tableau 2 : Les différents produits et appareillages utilisé dans l'évaluation des activités.	29
Tableau 3 : Distribution géographiques des plantes médicinales étudiées de la région de Bouira.....	30
Tableau 4 : Les souches bactériennes utilisé dans l'étude d'activité antibactérienne.....	30



Introduction

INTRODUCTION

Historiquement, les humains ont utilisé les plantes pour maintenir la santé, prévenir et guérir la maladie. Les simples, terme utilisé pour désigner les plantes médicinales au moyen âge, ou leur potentiel d'action et de soin nous satisfait encore aujourd'hui. Ils sont aussi la base de nos médicaments et de la médecine moderne. L'Organisation mondiale de la santé (OMS) estime qu'environ 80 % des résidents de la terre utilise des préparations à base de plantes traditionnelles comme traitement de santé primaire (**Lhuillier 2007**).

Le stress oxydatif est un problème de santé publique de plus en plus grave, sans un contrôle approprié il peut entraîner un vieillissement prématuré et augmenter considérablement le risque de diverses maladies telles que l'inflammation, le diabète et le cancer (**Poprac, Jomova et al. 2017; Fulop, Pawelec et al. 2020**). Par conséquent, l'utilisation de médicaments cytoprotecteurs et antioxydants pour réduire le stress oxydatif semble être un traitement prometteur (**Das, Nanda et al. 2020**). D'autres études montrent qu'il est nécessaire de trouver de nouvelles sources d'antioxydants, dans ce cas les antioxydants naturels (les huiles essentielles et les composés biologiques actifs) isolés de plantes médicinales, qui constituent un grand potentiel pour le saignement des maladies liée aux stress oxydatifs (**Rolland 2004**).

D'autre part, les infections microbiennes et fongiques demeurent des affections graves et leur fréquence nécessite d'augmenter. De plus, l'utilisation généralisée des antibiotiques en médecine humaine a conduit à la mutation des différentes souches bactériennes et fongiques et le développement des résistances aux antibiotiques. Cette résistance aux antibiotiques est de plus en plus courante, la recherche directe sur les médicaments devient donc cruciale pour trouver un traitement efficace avec de moins d'effets secondaires possible (**Billard 2011; Muylaert and Mainil 2013**). Cependant, les extraits de plantes en tant que sources potentielles de molécules naturelles biologiquement actives ont commencé à susciter un intérêt généralisé. Ils font l'objet de multiples études peut être utilisé comme méthode alternative pour traiter les maladies infectieuses (**ACKAH, KRA et al. 2008**). La recherche scientifique actuelle s'oriente vers la phytothérapie, les plantes médicinales ont des métabolites secondaires, qui ont diverses activités biologiques, telles que l'antiradicalaire, l'antifongique, l'antibactérienne et antiinflammatoire. L'échec des médicaments conventionnels, en particulier dans les maladies chroniques, qui ont une incidence élevée d'effets secondaires, prix élevés des médicaments et infrastructures d'assainissement inadéquates dans les pays en développement représentent une

grande partie de la population mondiale qui s'appuie principalement sur la médecine naturelle ou complémentaire pour se soigner.

L'Algérie dispose d'une grande diversité floristique à laquelle s'ajoute une tradition séculaire d'utilisation traditionnelle des plantes. Ce potentiel de plantes médicinales comporte des milliers d'espèces présentant divers intérêts et constituent un axe de recherche scientifique, plus particulièrement dans le domaine des substances naturelles. Dans notre recherche, quatre plantes médicinales ; la mélisse (*Melissa officinalis* L.), imlillesse (*Rhamnus alaternus* L.), thuya berbère (*Tetraclinis articulata*) et le pourpier (*Portulaca oleracea* L.) de la région de *Bouira* ont été étudiées afin de les valoriser et les introduire comme des traitements naturels qui peuvent être une alternative naturelle qui remplace les médicaments conventionnelles. Par conséquent, l'objectif de notre travail réalisé au niveau de laboratoire de l'université Akli Mohand Oulhadj au niveau de *Bouira* consiste à :

- Une étude comparative entre plusieurs techniques conventionnelles (macération, agitation a bain marie) et modernes (EAU) afin d'assurer meilleur qualité et quantité des antioxydants naturels.
- Une étude comparative des capacités antioxydantes de plusieurs plantes étudiées de la région de *Bouira* afin d'évaluer et confirmer leur potentiel dans l'utilisation comme un traitement du stress oxydatif.
- Détermination des activités antibactériennes et antifongiques des plantes médicinales de la région de *Bouira* pour but d'utiliser comme des antibiotiques et fongicides naturels.

Donc notre étude repose sur deux axes principaux ;

- Le premier axe repose sur l'état de l'art des plantes médicinales, les techniques d'extraction et les activités biologiques.
- Le deuxième axe subdivise en deux parties ; dans la première partie (matériel et méthodes), on a détaillé les protocoles d'expérimentation afin de comparer entre les techniques d'extraction et l'évaluation des activités biologiques antioxydantes, antimicrobiennes et antifongiques, une deuxième partie, c'est la partie résultats et discussion qui permet de présenter la meilleure méthode d'extraction et classer les plantes selon leur importance.

Chapitre 01 :

***Propriétés biologiques des
plantes médicinales de la
région de Bouira***

Chapitre I : Propriétés biologiques des plantes médicinales de la région de Bouira

Les plantes ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'homme et à travers les âges, qui s'est appuyé sur la nature pour satisfaire ses besoins fondamentaux de nourriture et de vêtements (**Gurib-Fakim 2006**). Le monde végétal regorge de ressources, l'homme peut non seulement s'alimenter à partir d'elle, mais aussi en tirer des substances actives, généralement bénéfiques pour les organismes parfois touchés par des maladies sous-jacentes (**Baba Aissa 2000**).

La définition des plantes médicinales est très simple. En fait c'est une plante utilisée pour prévenir, traiter ou soulager diverses maladies. Les plantes médicinales sont des herbes, dont au moins certaines ont des propriétés médicinales et selon l'OMS (Organisation mondiale de la santé), plus de 80% de la population mondiale utilise la pharmacopée traditionnelle basée sur les plantes médicinales pour faire face aux problèmes de santé (**Farnsworth, Akerele et al. 1986**).

L'Algérie fait partie des pays méditerranéens qui constitue une véritable banque phylogénétique, forte d'une longue tradition médicale et d'un savoir-faire ancestral basé sur les plantes médicinales et dans notre recherche ont étudié quatre plantes médicinales de notre région de *Bouira*, pour déterminer leur efficacité dans l'usage dans les traitements quotidiens.

1 Synthèse bibliographique des plantes médicinales étudiées

1.1 Imlisse (*Rhamnus alaternus* L.)

1.1.1 Généralité

Imlisse est un petit arbre réparti le long de la côte méditerranéenne, y compris dans les pays d'Afrique du Nord (Algérie, Maroc et Tunisie). En Algérie, il pousse principalement dans le nord, où il est appelé "Imlisse, M'lila, Soitfaïr or Safir" (**Tacherfiout, Petrov et al. 2018**).

Il s'agit d'une espèce capable d'être adaptée en termes de conditions environnementales. Des facteurs tels que la lumière, l'eau, l'accumulation de la biomasse pourrait avoir un impact direct sur l'espèce soit pour sa croissance, son comportement, sa distribution, ses nutriments ou des constituants chimiques (**Zeouk and Bekhti 2019**). C'est une plante de la famille de Rhamnaceae, du genre de *Reynosia* qui porte le nom d'espèce de *Rhmanus alaternus* L. (**Quezel and Santa 1963**).

1.1.2 Description botanique

Imlillesse est une plante toujours vert, d'origine méditerranéenne, cosmopolite qui colonise surtout les régions tempérées et tropicales (Tsahar, Friedman et al. 2002).

Spichiger, Figeat-Hug et al. (2002) et Quezel and Santa (1963) ont décrit cette arbrisseau selon leur observation par :

- Tiges qui ont une écorce rougeâtre et des branches pubescentes.
- Feuilles qui sont arrondies, compactes et alternées.
- Fruits non mûrs qui sont verts, et deviennent rouges, puis noirs à maturité.
- Fleurs dioïque, jaunâtres, en petites grappes multiflore bractéoles avec un calice a 5 lobes lancéolés.



Figure 1: Photographie des feuilles, tiges et fruits de *Rhamnus alaternus* L. (original, 2021).

1.1.3 Les molécules bioactifs de *R. alaternus* L.

Des études antérieures de Cuoco, Mathe et al. (2014) ont montrés que le genre *Rhamnus* est riche en flavonols sous forme de kaempférol, de rhamnetin, de rhamnocitrine et de quercétine-4'-O-rhamninoside. Généralement les espèces de ce genre contiennent des anthraquinones tels que l'émodin, chrysophanol comme les formes réduites de leur glycosides, alors que d'autre contienne des flavonoïdes (Ammar, Bhourri et al. 2009).

L'analyse HPLC-DAD de l'espèce *Rhamnus alaternus* L. confirme la présence d'anthraquinones comme noté dans le précédent études et autres nouveaux composés, à savoir

la lutéoline, quercétine-3-rhamnoside, acide p-coumarique, acide férulique, acide gallique, et de la rutine (Zeouk and Bekhti 2019).

1.1.4 Activités biologiques et usage traditionnel

L'extrait brut de Imlilisse est un puissant antimutagène, antigénotoxique, antiprolifératif, antimicrobien et antioxydant suite à des études antérieures, et donc était utilisé dans la médecine traditionnelle dans le traitement des complications hépatiques et dermatologiques ainsi que les problèmes cardiovasculaires, mais aussi employé en tant que digestif, diurétique, laxatif, astringent, hypotensif (Ammar, Bhouiri et al. 2009; Zeouk and Bekhti 2020).

Chez les cellules humaines, l'extrait de feuilles de *Rhamnus alaternus* L. module les niveaux d'expression des gènes impliqués à la fois dans la réparation de l'ADN et les systèmes de défense oxydative (Ammar, Bhouiri et al. 2009). La capacité des extraits de feuilles de *Rhamnus alaternus* L. sur les effets antigénotoxiques et sur le niveau d'expression génique a été respectivement étudiée dans un système d'essai bactérien, c'est-à-dire le chromotest SOS avec *Escherichia coli* PQ37 et dans une cellule lymphoblastique humaine K562. Les flavonoïdes totaux des extraits de méthanol et d'acétate d'éthyle ont été préparés à partir de poudre des feuilles de *R. alaternus* L. et caractérisés quantitativement pour la présence de composés polyphénoliques. Ensuite ils ont étudié la réponse au stress oxydatif en utilisant le profil transcriptionnel des gènes des cellules K562 stressées par H₂O₂ après incubation avec des extraits végétaux. L'effet des extraits testés sur la réponse SOS induite à la fois par l'aflatoxine B1 (10 g/essai) et le nifuroxazide (20 g/essai) a montré que l'extrait de flavonoïdes totaux présentait le niveau antimutagène le plus élevé vis-à-vis du mutagène indirect d'aflatoxine B1. Alors que l'extrait d'acétate d'éthyle a un effet antimutagène vis-à-vis du mutagène direct sur le nifuroxazide (Ammar, Bouhlel et al. 2007). Ces propriétés biologiques sont dues à sa richesse en composés phytochimiques appartenant à différentes familles comme les anthraquinones, les flavonoïdes et les anthocyanes (Zeouk and Bekhti 2019).

1.2 Thuya berbère (*Tetraclinis articulata* L.)

1.2.1 Généralité

En 1791 le botaniste Vahl a décrit le thuya berbère dans le nom scientifique *Tetraclinis articulata* sous le nom de *thuya articulata* puis il a été documenté au genre *Tetraclinis* par Benth en 1883 (Toumi-Benali 2009). C'est la seule espèce représentant le genre *Tetraclinis* de la famille de Cupressaceae qui fait partie du règne Plantae (Quezel and Santa 1963).

Tetraclinis articulata (Vahl, gomme de sandaraque ou thuya berbère) est une riche source des composés bioactifs. C'est un conifère à feuilles persistantes endémique des montagnes d'Afrique du nord, que l'on trouve au Maroc, en Algérie et en Tunisie et on arabe on l'appelle Araar Berhouch que l'on peut traduire par le faux cyprès, ainsi il peut être présent dans d'autres régions d'Europe (**Rached, Zeghada et al. 2018**).

Le thuya de berbère est un arbre presque exclusivement nord-africain. Si son optimum écologique se situe dans le semi-aride, il est néanmoins tolérant à d'autres milieux comme le subhumide et l'aride. Il accepte tous les sols et peut croître dans une amplitude altitudinale allant du niveau de la mer à 1600 mètre (**Bellakhdar 2003**).

Les plantules de thuya sont très semblables à celles du pin d'Alep, avec lesquelles d'ailleurs elles peuvent être confondues. En effet, toutes deux présentent durant la première année de petites feuilles en aiguilles d'un centimètre environ. Ce n'est que plus tard que les petites feuilles de la plantule du thuya s'imbriquent telles des écailles par quatre pour donner de petits rameaux articulés caractéristiques. Cela donne un feuillage très léger et ainsi le couvert du thuya reste suffisamment lumineux (**Hadjadj-Aoul 1995**).

1.2.2 Description botanique

Araar Berhouch est un arbre qui dépasse rarement 6 à 8 m de hauteur et atteint 30 cm en diamètre en moyenne, certaine peut avoir 20 m de haut pour 1 m de diamètre, mais cela reste très rare chez des sujets vieux (**Hadjadj Aoul, Chouieb et al. 2009**), et selon **Hadjadj Aoul, Chouieb et al. (2009)** cette arbre est caractérisé par :

- Les feuilles sont réduites en forme d'aiguilles de quelque centimètre opposées et imbriquées par deux.
- Les fleurs en chatons situées à l'extrémité des rameaux.
- Le fruit est un cône d'allure cubique s'ouvrant par quatre valves sous l'effet de la chaleur libérant ainsi six graines ailées.



Figure 2: Photographie de la morphologie de *Tetraclinis articulata* L. (original, 2021).

1.2.3 Les molécules bioactifs de *Tetraclinis articulata*

Tetraclinis est un genre inexploré reconnu pour son grand potentiel bioactif qui pourrait être exploré comme une plante médicinale, des études ont évalué les propriétés antioxydantes, antibactériennes, anti-inflammatoires et cytotoxiques de la substance active et ont trouvé que le dimère de catéchine de type B épicatechine et la catéchine sont les composés phénoliques les plus abondants présents parmi les neuf flavonoïdes identifiés tels que épicatechine, catéchine, myricétine, quercétine et dérivés glycosides de kaempférol (**Kouider and Assia 2017**).

L'étude de la composition chimique de l'huile essentielle de *Tetraclinis articulata* a noté la présence majoritaire de carvacrol, α -cédrène, cédrool et terpinèn-4-ol (**Barrero, Herrador et al. 2005**). Les huiles essentielles des parties aériennes de *Tetraclinis articulata* ont été identifiées et ont montré la présence de 18 composés dont l' α -pinène, le limonène, le camphre et l'acétate de bornyle étaient les principaux composants (**Buhagiar, Podestà et al. 2000**).

1.2.4 Activités biologiques et usage traditionnel

La richesse du Thuya berbère (*Tetraclinis articulata*) en composés bioactifs tel que les polyphénols et les huiles essentielles donnent à la plante une valeur médicinale importante en activités biologiques comme l'activité antimicrobienne, anti-tumorales, anti-inflammatoire et le

potentiel le plus important est l'activité antioxydant, qui est directement liée à la présence de composés phytochimiques, tels que les huiles essentielles (**Rached, Zeghada et al. 2018**).

En raison de l'existence de plusieurs molécules bioactifs précieuses, différentes parties de cette espèce du bassin méditerranéen ont été utilisées en médecine traditionnelle. Les parties aériennes (feuilles et branches) sont principalement utilisées pour le traitement des infections intestinales, respiratoires, gastriques, du diabète, de l'hypertension artérielle et des rhumatismes alors que toute l'installation, y compris les branches avec des feuilles, des fructifications (cônes) et des résines, ont été utilisés pour la peau pour des maladies telles que prurit, parasitose, mycose, piqûres d'insectes et pathologie de la sphère buccale (**Rached, Zeghada et al. 2018**).

1.3 Le pourpier (*Portulaca oleracea* L.)

1.3.1 Généralité

Le pourpier, communément appelée *Portulaca*, ou "Redjila" en arabe, fait partie du genre de plantes succulentes et d'arbustes de la famille des Portulacées. Le nom *Portulaca* signifie lait, dérivé du nom latin "laca" car cette plante contient un jus laiteux (**Boulos, Hadidi et al. 1984**). Elle fait partie des quarante espèces du genre *Portulaca* réparties surtout dans les zones à climat tempéré et tropical. On attribue au Pourpier les propriétés suivantes : antiscorbutiques, relaxantes et vermifuges, étant riche en sels minéraux et ayant une teneur en eau élevée (90%) et du mucilage, elle a des propriétés émollientes et calmantes pour l'irritation des muqueuses (**Salah and Chemli 2004**). Le Pourpier est cultivé comme un légume dans plusieurs pays des cinq continents et la France est le principal pays européen producteur et consommateur de ce légume ou il est donc traité comme une plante d'importance alimentaire (**Salah and Chemli 2004**).

La plante appartient à la famille de Portulacaceae du genre des Portulacae qui porte le nom de *Portulacae oleracea* L. selon **Okafor, Ayalokunrin et al. (2014)** sa floraison a lieu de juillet à octobre. Les fleurs ne s'ouvrent que le matin ou pas lorsque les conditions sont défavorables, la plante peut alors s'autoféconder. Les fleurs, sans nectar, sont généralement autogames. Le cycle de vie du Pourpier est de deux à quatre mois (**Salah and Chemli 2004**).

1.3.2 Description botanique

Des études antérieures de **Salah and Chemli (2004)** ont décrit le pourpier comme une plante annuelle ayant un port couché ou ascendant, fortement ramifié a :

- Tiges charnues, rougeâtres, de 10 à 30 cm de long.
- Les feuilles sont alternes, subalternes ou opposées, succulentes, glabres, obovales à spatulés jusqu'à 3 cm de long et 1.3 cm de large.
- Les grains sont ovales, très petites et généralement de couleur noire.
- La fleur de l'espèce possède deux septales inégaux, obtus, carènes au sommet, soudés à la base, caducs dans leur partie libre



Figure 3 : Photographie de la morphologie de la partie aérienne de *Portulaca oleracea* L. (original, 2021).

1.3.3 Les molécules bioactifs de *Portulaca oleracea* L.

Le pourpier est considéré comme un alicament car il porte les propriétés et les nutriments d'un aliment et des composés bioactifs utilisées pour les médicaments. Il est très riche :

- comme aliment ; en polysaccharide, l'amidon, tannin, cardia glycosides et glycosides d'antraquinone selon **Barakat and Mahmoud (2011)** et **Kim, Lee et al. (2013)**, et contient plusieurs acides telle que le glutathion, l'acide glutamique et l'acide aspartique, l' α -tocophérol et très riche en acides gras, en particulier l'acide alpha- linoléique (acides gras oméga-3) dont la concentration dans le pourpier est le plus présent dans les légumes à feuilles (**Liu, Howe et al. 2000; Hussein 2010**). Il contient plusieurs types de vitamines suite à des études de **Mohamed and Hussein (1994)** principalement : Vitamine A, certains Vit B (B1, B2), Vit C et des minéraux comme le magnésium, le manganèse, le calcium, le potassium, le fer, le phosphore, le sélénium et le zinc (**Alam, Juraimi et al. 2014; Uddin, Juraimi et al. 2014**).

- comme elle s'agit d'une plante médicinale elle est riche en composés phénoliques, flavonoïdes, caroténoïdes (β -carotène), dopamine et L-dopa, coumarines, des saponines et anthocyanes (**Lopez-Velez, Martinez-Martinez et al. 2003; Peksel, Arisan-Atac et al. 2006**).

1.3.4 Les activités biologiques et usage traditionnel

Redjila est considéré comme un alicament car elle contient de nombreux composés biologiquement actifs mais elle est aussi utilisé comme une bonne source de nutriments, et donc elle est employé comme antihelminthique, anti diarrhéique et bactéricide dans la dysenterie bacillaire, de plus elle est très efficace pour la cicatrisation des plaies et est également utilisée comme traitement anti-inflammatoire (**Dhole, Dhole et al. 2011**). De plus, cette plante est traditionnellement utilisée comme un agent anti-inflammatoire (yeux), anti diabétique, analgésique (tête) antibactérien, antioxydant, antifongique (**Chowdhary, Meruva et al. 2013**). En plus, Sa valeur médicinale est évidente de son utilisation pour le traitement des brûlures, maux de tête et les maladies liées à l'intestin, du foie, de l'estomac, la toux, l'essoufflement et l'arthrite (**Liu, Howe et al. 2000**).

1.4 La mélisse (*Melissa officinalis* L.)

1.4.1 Généralité

La mélisse, appelée aussi citronnelle, fait appartenir à la famille des Lamiacées. Le nectar de ses fleurs est très apprécié par les abeilles, et le nom même de la plante dérive du grec «melissa» qui signifie abeille ou de «meli» qui veut dire miel (**Ronat 2001**).

C'est une plante médicinale et aromatique (**Kothe 2007**) qui pousse intensivement en Europe centrale et méditerranéenne mais en raison de ses propriétés culinaires, elle est cultivé dans le monde entier (**Miron, Herrero et al. 2013**). Elle pousse sur tous types de sols sauf les plus humides. En sols léger et fertiles elle peut même être envahissante. L'idéale pour cette plante est un sol drainé, chaud mais pas trop sec, sablonneux ou argileux, riche en humus et un emplacement ensoleillé. Elle peut pousser dans des endroits ombragés mais sa teneur en huile essentielle sera amoindrie (**Teuscher, Anton et al. 2005**).

La famille des lamiacées (Lamiaceae) est l'une des familles les plus répandues dans le règne plantae avec plus de 7200 espèces réparties en environ 240 genres et 7 sous-familles (**Bräuchler, Meimberg et al. 2010**).

1.4.2 Description botanique

La mélisse est une plante médicinale aromatique vivace et herbacée de 30 à 80 cm de hauteur, à port de menthe, à feuilles vert vif d'odeur citronnée décrit selon **Pharmacognosie (1999)** par :

- Des fleurs qui sont groupées par trois ou six en verticilles axillaires unilatéraux, espacés le long de la tige et insérés à l'aisselle des feuilles supérieures et centrales.
- Un type d'inflorescence qui est la cyme ; blanches, rosées, brièvement pédonculées.
- Les feuilles sont simples, opposées, ovales, quelque fois légèrement cordiformes, pétiolées, largement dentées en scie, à nervation réticulée et mesurant de 5 à 8 cm sur 4 à 5 cm.



Figure 4: Photographie morphologique des compartiments de *Melissa officinalis* L. (**original, 2021**).

1.4.3 Composition chimique de la mélisse

Les principaux composants sont les huiles essentielles (jusqu'à 0,8 %), contenant des aldéhydes monoterpéniques à odeur citronnée (géranial, néral et citronellal), des dérivés hydroxy coumariniques comme l'esculétine, des dérivés de l'acide hydroxy cinnamique (4 à 7 %) aussi appelés tanins des Lamiacées, dont le principal est l'acide rosmarinique, des acides triterpéniques (acides ursolique et oléanolique) et des flavonoïdes (hétérosides de lutéoline, d'apigénine, de quercétine, de kaempférol) (**Wichtl, Anton et al. 1999**).

1.4.4 Les activités biologiques et usage traditionnel

Dans la médecine traditionnelle les bienfaits de cette plante est connus à calmer les personnes anxieuses et apaiser les troubles nerveux. Les arabes l'ont utilisée comme antispasmodique Alors que les européens l'ont employé comme digestif, calmant et pour le traitement antiviral (**Blumenthal, Goldberg et al. 2000**).

Suite à sa richesse en molécules bioactifs, la mélisse présente de nombreuses activités biologiques telles que l'activité antioxydante, hypoglycémique, hypolipidémique, antimicrobienne, anticancéreuse, propriétés antidépresseurs, anxiolytiques, antinociceptives, anti-inflammatoires, spasmolytiques, et antivirale (**Chizzola, Lohwasser et al. 2018**).

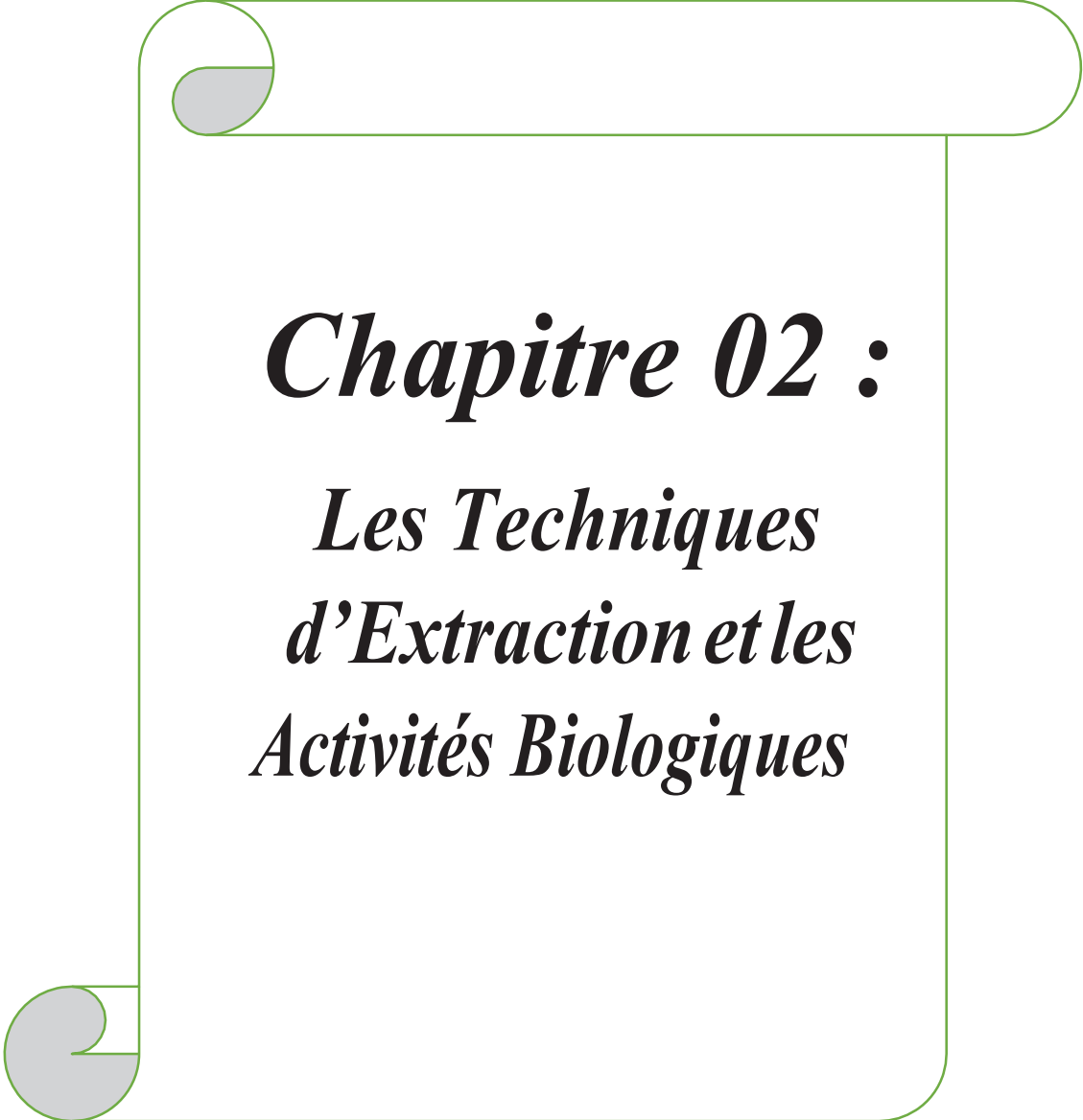
D'après **YBERT and DE LAAGE (2001)** la mélisse est bénéfique sur le moral pour les uns, son utilisation accroît la longévité, elle guérit les blessures, apaise les palpitations et les rages de dents. Elle élimine les éruptions dues au virus de l'herpès et en réduit la fréquence, comme elle diminue l'émotivité et apaise les palpitations cardiaques d'origine nerveuse. En plus, la mélisse est également indiquée lorsque l'anxiété provoque des troubles digestifs tels qu'indigestions, acidité, nausées, ballonnements et coliques.

1.5 Classification botanique détaillée des plantes étudiées

La taxonomie est la Science de la classification des végétales qui a pour objet de les décrire et de les regrouper en entités appelées taxons (familles, genres, espèces, etc.). Cette classification ne permet pas seulement d'organiser les plantes mais aussi savoir reconnaître une espèce végétale sauvage pour se nourrir et se soigner ou un prédateur à éviter (**Spichiger, Figeat-Hug et al. 2002**).

Tableau 1: Classification des plantes médicinales de la région de Bouira.

	<i>Rhamnus alaternus L.</i>	<i>Tetraclinis articulata</i>	<i>Portulaca oleracea L.</i>	<i>Melissa officinalis L.</i>
Règne	Plantae	Plantae	Plantae	Plantae
Division	Magnoliophyta	Pinophyta	Magnoliophyta	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida	Pinopsida	Magnoliopsida	Magnoliopsida
Ordre	Rhamnales	Pinales	Caryophyllale	Lamiales
Famille	Rhamnaceae	Cupressaceae	Portulacaceae	Lamiaceae
Genre	Reynosia	Tetraclinis	Portulacae L	Melissa
Espèce	<i>Rhmanus alaternus</i>	<i>Tetraclinis articulata</i>	<i>Portulacae oleracea L</i>	<i>Melisse officinalis.L</i>
Référence	(Quezel and Santa 1963)	(Quezel and Santa 1963)	(Okafor, Ayalokunrin et al. 2014)	(Quezel and Santa 1963)



Chapitre 02 :
Les Techniques
d'Extraction et les
Activités Biologiques

Chapitre 02 : Les Techniques d'Extraction et les Activités Biologiques

2 Les techniques d'extraction conventionnelle et non-conventionnelle

L'extraction solide-liquide est un procédé de transfert de matière entre deux phases. Une phase solide, qui contient la substance à extraire et une deuxième phase liquide, le solvant d'extraction. Suite au contact entre le solvant et la matière végétale, les substance ayant une affinité pour le solvant sont solubilisées et passent de la phase solide dans la phase liquide (**Leybros and Frémeaux 1990**). Dans notre travail on a focalisée sur trois techniques d'extraction des plantes médicinales de la région de *Bouira* :

2.1 Extraction assistée par ultrasons (non conventionnelle)

L'extraction par ultrasons (sonication) est une méthode moderne, simple, efficace et peu couteuse. Elle Utilise des ondes qui sont inaudibles avec des fréquences dans la gamme de 16 KHz–500 MHz, au-dessus de la s supérieure de l'audition humaine (**Poux, Cognet et al. 2010**).

Les effets mécaniques des ultrasons permettent une plus grande pénétration des solvants dans les matériaux cellulaires et améliorent le transfert de masse grâce aux effets de micro-courants (**Picó 2013**).

Pendant le processus d'EAU, des ondes longitudinales sont créées lorsqu'une onde sonique rencontre un milieu liquide, créant ainsi des régions de compression et de raréfaction alternées induites sur les molécules du milieu. Dans ces régions de changement de pression, la cavitation se produit et des bulles de gaz se forment les ultrasons entraînent de très fortes modifications de la température et de la pression à l'intérieur des bulles (**Picó 2013**). Ces bulles ont une plus grande surface pendant le cycle de raréfaction (expansion) (**Picó 2013**).

Les ultrasons entraînent de très fortes modifications de la température et de la pression à l'intérieur des bulles. Au moment où la dimension critique est atteinte, les bulles implosent comme présenter dans la figure 05 (**Mason, Paniwnyk et al. 1996**).

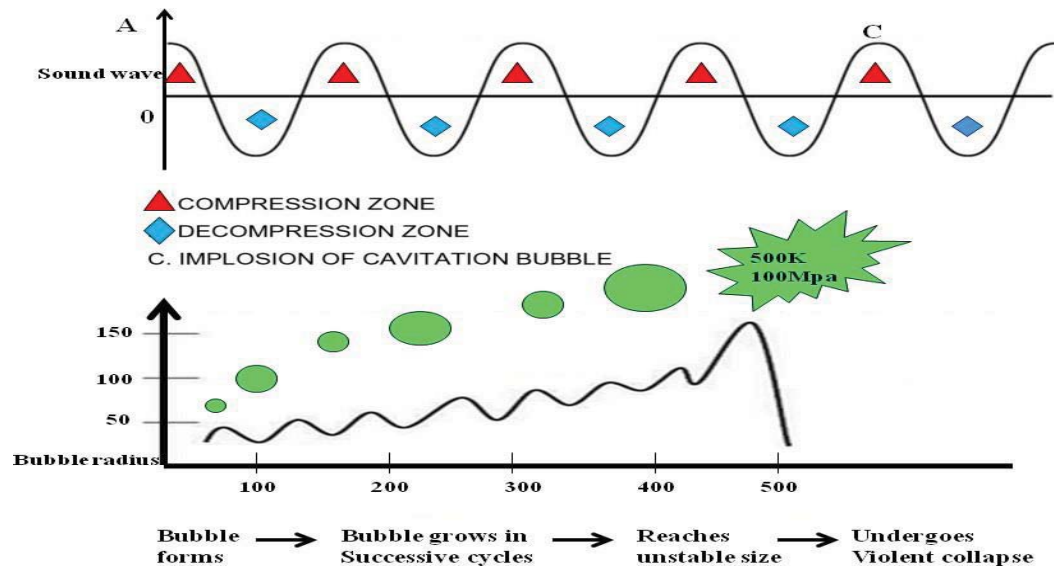


Figure 5: Schéma du phénomène de cavitation produit par l'ultrason (Wen, Zhang et al. 2018).

Le phénomène de cavitation peut être décrit en quatre étapes. Dans la première étape, les bulles de cavitation sont générées près de la surface de la matrice végétale lors de l'application d'ondes ultrasonores. Dans la deuxième étape, les bulles sont effondrées, libérant un microjet avec pression et température vers la surface. Dans la troisième étape, la surface de la matrice est rompue et un contact direct est établi entre les composants actifs à l'intérieur de la cellule et le solvant extérieur. Enfin, les composants actifs sont libérés et transportés vers le solvant. De cette façon, les ondes ultrasonores améliorent le transfert de masse (Panja 2018).

Mais il faut savoir que les caractéristiques des ultrasons (la fréquence et l'intensité), les propriétés du produit (la viscosité et la surface du produit) et de l'environnement, et les conditions ambiantes (la température et la pression) peuvent influencer sur la capacité des ultrasons à provoquer une cavitation (Picó 2013).

2.2 Extraction conventionnelle (Macération)

La macération est la méthode d'extraction solide-liquide la plus simple. Elle consiste en la mise en contact du matériel végétal avec le solvant sans ou avec agitation, habituellement à température ambiante. L'extraction aura lieu par pénétration du solvant dans les cellules, ce phénomène provoquant leur gonflement et la rupture des liaisons moléculaires de faible énergie. Les extractibles sont alors dissouts et diffusent progressivement des cellules vers le solvant. L'agitation mécanique des particules dans le solvant permet leur maintien en suspension et

l'homogénéisation du milieu. Elle a un effet toujours favorable sur l'opération car elle permet de réduire la résistance au transfert de solutés au niveau de l'interface solide-liquide (couche limite) et d'augmenter le coefficient de transfert. Si l'agitation est très intense et/ou maintenue durant une longue période, elle peut favoriser des chocs entre les différentes particules et permettre ainsi l'éclatement de certaines cellules qui vont libérer leur contenu cellulaire dans le milieu (**Dibert, Cros et al. 1989; Leybros and Frémeaux 1990**).

L'augmentation de la température accroît la solubilité et la diffusivité dans la solution et réduit sa viscosité. La chaleur facilite l'extraction aussi car elle augmente la perméabilité des parois cellulaires. Cependant cela peut provoquer une diminution de la sélectivité de l'extraction (**Cissé, Bohuon et al. 2012; Fischer, Carle et al. 2013**).

L'opération bien que généralement longue et à rendement souvent médiocre, est utilisée dans le cas d'extraction de molécules thermosensibles. Pour être efficace, une macération sans agitation, peut durer de 4 à 10 jours environ ; ceci peut présenter quelques inconvénients, en termes de fermentation, ou de contamination bactérienne notamment si le solvant utilisé est de l'eau. Ces phénomènes peuvent entraîner une dégradation des molécules actives (**Amor 2008**).

3 Les activités biologiques étudiées sur les plantes médicinales de la région de *Bouira*

L'activité biologique décrit un avantage ou un effet bénéfique des médicaments ou des drogues sur l'organisme. Si la médecine est un mélange chimique complexe, l'activité est exercée par les ingrédients actifs de la substance ou pharmacophore, mais il peut être modifié par un autre composant. Parmi les différentes propriétés des produits chimiques Composé, l'activité pharmacologique/biologique joue un rôle vital car elle montre l'utilisation du composé dans l'application médicales. Cependant, le composé peut présenter certains effets nocifs et toxiques, qui peuvent empêcher leur utilisation dans les domaines médicaux (**Soliman, Elsayy et al. 2020**).

Notre étude est basée sur l'exploitation de certaines activités biologiques qui se trouvent dans les plantes médicinales étudiés de la région de *Bouira* pour déterminer leur impact dans l'application médicale.

3.1 L'activité antioxydante des extraits des plantes médicinales

De nos jours, les biologistes et les chercheurs s'intéressent de plus en plus à la biologie des radicaux libres. Ce n'est pas seulement à cause de leur rôle dans des phénomènes aigus comme les traumatismes ou l'ischémie, mais aussi parce qu'ils sont impliqués dans de nombreuses pathologies chroniques liées au vieillissement, comme le cancer, les maladies cardiovasculaires et inflammatoires, et la dégradation du système immunitaire de l'organisme. Cependant l'organisme possède un système composé d'antioxydants et d'enzymes, qui travaillent ensemble à prévenir les dommages aux composants cellulaires tels que l'ADN, les lipides et les protéines qui définissent l'activité antioxydant (Guinebert, Durand et al. 2005).

3.1.1 Les radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique (atome ou molécule) contenant un ou plusieurs électrons célibataire (électron non apparié sur une orbitale). Ce radical libre aura toujours tendance à faire remplir son orbitale en captant un électron pour devenir plus stable, il va donc se réduire en oxydant un autre composé (Goudable and Favier 1997).

Le métabolisme cellulaire produit à l'état physiologique une variété de radicaux libres dérivés de l'oxygène (RLO). Dans certaines conditions pathologiques, ces RLO ainsi que leurs dérivés sont produits de façon excessive (Afonso, Champy et al. 2007).

Parmi les types de radicaux libres qui peuvent se former dans les cellules, il faut distinguer un petit groupe de composés radicaux libres qui jouent un rôle particulier en physiologie, que nous appelons radicaux libres primaires, qui sont directement dérivés de l'oxygène. La collection des radicaux libres primaires est souvent appelée espèces réactives de l'oxygène (ROS) car il comprend les radicaux libres de l'oxygène lui-même tel que le radical superoxyde O_2^- , le radical hydroxyle OH^- , l'oxyde nitrique NO^- , et certains dérivés oxydants actifs ~~en~~ radicaux à toxicité importante comme l'oxygène singulet 1O_2 , sur l'oxyde d'hydrogène H_2O_2 , le peroxyxynitrite $ONOO^-$. D'autres radicaux libres, appelés radicaux libres secondaires (radical peroxy ROO^- , radical alcoxy RO^-), sont formés par la réaction de ces radicaux libres primaires avec les composés biochimiques de la cellule (Novelli 1997).

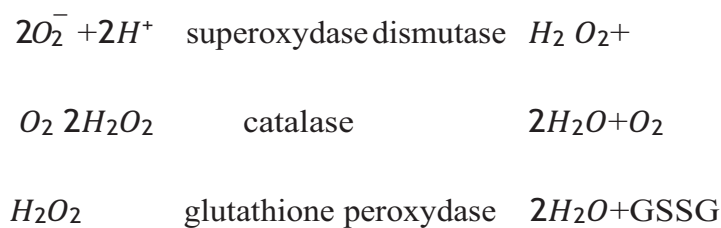
3.1.2 Les antioxydants

Les antioxydants sont des substances qui peuvent neutraliser ou réduire les dommages causés par les radicaux libres dans le corps et aider à maintenir la concentration non cytotoxique de ROS dans les cellules de l'organisme. Par conséquent, notre corps répondra constamment

à cette production permanente de radicaux libres par deux lignes de défense dans la cellule avec des capacités de défense différentes pour détoxifier la cellule (**Favier 2003**).

3.1.3 Les antioxydants primaires

Les cellules possèdent des enzymes antioxydants, qui sont un système de défense très efficaces. Cette ligne de défense est constituée de superoxyde dismutase (SOD), de catalase et de peroxydase (glutathion et acide ascorbique) (**Favier 2003**), et qui agissent sur les radicaux libres primaires, selon les réactions suivantes :



3.1.4 Les antioxydants secondaires

Kohen and Nyska (2002) ont proposées plusieurs substances comme antioxydants dans le corps, ils comprennent la vitamine E, acide ascorbique, bêta-carotène, flavonoïdes et les composés phénoliques. Ce sont des molécules exogènes, contrairement aux enzymes antioxydants, les molécules antioxydants éliminent les radicaux libres individuels. Par conséquent, pour pouvoir à nouveau fonctionner, cette molécule antioxydante doit être régénérée par d'autres systèmes selon **Dacosta (2003)**.

3.1.5 Balance Oxydants /Antioxydants et stress oxydant

La balance Oxydants /Antioxydants est maintenu en équilibre quand le système de défense antioxydant est capable de faire face et détruire les radicaux produits en excès selon les études de **Favier (2003)**.

La formation de radicaux libres est une conséquence normale du métabolisme aérobie chez l'homme. Toutefois, un déséquilibre entre la production de radicaux libres et les mécanismes de défense antioxydante conduit à un stress oxydatif pouvant entraîner des altérations moléculaires et cellulaires que les lipides et l'ADN sont particulièrement sensibles à l'action des radicaux libres (**Goudable and Favier 1997**). Ce déséquilibre est due d'une raison à la surproduction radicalaire (tabac, alcool, pollution, ...) ou d'une diminution des capacités antioxydantes (insuffisance d'apports des micronutriments antioxydants, inactivation enzymatiques) (**Sohal, Mockett et al. 2002**).

3.2 L'activité antibactérienne des extraits des plantes médicinales

Les maladies infectieuses constituent une préoccupation importante de santé publique à cause de leur fréquence et de leur gravité dans le monde. Les agents responsables de ces infections sont divers et variés comprenant aussi bien les champignons, les bactéries, les protozoaires que des virus (Yala, Ntsameso-Mve-Mba et al. 2016).

Le traitement des infections bactériennes repose principalement sur l'utilisation d'antibiotiques. La prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces médicaments peut conduire à la sélection de souches multirésistantes, la recherche s'oriente donc vers l'importance de découvrir de nouvelles voies qui sont une source d'inspiration pour de nouvelles herbes (Billing and Sherman 1998).

Alors dans notre étude on a essayé de déterminer l'effet biologique de certaines plantes médicinales de la région de *Bouira* sur l'inhibition de croissance des différentes bactéries croisées.

3.2.1 *Staphylococcus aureus*

Fait partie de la famille des *Micrococcaceae* à gram positif, catalase positif, qui se développe par aéro-anaérobie, produit une coagulase et qui est souvent pathogène. Il s'agit de germes très répandus dans la nature (air, eau, sol) mais immobile, font partie de la flore normale de nombreux individus qui sont des porteurs asymptomatiques, peuvent être trouvés particulièrement dans les fosses nasales antérieures ou même isolés des selles. Cependant ces souches peuvent être à l'origine d'auto-infections ou contaminer d'autres individus (Avril, Dabernat et al. 2000).

Staphylococcus aureus est un membre courant de la communauté microbienne humaine, car il peut causer des Maladies par deux mécanismes différents. L'une est basée sur la capacité de ces organismes à se reproduire et à envahir les tissus, les symptômes cliniques en lien avec ces infections sont relativement long, habituellement se déclenchent après plusieurs jours. L'autre repose sur leur capacité à produire des enzymes et des toxines extracellulaires en provoquant des symptômes gastro-intestinaux (entérocolite ou intoxication alimentaire) et caractérisés par des vomissements en fusée, une diarrhée, de la fièvre, des crampes abdominales, un déséquilibre électrolytique et une perte de liquides, le déclenchement de la maladie dans ce cas présente une période d'incubation courte et caractéristique de 1 à 8 heures (Organisation mondiale de la Santé 2017).

Le traitement de choix est l'utilisation des antibiotiques des groupes antituberculeux, glycopeptides, acide fusidique, cyclines, oxazolidinones, quinolones mais il reste toujours préférable d'utiliser la pénicilline M (**Mohamed 2017**).

3.2.2 *Escherichia coli*

Isolée pour la première fois par Escherich en 1885, *Escherichia coli* est l'espèce bactérienne qui a été la plus étudiée par les fundamentalistes pour des travaux de physiologie et de génétique. Sont des bacilles mobiles à Gram négatif dont les dimensions varient de 1 à 6 μm de long et 0,3 à 1 μm de large, se développant en aéro-anaérobiose et sur gélose nutritive ordinaire. *E. coli* est une espèce commensale du tube digestif de l'homme et des animaux qui peut aussi se trouver dans l'eau d'alimentation (**Avril, Dabernat et al. 2000**).

E. coli provoque une diarrhée qui va de modérée et non sanglante à très sanglante, et qui ne peut être distinguée d'une colite hémorragique, 2 à 7 % des cas développent un syndrome urémique hémolytique potentiellement léthal qui est caractérisé par une insuffisance rénale grave et une anémie hémolytique. Elle provoque aussi des crampes abdominales, des nausées et des maux de tête et même de vomissements et de fièvre chez les nourrissons (**mondiale de la Santé 2017**). Selon **Mohamed (2017)** Les propositions thérapeutiques en fonction de l'antibiogramme et de la localisation de l'infection, les antibiotiques conseillés sont les groupes de pénicilline A, aminoside, quinolones et les céphalosporines de 3^{ème} génération.

3.2.3 *Listeria innocua*

Le genre *Listeria* regroupe de petits bacilles à Gram positif de forme régulière, courts, à bouts arrondis parfois incurvés, mobiles à 20-25°C par des flagelles péritriches, Ce sont des bactéries aéro- anaérobies facultatives et non sporule. Ont les caractères suivants : catalase positive, oxydase négative ; glucose fermenté avec production d'acide lactique. Largement répandue dans la nature, elle a été isolée dans le sol, l'eau, les végétaux (**Avril, Dabernat et al. 2000**). *Listeria innocua* qui est l'espèce utilisée dans notre étude est considérée comme non pathogène aux êtres humains et mammifères (**Hof and Hefner 1988**).

3.2.4 *Bacillus cereus*

Bacillus cereus appartient au Groupe 1 du genre *Bacillus*, aéro-anaérobie facultatif, mobile, à gram positif, catalase positif. Ce germe est largement répandu dans la nature, dans l'air et le sol, il peut contaminer les aliments par ses spores (Avril, Dabernat et al. 2000).

Les maladies humaines causées par *bacillus cereus* sont due à des aliments empoisonnement qui se caractérisent principalement par la diarrhée et vomissement. En plus de son potentiel d'intoxication alimentaire, *B. cereus* est de plus en plus reconnu comme un pathogène opportuniste qui peut causer des infections locales et systémiques. Les personnes immunodéprimées et les nouveau-nés sont particulièrement à risque d'infections à *B. cereus* telles que les infections du système nerveux central, système nerveux, endocardite, voies respiratoires et urinaires infections, infections des plaies et septicémies (Ehling-Schulz, Lereclus et al. 2019). Le traitement recommandé est les fluoroquinolones (ciprofloxacine, ofloxacine ou levofloxacine) (Mohamed 2017).

3.2.5 *Klebsiella pneumoniae*

Les *Klebsiella* sont des *Enterobacteriaceae* toujours immobiles, à gram négatif possédant généralement une capsule et fermentant de nombreux glucides. Ces espèces sont fréquemment isolées des eaux, du sol et des végétaux. Elles sont présentes dans la flore fécale de l'homme et sont souvent commensales de la peau, des muqueuses et des voies respiratoires (Avril, Dabernat et al. 2000).

Les individus les plus exposés sont ceux dont le système immunitaire est déficient, par exemple les personnes âgées ou les très jeunes enfants, les patients souffrant de brûlures ou de blessures graves, ceux qui subissent un traitement immunosuppresseur ou ceux qui sont infectés par le virus de l'immunodéficience humaine. Et peut même cause des infections graves, telles que des pneumonies destructives (mondiale de la Santé 2017). D'après Mohamed (2017) le traitement est de prendre des céphalosporines injectables avec un aminoside.

3.2.6 *Enterococcus faecalis*

Ce sont des cocci à Gram positif, sphériques ou ovoïdes, disposés en paire pour former des diplocoques et pouvant se présenter sous forme de chaînettes parfois longues, ils ne sporulent pas. Peuvent se développer en aérobiose, et ont un métabolisme fermentatif. Sont ubiquitaires vivent dans les eaux ou les aliments ou au niveau des téguments et des muqueuses de l'homme ou des animaux (Avril, Dabernat et al. 2000).

Provoque plusieurs types d'infections comme les infections abdominaux pelviennes, Infections de la peau et des parties molles, Infections néonatales et les Infections urinaires qui seront traité suite à un schéma de référence en terme de bactéricide qui sont une association de bétalactamines et aminoside ou à défaut en cas de résistance glycopetides et aminoside (**Mohamed 2017**).

3.2.7 *Salmonella thyphimurium*

Les *Salmonella* Appartiennent à la famille des Enterobacteriaceae. Ce sont des bacilles mobiles à Gram négatif qui ne fermentent pas le lactose, mais la plupart produisent du sulfure d'hydrogène ou des gaz issus de la fermentation des glucides, ces infections se traduisent généralement par quatre manifestations cliniques : gastro-entérite (allant de la diarrhée modérée à la diarrhée foudroyante, nausées et vomissements), bactériémie ou septicémie (fort accès de fièvre avec hémocultures positives), fièvre typhoïde/fièvre entérique (fièvre durable avec ou sans diarrhée) et un état porteur chez les personnes ayant déjà eu une infection (**mondiale de la Santé 2017**). Le traitement conseillé par **Mohamed (2017)** est l'utilisation l'antibiotique tel que les pénicillines A, sulfamides et les phénicoles.

3.3 L'activité antifongique des extraits des plantes médicinales

Dans différentes parties du monde, il y a une inquiétude croissante au sujet de la contamination des aliments, l'exposition environnementale et professionnelle aux spores fongiques de différentes espèces qui sont connus par leurs implications dans les infections opportunistes humaines. Dans notre étude on essaye de voir si notre extraits ont des capacités antifongique sur plusieurs espèces.

3.3.1 *Aspergillus niger*

Aspergillus niger est un champignon ascomycète filamenteux qui est omniprésent dans l'environnement et a été impliqué dans des infections opportunistes chez l'homme (**Baker 2006**). Ce champignon a des colonies à croissance rapide (4,5-6,5 cm en 10 jours à température ambiante), plates, souvent sillonnées radialement, granulaires, au départ blanc puis jaune, devenant noir en maturité (**Gugnani 2003**). C'est une espèce très pathogène qui provoque plusieurs allergies aux hommes, l'hépatotoxicité et la carcinogénicité. Secrètent aussi des mycotoxines qui sont néphrogènes, hépatocarcinogènes et provoquent même des infections des poumons et des oreilles pour les patients avec faible système immunitaire. De plus elle provoque la pourriture des plantes (**Gautam, Sharma et al. 2011**).

3.3.2 *Aspergillus flavus*

Cette espèce est la principale cause de la contamination de l'aflatoxine du maïs, des graines de coton et des noix. La population de *A. flavus* est caractérisée par leur forte capacité à produire du sclerotia ou l'aflatoxine qui est un métabolite secondaire qui est à la fois immunosuppresseur et cancérigène pour les animaux et les humains (**Cotty 1989; Scheidegger and Payne 2003**). Les colonies ont une croissance modérément rapide (3,5-5,0 cm après 10 jours à température ambiante) ou relativement rapide (6-7,5 cm après 10 jours à température ambiante), plat, floconneux à granuleux, parfois sillonné radialement ou cérébriforme, jaune-vert vif, parfois jaune-brun avec crème inversée colorée ou rosée (**Gugnani 2003**).

3.3.3 *Aspergillus fumigatus*

Aspergillus fumigatus est un champignon exceptionnel parmi les *Aspergillus* en étant à la fois un agent pathogène primaire et opportuniste des voies respiratoires, sinus, poumons, lésions cutanées et sous-cutanées des tissus ainsi qu'un allergène associé à l'asthme sévère et à la sinusite (**Richardson, Fedorova et al. 2008**). Les colonies s'étendant très rapidement sur le milieu (5,0 à 7,0 cm après 10 jours à température ambiante), plates, veloutée ou poudreuse à feutre, parfois floconneuses, d'abord blanches devenant vertes, bleu-vert ou vert fumé avec marge blanche avec la sporulation, thermotolérante dont la température de croissance est comprise entre 15 et 48°C (**Morin 1994; Gugnani 2003**).

3.3.4 *Fusarium verticillioides*

L'ascomycète filamenteux *Fusarium verticillioides* est à la fois un endophyte et un agent pathogène du maïs et est une menace pour la santé dans de nombreuses régions du monde parce qu'il peut contaminer le maïs avec fumonisines, métabolite secondaire toxique (**Larson, Kendra et al. 2011**). La contamination du maïs cultivé en plein champ par la mycotoxine fumonisine est très préoccupante pour les aliments et la sécurité pour animaux et hommes en raison de son rôle causal dans la leucoencéphalomalacie équine. Carcinogénicité hépatique et rénale (**Venturini, Assante et al. 2013**).

Les *Fusarium* poussent sur milieu Sabouraud, mais se développent mieux sur gélose au malt ou sur milieu PDA (potato-dextrose-agar). Leur température optimale de croissance est comprise entre 22 et 37°C. Sur les milieux de culture, les *Fusarium* forment des colonies

duveteuses ou cotonneuses a couleur blanc à pêche devenant vinacé à violet (**Chermette and Bussieras 1993**).

3.3.5 *Penicillium sp*

Penicillium est l'un des genres les plus grands et les plus importants de champignons microscopiques, avec plus de 400 espèces décrites réparties dans le monde entier, son nom vient du latin «*penicillus*», qui fait référence à l'aspect pinceau des conidiophores qui ressemblent au pinceau d'un peintre (**Visagie, Houbraken et al. 2014**).

Pour identifier les espèces de *Penicillium*, on se concentre traditionnellement sur la couleur et la texture des colonies, le taux de croissance et la taille des colonies sur des milieux standardisés, la morphologie du conidiophore. Ces caractéristiques morphologiques et biochimiques peuvent toutefois être influencées ou modifiées par divers facteurs environnementaux ce qui complique à la fois l'identification et la classification taxonomique (**Yin, Zhang et al. 2017**).

Ces espèces sont très dangereux pour la santé humaine, la plupart des cas présentaient de la fièvre, une perte de poids, des lésions cutanées, une adénopathie généralisée et une hépatomégalie, des signes respiratoires ont également été observés. Les sites de l'infection osseuse ont été les côtes, os longs, crâne, vertèbres lombaires, omoplates et région temporomandibulaire. L'ensemble de la peau du visage et des manifestations orales ont été décrites comme des lésions papulaires et ulcérées (**Lin, Ran et al. 2012**).



Chapitre 03 :
Matériel et Méthodes

Chapitre 03 : Matériel et méthodes

Les plantes médicinales sont à la fois un produit fini destiné à la consommation et une source essentielle pour l'obtention de nouvelles substances actives. Elles représentent une source de revenu non négligeable pour de nombreuses populations (**Bouزيد, Yahia et al. 2011**).

L'extraction est l'étape cruciale pour la récupération et l'identification des molécules bioactives à partir des plantes médicinales afin de les utiliser dans des formulations pharmaceutiques et alimentaires. Les extractions conventionnelles telles que l'hydrodistillation, le soxhlet, la macération, etc. ont été utilisées dans l'industrie pharmaceutique, où une grande quantité de solvant (solvant toxique et non toxique) a été utilisée avec des temps d'extraction plus longs, pour lesquels ils ne sont pas assez efficaces pour récupérer des rendements acceptables des composés spécifiques à partir des sources naturelles. Les tendances récentes des technologies d'extraction se sont concentrées sur l'intensification du processus d'extraction, Le choix de la méthode d'extraction a pour but d'extraire le maximum des molécules chimiques contenant dans les feuilles des plantes en utilisant des solvants organiques qui accélèrent et augmentent le rendement d'extraction Par conséquent notre travail a été basé sur en deux axes principaux ;

La première partie s'intéresse à une comparaison entre les techniques d'extraction conventionnelle (macération, Agitation à bain marie) et non-conventionnelle (ultrasons) sur la plante *Rhamnus alaternus* L. pour déterminer la meilleure méthode qui pourrait fournir un rendement d'extraction plus élevé et une pureté et une qualité plus élevées du produit.

Une deuxième partie basée sur l'évaluation de plusieurs activités biologiques telles que l'activité antioxydante, l'activité antimicrobienne, et l'activité antifongique sur quelques plantes médicinales de la région de *Bouira*.

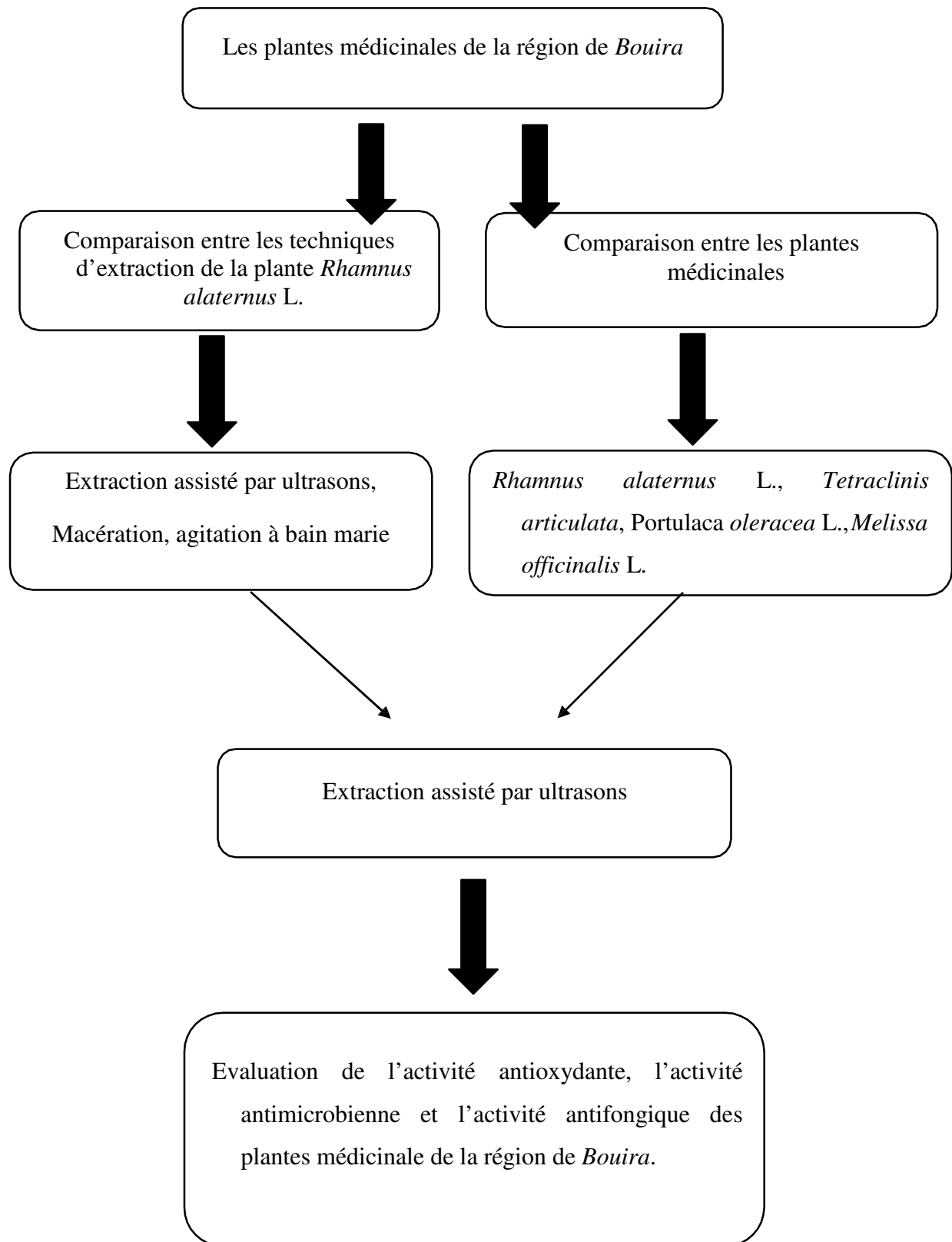


Figure 6: Schéma explicative de chemin de travail suiviez dans notre étude.

4 Matériels et réactifs

Le tableau ci-dessous représente le matériel et les réactifs qui ont été utilisé dans notre étude :

Tableau 2 : Les différents produits et appareillages utilisé dans l'évaluation des activités.

produits chimique	Appareils
Ethanol	Balance de précision (OHAUS, PX85, B937268868, USA).
phosphate de sodium monobasique monohydraté ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)	Spectrophotomètre UV visible (UV/vis Spectrophotometre, SP-3000nano, 5T5701-143132-00, Japan).
molybdate d'ammonium tetrahydraté ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)	Etuve ventilée (memmert, D39263/D39264, B319.0656, Germn).
L'acide sulfurique (H_2SO_4) phosphate de sodium dibasique dodecahydraté ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)	Tamiseur 200 μm . Bain marie (memmert, L519.0937, Germany).
ferricyanure de potassium ($\text{C}_6\text{N}_6\text{FeK}_3$)	Plaque agitatrice (Stuart, R600002574, UK-PRC).
Acide trichloracétique ($\text{C}_2\text{HCl}_3\text{O}_2$)	Plaque chauffante (Stuart, R600002574, UK-PRC).
chlorure ferrique (FeCl_3)	Centrifugeuse (SIGMA, 3-16L, 172577, Germany).
ABTS (acide 2,2'-azino-bis (3éthylbenz-thiazoline-6-sulfonique))	Lyophilisateur (CHRIST, 22645, Germany).
persulfate de potassium ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$)	Autoclave (WiseClave, WAC-80, 0400930108R001, Korea).
Agar-Agar	Ultrasons à bain (J.P.SELECTA,s.a., 611898, Spain).
glucose	Vortex (Nahita, 50681500)
Milieu Muller-Hinton (TMMEDIA)	réfrigérateur
Milieu Gélose nutritive (Liofilchem)	PH mètre (Mettler-Toledo, B615331415).

5 La Récolte des matrices végétal

Dans notre étude, pour les quatre plantes la récolte a été faite au niveau de différents endroits de la région de *Bouira* de manière aléatoire dans les montagnes et les terre agricole de cette région comme est présenté dans le tableau 03 ci-dessous qui résume les situations géographiques et échantillonnage :

Tableau 3 : Distribution géographiques des plantes médicinales étudiées de la région de Bouira.

Nom botanique	Echantillonnage		Les coordonnées		
	Date de récolte	Lieu de récolte	Latitude	longitude	altitude
<i>Rhamnus alaternus</i> L	27/03/2021	LAKHDARIA	N 36°34'19"	3°35'30"	174m
<i>Tetraclinis articulata</i>	26/04/2021	Ferkioua	N 36°32'21"	3°21'55"	692m
<i>Portulaca oleracea</i> L	28/04/2021	La capère	N36°34' 00"	3°34' 21"	112m
<i>Melissa officinalis</i> L	28/04/2021	Khadiria	N36°32' 37	3°41'55"	334m

6 Les souches bactériennes et fongiques testées

Les souches utilisées sont des souches de référence de l'American type culture collection (ATCC), conservées à 4°C dans des boîtes de pétri ou dans des tubes à essais contenant de la gélose inclinée (le tableau 04). Les espèces fongiques *Aspergillus niger* (A), *Aspergillus flavus* (C), *Aspergillus fumigatus* (B), *Fusarium verticillioide* (E), et *Penicillium sp* (D) sont respectivement obtenues du laboratoire de microbiologie de l'université de Bouira.

Tableau 4 : Les souches bactériennes utilisées dans l'étude d'activité antibactérienne.

Nom de la souche	Référence
<i>Escherichia coli</i>	ATCC25922
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 10876
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 700603
<i>Listeria innocua</i>	CLIP 74915
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 49542
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC25923
<i>Salmonella typhimurium</i>	ATCC 13311

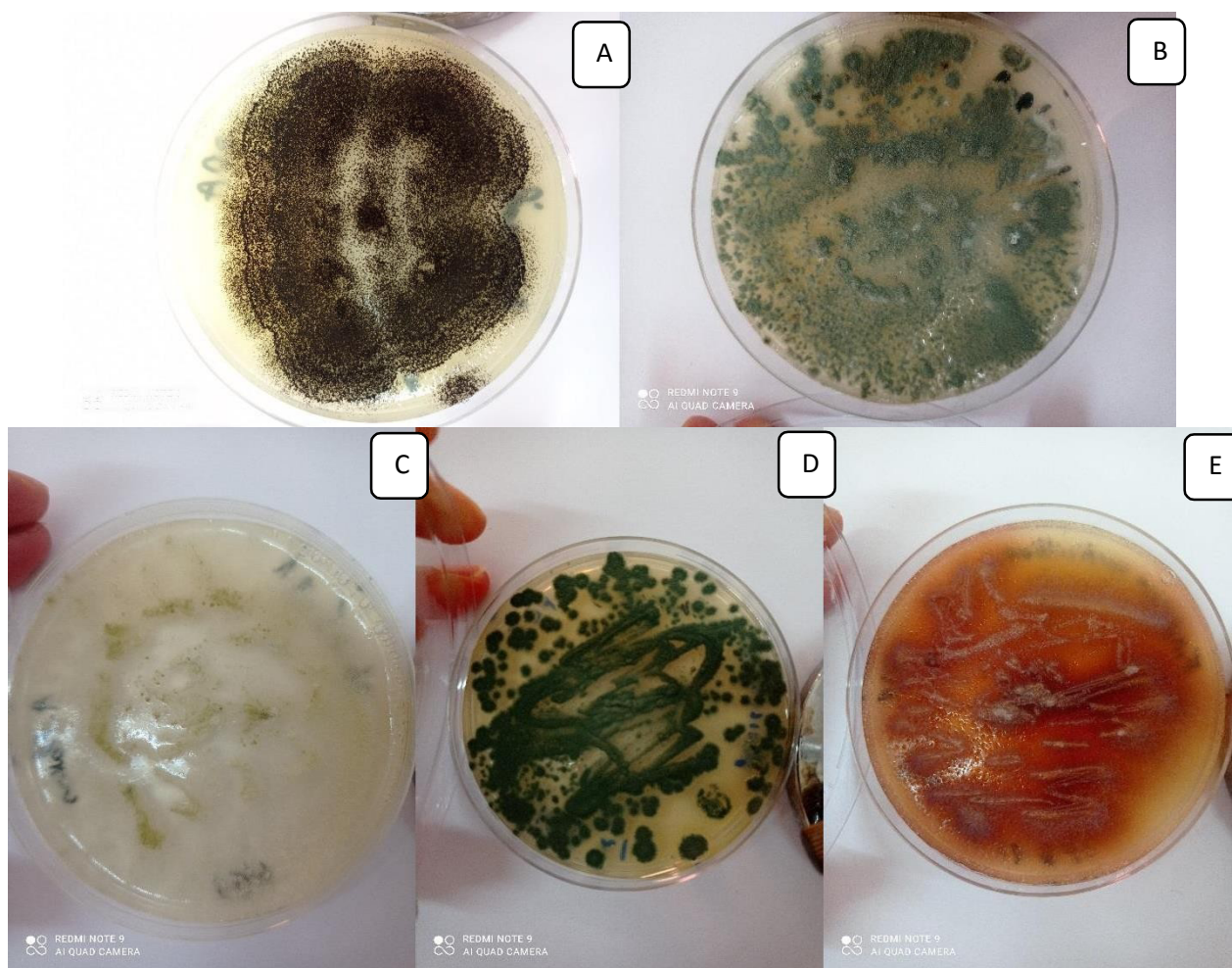


Figure 7 : Les champignons utilisés dans l'évaluation de l'activité antifongique. (Original, 2021).

7 Préparation des poudres des plantes étudiées

Les plantes ont été utilisées après une journée de la récolte. Chaque plante a été nettoyée pour l'élimination des tâches noires et les poussières, L'ensemble des feuilles représentatives de chaque plant ont été rincé à l'eau de robinet suivi d'eau distillée. Puis séchées à l'étuve ventilée ($T^{\circ}= 40^{\circ}\text{C}$, la vitesse: 70%) pendant 3 jours.

Viens ensuite le broyage des feuilles préalablement séché dans un broyeur électrique. La dernière étape c'est le tamisage à l'aide d'un tamiseur $200\ \mu\text{m}$ jusqu'à l'obtention des particules fines de la poudre ce qui favorise l'action du solvant en augmentant la surface de contact. Les poudres obtenues ont été mis dans des flacons en verre étiquetés portant le nom, lieu et la date de récolte de chaque plante et conservés à l'obscurité jusqu'à l'utilisation. Le protocole de préparation de l'échantillon est illustré à la figure 08.

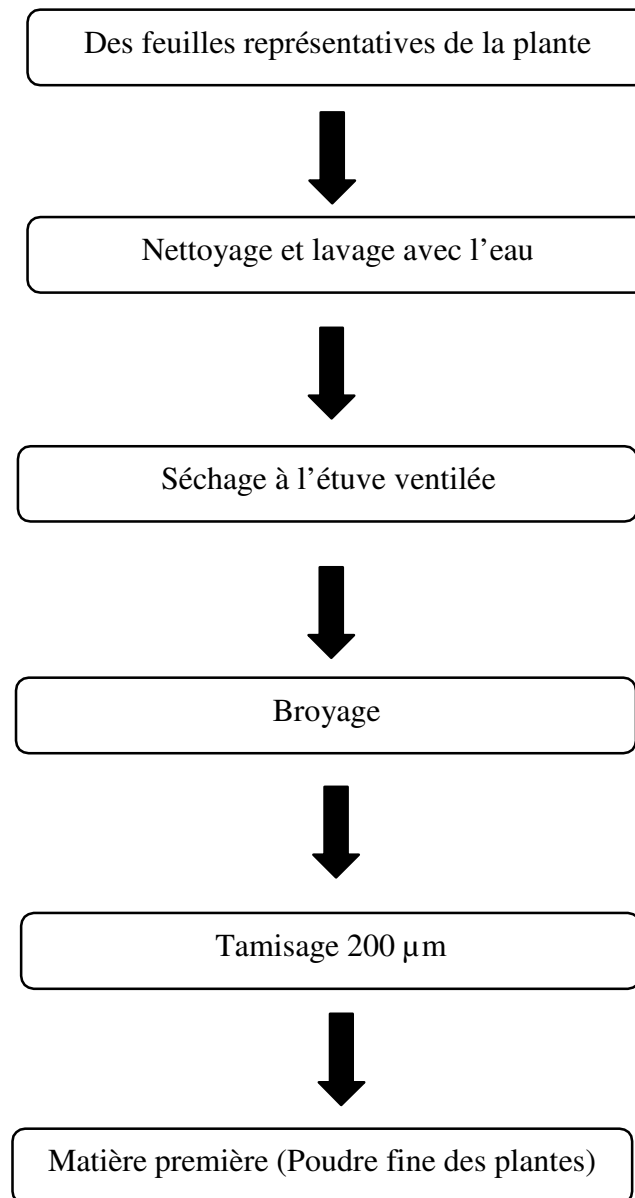


Figure 8 : Schéma représentatif des étapes d'obtention de la poudre des plantes médicinales à partir des feuilles.

8 Préparation des extraits à partir des poudres obtenue des feuilles des médicinales de la région de Bouira

8.1 Extraction assistée par ultrasons

8.1.1 Principe

Le procédé consiste à irradier par ultrasons de la matrice en présence d'un solvant, le relargage des analytes dans le milieu externe se fait par le phénomène de cavitation. Extraction assistée par ultrasons elle est utilisé dans notre étude à but de faire une comparaison entre les plantes médicinales de la région de Bouira.

8.1.2 Mode opératoire

1 gramme de la poudre obtenu à base des plantes (*Rhamnus alaternus* L. *Tetraclinis articulata*, *Portulaca oleracea* L., *Melissa officinalis* L.) a été mélangé avec 20 mL d'éthanol 64%. Le mélange obtenu mis sur un Bain à ultrasons (contact indirect) (photo A de la figure 09) pendant 25 min à température 60 °C. Après l'extraction, l'extrait a été filtré à l'aide d'un papier filtre N° 02 pour enlever la pulpe, puis le filtrat récupéré a été complété par l'éthanol 64% jusqu'à l'obtention de volume final 20 mL. Par la suit le mélange a été évaporé dans l'étuve à 37°C pour éliminer la partie éthanolique de solvant pour but de congelé l'extrait car l'éthanol est congelé à -80 °c, et par la suite l'extrait a été stockée à 4°C pendant 24 h.

Après 24h de congélation l'extrait a été lyophilisé à l'aide d'un lyophilisateur pendant 8 heures. Une fois la lyophilisation est terminé l'extrait sec a été pesé est conservée dans un eppendrof dans un réfrigérateur (étiquette port le nom de l'extrait de chaque la plante).

8.2 Extraction conventionnelle (macération)

8.2.1 Principe

La macération consiste à laisser tremper la matière végétale dans un solvant organique ou inorganique à température ambiante avec ou sans agitation continue. L'extraction est une étape importante dans l'isolement des composés bioactifs des plantes. Au cours de l'extraction, les solvants diffusent dans le matériel végétal solide et solubilisent les composés qui ont une polarité similaire (Tiwari, Kumar et al. 2011; Mahmoudi, Khali et al. 2013). La macération est utilisée dans notre étude à but de comparer entre les techniques d'extraction des molécules bioactifs de la plante *Rhamnus alaternus* L.

8.2.2 Mode opératoire

Consiste à mettre le solvant (éthanol 64%) avec l'extrait de la plante *Rhamnus alaternus* L. dans une plaque agitatrice à température ambiante pendant 25 min à ratio (1/20 g/mL) comme présenté dans la photo B de la figure 09. puis les mêmes étapes de l'extraction assisté par ultrasons ont été utilisés (filtration, congélation, lyophilisation et conservation).

8.3 Extraction conventionnelle (Agitation à bain marie)

L'agitation à bain marie utilisé dans notre étude à but de comparer entre les techniques d'extraction des molécules bioactifs de la plante *Rhamnus alaternus* L. La photo C de la figure 09 montre le mode opératoire qui consiste à mettre le solvant hydro-alcoolique (éthanol 64%) à ratio (1/20 g/mL) avec l'extrait de la plante *Rhamnus alaternus* L. dans un bain marie avec agitation à température 60°C pendant 25 min. puis on a suivi les mêmes étapes de l'extraction assisté par ultrasons (filtration, congélation, lyophilisation et conservation).

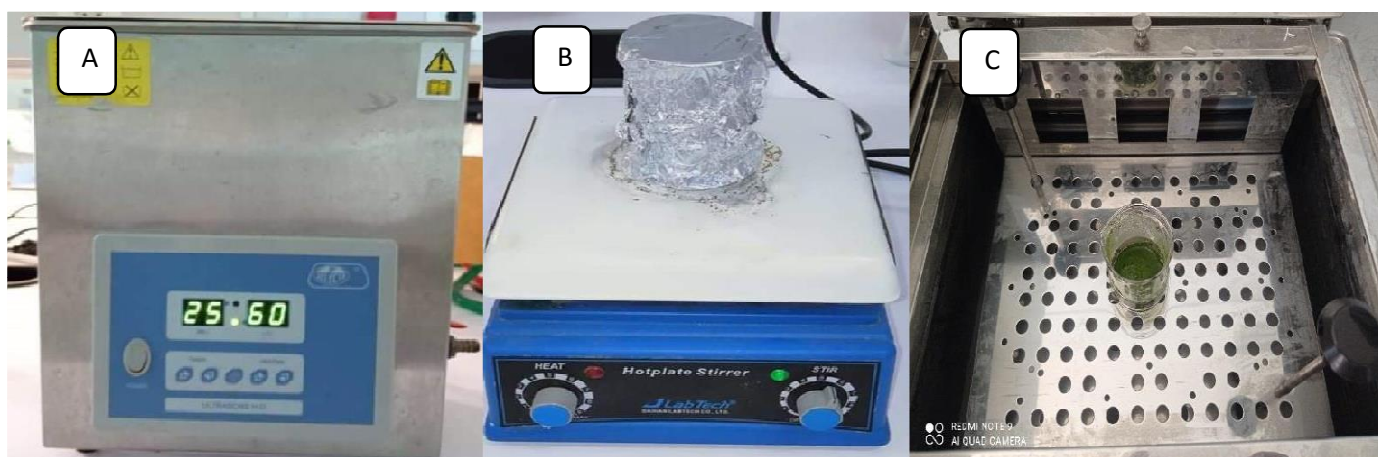


Figure 9 : Photo représentatif des techniques d'extraction utilisée sur la poudre de *Rhamnus alaternus* L. (A : ultrasons, B : macération, C : agitation bain marie) (Originale, 2021).

9 Evaluation des activités biologiques des plantes médicinales de la région de Bouira

Nous avons utilisé l'extrait lyophilisé obtenu par l'extraction assisté par ultrasons pour toutes les plantes. Car l'extraction par ultrasons est une alternative peu coûteuse, simple et efficace aux techniques conventionnelles d'extraction, l'avantage essentiel de ce procédé est de réduire considérablement la durée d'extraction et augmenter le rendement en extrait (Lagunez Rivera 2006).

9.1 Evaluation de l'activité antioxydants des plantes médicinales de la région de Bouira

Trois tests ont été utilisés pour évaluer cette activité

9.2 Evaluation du l'activité antioxydants totale (AAT)

A partir d'une solution mère à concentration de 1 mg/mL. Des déférentes dilutions de l'extrait ont été préparées de diverses concentrations (0.8, 0.7, 0.6, 0.5, 0.4, 0.3, 0.2, 0.1 mg/mL). 2 mL de solution d'essai comporte (l'acide sulfurique 0,6 M molybdate d'ammonium 4 mM et du phosphate de sodium monobasique 28 mM) a été mélangés avec 200 μ L de la solution d'extrait (figure 10).

Le mélange a été incubé à 95 °C pendant 90min. et été laissé à température ambiante jusqu'à refroidissement, l'absorbance mesurée à 695 nm. Enfin, l'activité antioxydante a ensuite exprimée en équivalence d'acide ascorbique/g d'extrait lyophilisé en utilisant une courbe de calibration (Prieto, Pineda et al. 1999).

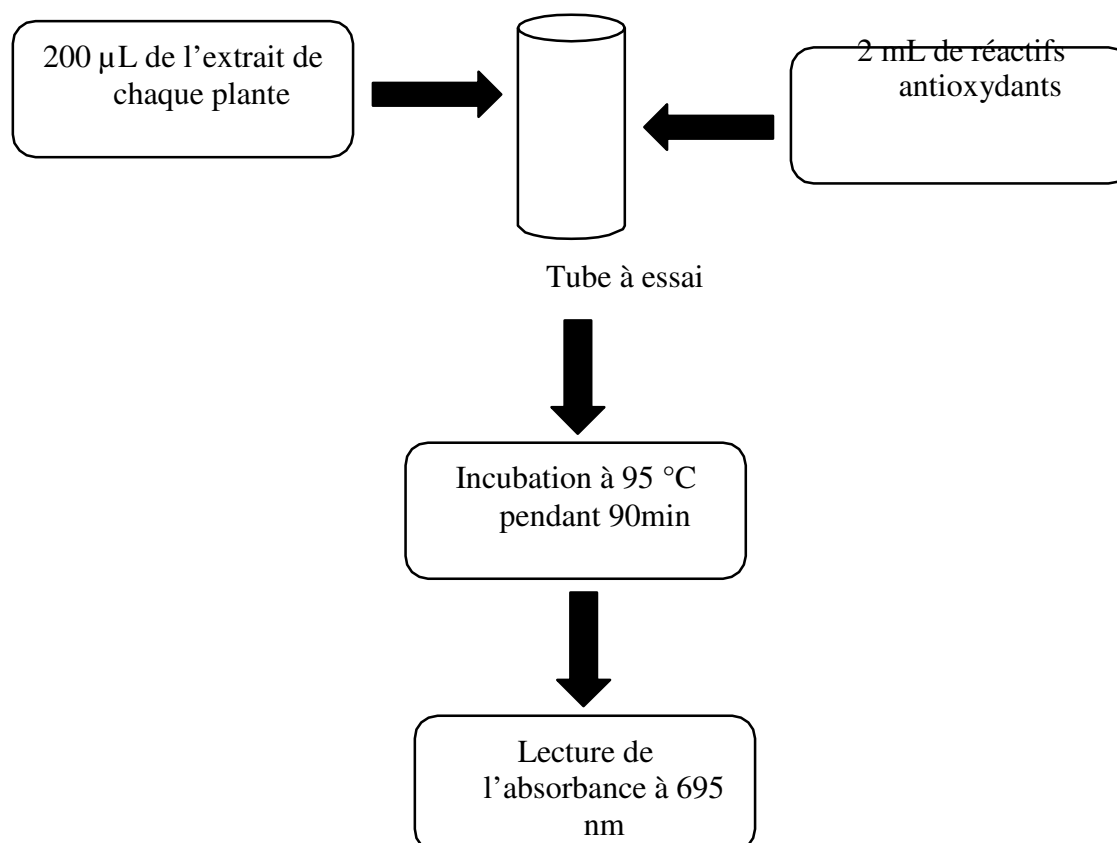


Figure 10: Schéma explicative du principe de l'activité antioxydant totale (AAT).

9.3 Test PARF (Le Pouvoir antioxydant réducteur ferrique)

Le pouvoir réducteur du fer (Fe^{3+}) dans les extraits est déterminé selon la méthode décrite par (Oyaizu 1986). A partir d'une solution mère à concentration de 1 mg/ml, Des différentes dilutions de l'extrait ont été préparées de diverses concentrations (0.8, 0.6, 0.4, 0.2, 0.1 mg/mL). 0.2 mL de l'extrait a été mélangé séparément avec 0,5 mL de tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et 0,5 mL de ferricyanure de potassium à 1 %, le tout a été incubé dans un bain-marie à 50 °C pendant 20 minutes. Après refroidissement à température ambiante, 0,5 mL d'acide trichloracétique à 10 % y a été ajouté, suivi d'une centrifugation à 3000 rpm pendant 10 min. par la suit 0.5ml de surnageant a été recueilli et mélangé avec 0,5 mL d'eau distillée. 0,1 mL de 0,1 % du chlorure ferrique ensuit ajouté. L'absorbance a été mesurée à 700 nm (Bhatti, Ali et al. 2015).

9.4 Test antiradicalaire par la décoloration d'ABTS*

La capacité antioxydante (AOC) a été estimée par le test de décoloration d'ABTS*, qui est fondé sur la capacité des antioxydants à interagir avec le radical ABTS*, (absorbance diminuée à 734 nm). La réduction de l'ABTS* conduit à une décoloration du bleu de la solution ABTS mesurée à 734 nm de la solution (figure 11). Plus l'absorbance finale est faible, plus l'antioxydant est efficace (Tolba 2016).

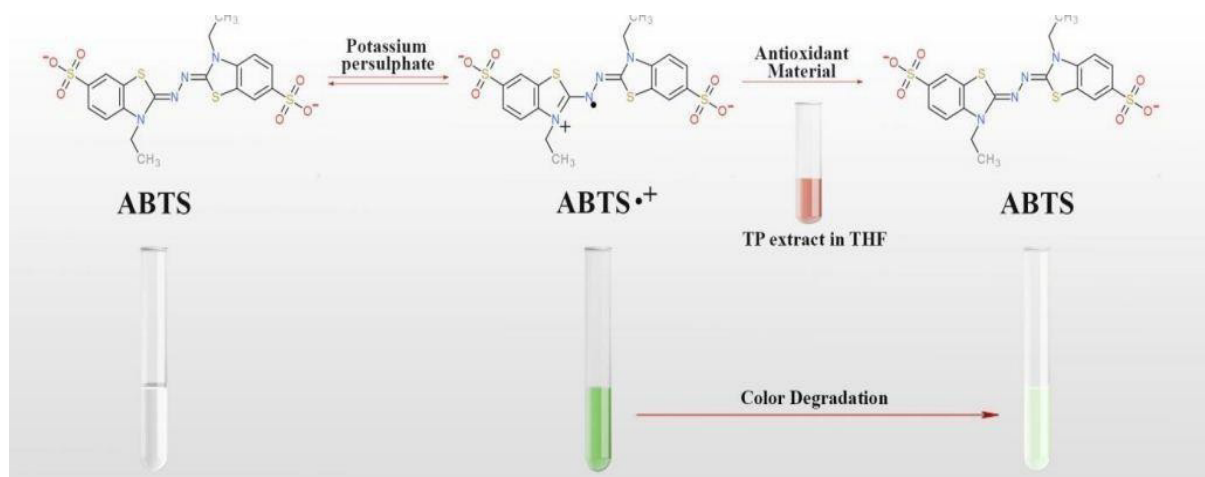


Figure 11 : Schéma explicative du principe de l'activité antioxydant par piégeage de radical libre ABTS*

Le mode opératoire base sur une solution de radicaux qui a été préparée par le mélange de 7 mM d'ABTS* avec 2,45 mM de persulfate de potassium est incubée dans l'obscurité à température ambiante pendant 12 à 16 heures avant utilisation. Par la suite la solution a été diluée avec de l'éthanol absolu pour obtenir une absorbance de $0,705 \pm 0,02$ à 734 nm et équilibrée à 30°C.

Des échantillons de contrôle, de blanc et d'extrait ont été préparés (l'extrait préparé à partir d'une solution mère 1mg/mL, différente dilution à une concentration donnée 1, 0.8, 0.6, 0.4, 0.2 mg/mL), consistant respectivement 75µL d'extrait mélangée à 1425 µL de solution radicalaire. L'absorbance des trois échantillons a été lue après 6 min à 734 nm par rapport à l'éthanol. La capacité antioxydante a été calculé à l'aide de l'équation suivante (Dahmoune, Spigno et al. 2014):

$$\% \text{inhibition} = \frac{\text{Absorbance du blanc à 6 min} - \text{absorbance de l'échantillon à 6min}}{\text{Absorbance du contrôle}} \times 100$$

10 Préparation des milieux de culture et des extraits pour l'activité antibactérienne et l'activité antifongique

10.1 Stérilisation du matériel

Eau physiologique, des tubes à essai contient 9 mL d'eau physiologique et des tube vide, ambouts (jaune et bleu), eppendrof, éprouvette de 10 mL ont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 20 minutes.

10.2 Préparation d'extraits des plantes

Dissoudre 2 mg pour l'activité antibactérienne, et 10 mg pour l'activité antifongique de la poudre pour chaque plante dans un 1mL d'éthanol 64% dans un eppendrof (la solution mère de chaque extrait est de 2 mg/mL pour l'activité antibactérienne, et 10 mg/mL pour l'activité antifongique).

10.3 Préparation du milieu de culture

Le milieu Muller-Hinton c'est le milieu de culture adéquat à cette étude elle est préparé comme suit : Dissoudre 38 g de la gélose Muller-Hinton dans un litre d'eau distillée. Le mélange a été agité avec chauffage jusqu'à dissolution complète, puis auto-claver pendant 20 minutes à 121°C.

11 Evaluation de l'activité antibactérienne des plantes médicinales de la région de Bouira

L'évaluation de l'activité antibactérienne a été réalisée par la méthode de diffusion sur des puits où les puits sont imbibés de 40 µL de chaque extrait. Le mode opératoire passe par plusieurs étapes :

11.1 Préparation de l'inoculum (la revivification des souches bactérienne)

Les souches bactériennes sont ensemencées dans la gélose nutritive (14g de GN dissoudre dans un 500 mL d'eau distillée avec agitation et chauffage jusqu'à solubilisation totale, elle est approprié pour la revivification des souches bactérienne). Par la suit les souches sont incubées à 37°C pendant 24 h, pour optimiser leur croissance.

Après 24h on prend à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et identiques de chacune des souches bactériennes à tester. Décharger l'anse dans un tube à essai contient 9 ml d'eau physiologique stérile, La suspension bactérienne est bien homogénéisée on utilisant un vortex. Jusqu'avoir une densité bactérienne de 10^8 UFC/mL ou à une DO de 0.08 à 0.10 à 620 nm. L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort. Après la détermination de la densité bactérienne, deux dilutions décimales ont été réalisées afin d'obtenir une concentration final 10^6 UFC/mL.

11.2 Préparation des boîtes de pétri

Le milieu Muller-Hinton a été liquéfié pour coller les boite de pétri stérile, Les boites a été laissée solidifié près au bec benzène. Après la solidification nous avons utilisée des ambouts pour faire des puits de 0.6 cm de diamètre.

11.3 Ensemencements

L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage sur boîtes Pétri, un écouvillon est trempé dans la suspension bactérienne (10^6 UFC/mL), puis l'essorer en pressant sur la paroi interne du tube. L'écouvillon est étalé sur la totalité de la surface gélosée en stries serrées. Pour chaque souche bactérienne l'opération est répétée deux fois.

11.4 Antibiogrammes

Pour chaque boîtes déjà ensemencée, on introduits un volume de 40 µl de chaque extrait (2 mg/mL) du plante dans un puits et un puits comme un témoin négative comporte le solvant d'extraction éthanol 64%. Les boîtes ont été fermées par un parafilm et incubées dans le

réfrigérateur pendant 24h puis une deuxième incubation à l'étuve à 37°C pendant 24h.

L'activité antibactérienne des extraits étudiés est déterminée par la mesure de diamètre de la zone d'inhibition (mm) autour de chaque puits.

12 Evaluation de l'activité antifongique des plantes médicinales de la région de Bouira

L'évaluation de l'activité antifongique a été réalisée par la méthode de diffusion des disques sur gélose, selon les étapes suivantes :

12.1 Préparation du milieu de culture

La gélose PDA a été utilisée pour évaluer l'activité antifongique. Elle est préparée à base de pomme de terre comme suit : 200 g de pomme de terre cuite dans l'eau distillée avec agitation. Par la suite le mélange déchargé a été filtré à l'aide d'une passoire domestique pour enlever la pulpe. Ensuite 20 g de glucose et 17 g d'agar ont été ajoutés au filtrat récupéré avec l'ajout de volume d'eau distillée jusqu'à l'obtention d'un volume final de 1 litre. Par la suite un antibiotique a été ajouté dans le mélange jusqu'à solubilisation. Puis auto-claver pendant 20 minutes à 121°C.

12.2 Préparation de l'inoculum (la revivification des champignons)

Des boîtes de pétri ont été collées à partir de milieu PDA au voisinage du bec benzène. Puis pour chaque souche fongique à l'aide d'une anse de platine une quantité a été mise sur la contre de la boîte et à la périphérie. Enfin, les boîtes ont été fermées par un parafilm et incubées à 30°C pendant 3 jours.

12.3 Préparation des boîtes de pétrie

On utilise le milieu PDA (Patato Dextrose Agar) liquéfiée pour coller les boîtes de pétri. La procédure a été comme suite : 9 mL de PDA mélangé avec 1 mL de l'extrait de chaque plante. Le mélange (PDA-extrait) par la suite a été versé dans des boîtes de pétri stériles et laissé solidifié. En parallèle des boîtes de pétri contiennent que le milieu PDA et le solvant d'extraction éthanol 64% comme un témoin négatif.

12.4 Ensemencements

À partir des boîtes de pétri préalablement revivifiées, à l'aide d'un embout on met des disques sur ces boîtes (pour récupérer les souches fongiques) est on introduit ce disque sur la nouvelle boîte de pétri portant le nom de la souche et le nom de la plante utilisée. Deux répétitions pour chaque souche. Enfin, les boîtes ont été fermées par un parafilm et incubées à 30 °C pendant 7 jours.



Chapitre 03 :
Résultats et Discussion

Chapitre 03 : Résultats et discussion

13 Comparaison entre les techniques d'extractions de la plante médicinale *Rhamnus alaternus* L. de la région de Bouira

Pour sélectionner la meilleure technique d'extraction (ultrasons, macération, agitation à bain marie) de la plante *Rhamnus alaternus* L. de la région de Bouira, trois tests de l'activité antioxydante (test de phosphomolybdate d'ammonium, test de la décoloration d'ABTS* et le test de pouvoir antioxydant réducteur ferrique) ont été choisis.

13.1 Etude comparative de la propriété antioxydante des techniques d'extraction de la plante médicinale *Rhamnus alaternus* L. par les tests AAT et PARF

Le graphe A et B (figure 12) représentent l'activité antioxydante totale et le pouvoir réducteur des extraits des différentes techniques d'extraction (EAU, macération, agitation à bain marie). L'évaluation d'AAT et de pouvoir réducteur de ces extraits indiquent qu'il n'y a aucune différence significative entre les techniques d'extraction étudiées, par conséquent les techniques d'extraction n'ont aucune influence sur l'extraction des antioxydants naturels de *Rhamnus alaternus* L. D'autre part, l'activité antioxydante de *R. alaternus* L. était faible par rapport à l'acide ascorbique utilisé comme un témoin dans les deux tests AAT et PARF.

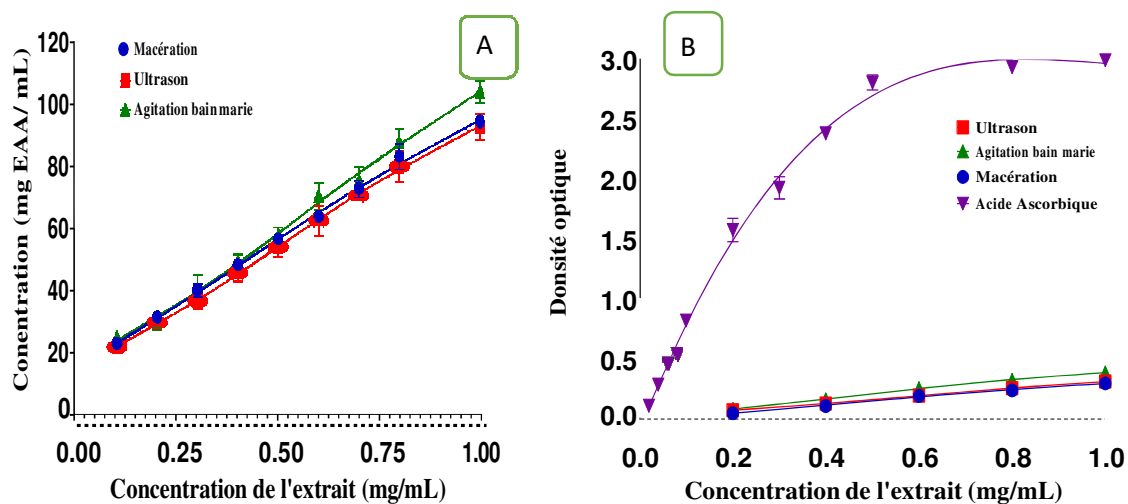


Figure 12 : Etude comparative de l'AAT (A) et PARF (B) entre les techniques d'extraction (EAU, macération, agitation à bain marie) de la plante médicinale *Rhamnus alaternus* L.

13.2 Etude comparative des propriétés antioxydantes entre les techniques d'extraction de la plante médicinale *Rhamnus alaternus* L. par le test de décoloration d'ABTS

A partir des résultats obtenus (figure 13) sur l'activité anti radicalaire (ABTS*) des extraits des feuilles de la plante *Rhamnus alaternus* L. obtenus par ultrasons, macération et agitation à bain marie, la même tendance est observée, l'IC₅₀ de ces trois techniques montrent que aucune différence significative. À cet effet, les techniques d'extraction ne montrent aucune influence sur l'activité antiradicalaire. De plus, la plante *Rhamnus alaternus* L. présente une activité faible dans tous les méthodes d'extraction utilisées avec un IC₅₀ de 0.8620 ± 0.0398 mg/mL pour EAU, IC₅₀ de 0.9963 ± 0.0025 mg/mL pour la macération et l'agitation à bain marie présente une IC₅₀ 0.9963 ± 0.0025 mg/mL.

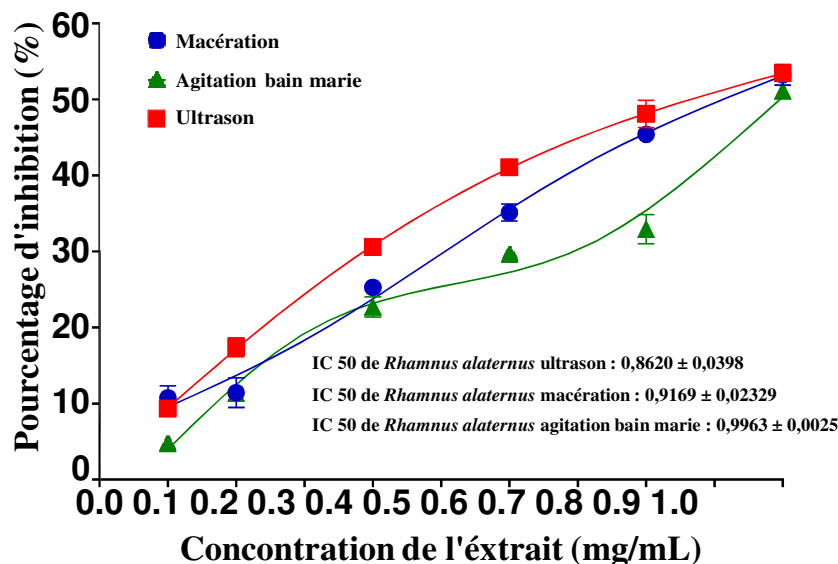


Figure 13 : Etude comparative des techniques d'extraction de la plante médicinale *Rhamnus alaternus* L. par le test de décoloration de l'ABTS.

14 Discussion des résultats des propriétés antioxydantes des extraits (EAU, macération, agitation à bain marie) de *R. alaternus* L.

D'après les résultats obtenus sur l'effet des techniques d'extraction des feuilles de *R. alaternus* L. sur l'activité antioxydante montrent que y'a pas une différence significative entre les techniques d'extractions. Même s'il n'y a pas de différence entre les techniques d'extraction, ultrasons reste la technique prometteuse pour l'extraction des antioxydants naturels à partir de matrice végétale en raison de plusieurs avantages comme ; la grande pénétration du solvant dans les matrices végétales ainsi l'amélioration du phénomène de transfert de matière. En outre la pulsation du milieu permet d'améliorer les coefficients de transfert de matière, donc le rendement d'extraction des molécules bioactifs augmente (Vinatoru 2001; Vilku, Mawson

et al. 2008). Pour une meilleur récupération et séparation des composés bioactif dans le domaine des industries, il est important de connaitre les facteurs d'extraction comme le choix du solvant couplé à l'utilisation de la chaleur et/ou de l'agitation (Dahmoune, Remini et al. 2015). Dans la suite de notre travail, l'extraction assistée par ultrasons a été utilisé comme technique d'extraction pour évaluer l'activité antioxydante, antibactérienne et antifongique *in vitro* de la Mélisse, Thuya berbère, Pourpier et Imlillesse de la région de *Bouira*, grâce à la simplicité et l'efficacité aux techniques d'extraction conventionnelles.

15 COMPARAISON ENTRE LES ACTIVITES ANTIOXYDANTES DES PLANTES ETUDIÉS

15.1 Résultats de comparaison entre les activités antioxydantes des extraits

L'activité antioxydante est un processus complexe, qui se produit habituellement par plusieurs mécanismes. Ainsi, l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits végétaux doit être effectuée par plusieurs tests (El Jemli, Kamal et al. 2017). Les figures 14, 15, et 16 représentent les résultats des potentiels antioxydants des plantes médicinales de la région de *Bouira*, l'activité antioxydante est exprimé en pourcentage d'inhibition de radical ABTS* (figure 15), en densité optique pour le test de PARF (figure 16) et pour l'AAT est exprimé en mg équivalent en acide ascorbique par g d'extrait lyophilisé (figure 14). Les graphes ont été tracés par le logiciel GraphePad prism.

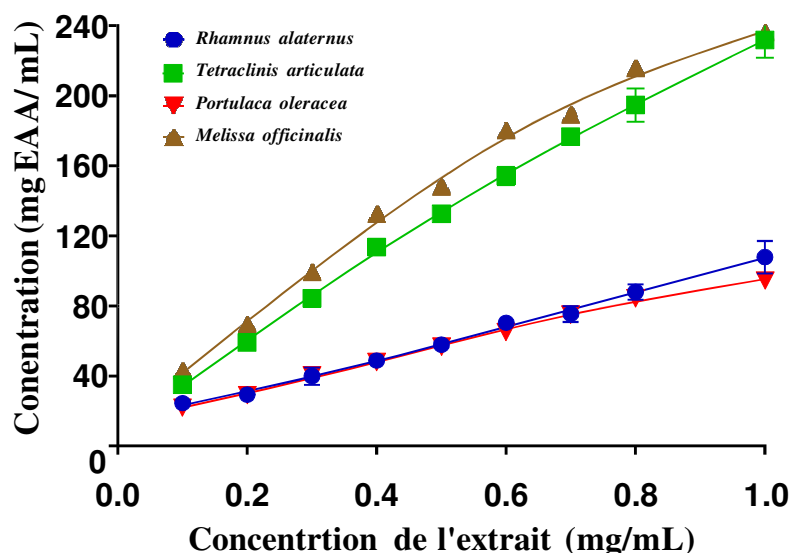


Figure 14: Etude des propriétés antioxydants des plantes médicinales de *Bouira* en utilisant le test AAT.

Selon les résultats mentionnés dans la figure 14, une corrélation positive entre l'activité antioxydante totale et les concentrations des extraits lyophilisée des plantes étudiés. L'AAT de la *Melissa officinalis* L. et *Tetraclinis articulata* est plus supérieur à celle de *Portulaca oleracea* L. et *Rhamnus alaternus* L. avec une concentration de 236.0315 ± 3.1541 , 231.9374 ± 10.068 mg EAA/g et 94.4944 ± 4.7002 , 91.2777 ± 6.5932 mg EAA/g respectivement.

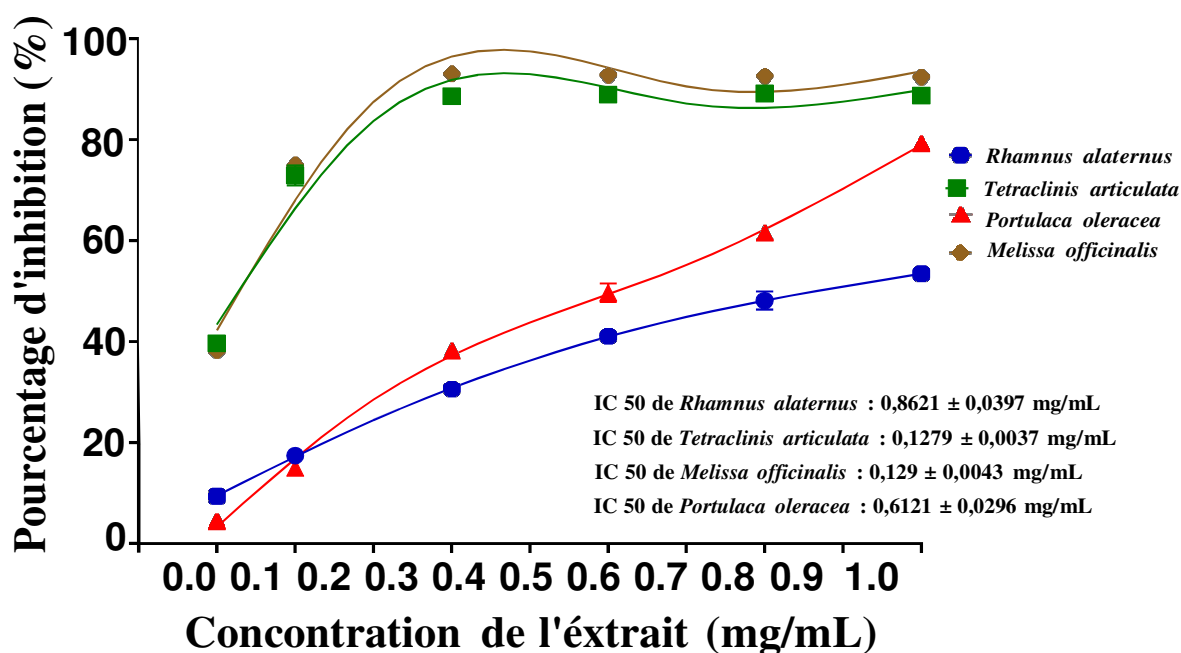


Figure 15 : Pourcentages d'inhibition du radical libre ABTS en fonction des différentes concentrations des extraits des plantes étudiées et leur IC₅₀.

D'après le test de décoloration de l'ABTS* (figure 15), en constat que les extraits de *Melissa officinalis* L. et *Tetraclinis articulata* possèdent des pourcentages d'inhibition les plus élevés parmi les plantes étudiés avec une différence non significatives, avec un IC₅₀ égale à $0,129 \pm 0,0043$ mg/mL pour la *Melissa officinalis* L. et un IC₅₀ égale à $0,1279 \pm 0,0037$ mg/mL pour *Tetraclinis articulata*, ce qui est liée à la réduction du ABTS* en ABTS et sa décoloration.

D'autre part, le pourpier et imlillesse présentent une faible activité antiradicalaire par rapport aux autre plantes mentionné précédemment avec un IC₅₀ équivalent à $0,6121 \pm 0,0296$ mg/mL et $0,8621 \pm 0,0397$ mg/mL respectivement, ce qui signifie une concentration plus élevé d'extrait pour inhiber 50% des radicaux libres contrairement aux autre plantes.

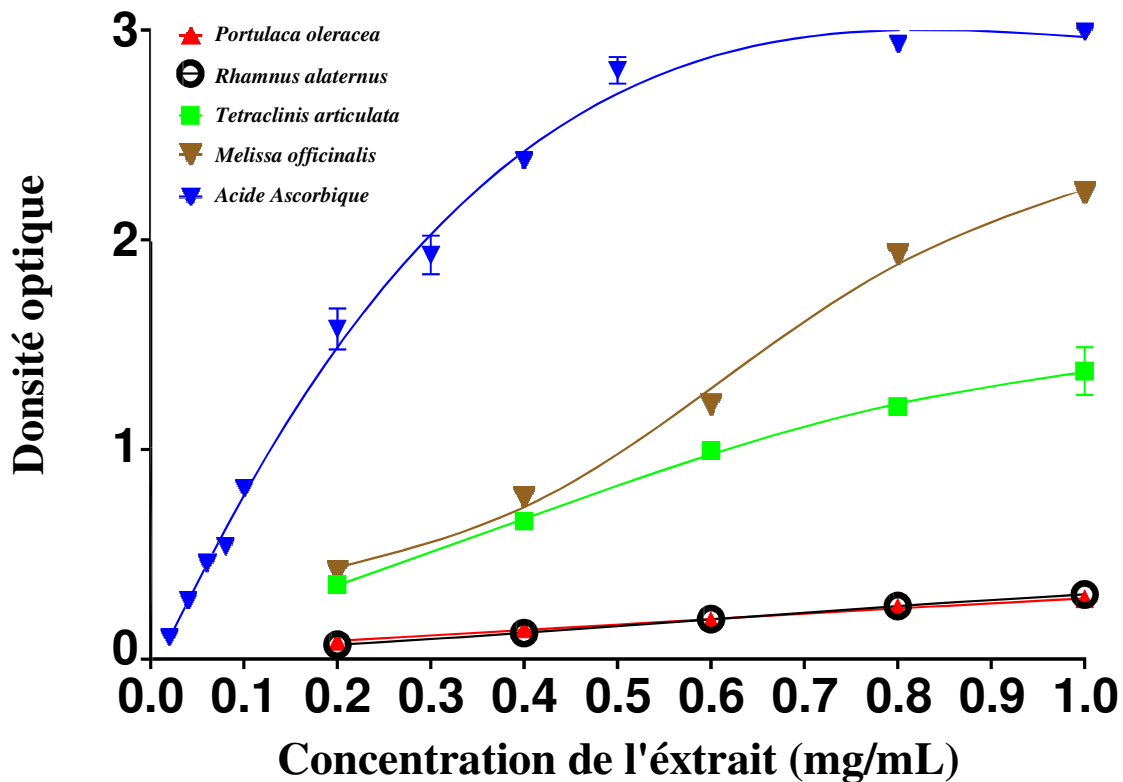


Figure 16 : Comparaison entre l'activité antioxydante des plantes médicinales étudiées et l'activité de l'acide ascorbique suite au protocole FRAP.

De Plus, la mélisse et le thuya berbère possèdent une grande capacité de réduire le fer ferreux (Fe^{2+}) en fer ferrique (Fe^{3+}) se qui signifie une grande capacité de piéger les radicaux libres. La réduction de fer est suivie par l'évaluation de l'absorbance à 700 nm, pour 1 mg/mL d'extraits de la mélisse et le thuya berbère montrent des absorbance plus élevés avec $2,2283 \pm 0,0231$ et $1,3736 \pm 0,1145$ respectivement. Alors que pour *Portulaca oleracea* L. et *Rhamnus alaternus* L. elles présentent une faible activité mais pas de différence significative entre les deux plantes avec absorbance égale à $0,2883 \pm 0,0055$ et $0,3096 \pm 0,0080$ respectivement pour une concentration de 1 mg/mL.

15.2 Discussion des résultats de comparaison entre les activités antioxydantes des extraits

15.2.1 La Mélisse

La famille des Lamiaceae est connue par leur richesse en acide rosmarinique qui est responsable sur plusieurs activités biologiques surtout l'activité antioxydante (Yanishlieva and Marinova 1995; Petersen and Simmonds 2003). Cependant, la mélisse de la famille

des Lamiaceae est décrit comme une plante contenant de l'acide rosmarinique en grande quantité qui lui confère son activité antioxydante (**Herodež, Hadolin et al. 2003; Boyadzhiev and Dimitrova 2006**). De plus, cette plante est riche en polyphénol tel que les flavonoïdes et les tanins qui sont connues pour leur activité antioxydante (**Stevanato, Bertelle et al. 2014**).

La mélisse présente la meilleure activité des quatre plantes de la région de *Bouira* avec un IC_{50} de $0,129 \pm 0,0043$ mg/mL selon le test d'ABTS mais elle reste inférieure à celle de même genre de d'autres régions en comparaison avec un IC_{50} égale à $0,0086 \pm 0,00148$ mg/mL pour les résultats de **Dastmalchi, Dorman et al. (2008)** et un IC_{50} égale à $0,0127 \pm 0,0004$ mg/mL selon **Jafarpour and Fard (2016)**.

D'autre part cette plante est composée majoritairement des huiles essentielles qui lui confèrent une meilleure activité antioxydante (**Wichtl, Anton et al. 1999**). Ces résultats sont en accord avec les données de la littérature. En effet, plusieurs auteurs ont rapporté qu'il existe une relation étroite entre les huiles essentielles et les activités antioxydantes (**Ruberto and Baratta 2000; Ozkan, Sagdic et al. 2010**).

En générale, notre échantillon originaire de la région *Bouira* a manifesté une activité antioxydante nettement inférieure à celle rapportée par la littérature, ceci qui est due à l'influence de plusieurs paramètres comme le choix du solvant approprié, la concentration des solvants et la température (**Penchev, Angelov et al. 2010**).

15.2.2 Thuya berbère

Il a été bien mentionné que les flavonoïdes ont des effets photoprotecteurs en raison de leur capacité d'absorption des UV et de leurs effets antioxydants (**Saewan and Jimtaisong 2013**). Ainsi, certains flavonoïdes tels que la quercétine, le kaempférol, la galanine et l'apigénine ont été évalués pour leurs activités antioxydantes (**Stevanato, Bertelle et al. 2014**). Ce qui sont des composés très présents dans *Tetraclinis articulata* (**Buhagiar, Podestà et al. 2000; Barrero, Herrador et al. 2005; Kouider and Assia 2017**). Le potentiel antioxydant des huiles essentielles de *Tetraclinis articulata* pourrait être expliquée en partie par sa teneur élevée en acétate de bornyle, camphre et de l' α -pinène. Les activités antioxydantes de ces monoterpènes ont déjà été signalées (**Wang, Wu et al. 2008**).

Pour conclure, notre plante présente une activité antioxydante importante si on la compare avec d'autres plantes de la région de *Bouira*, mais elle reste toujours inférieure en

comparant avec d'autre région, ceci peut s'expliquer par la grande variabilité de la composition chimique de cette plante qui est fortement dépendante des conditions édapho-climatiques.

15.2.3 Le pourpier

Des études sur *Portulaca oleracea* a montré la présence de certains composés biologiquement actifs telle que des saponines, des tanins, des terpénoïdes, des phénols, des alcaloïdes, des flavonoïdes et des sucres réducteurs (Sdouga, Branca et al. 2020). Les composés phénoliques sont des antioxydants bien connus qui peuvent combattre les radicaux libres associés aux dommages oxydatifs (Djeridane, Yousfi et al. 2006; Wong, Li et al. 2006).

La présence de ces composés, tels que les tanins, les flavonoïdes et les phénols dans l'extrait de *Portulaca oleracea*, peut le rendre crédible pour une utilisation topique dans le traitement des maladies causées par le stress oxydatif (Dkhil, Moniem et al. 2011). Par conséquent, la concentration de ce composé peut contribuer de manière synergique dans le pouvoir antioxydant important de cette plante et peut ainsi soutenir l'usage local pour le traitement des maladies liées par des radicaux.

Malgré que les études antérieurs montrent que cette plantes est riche en différentes quantités de total composés polyphénoliques, tanins et en particulier flavonoïdes (Ammar, Bouhlel et al. 2007) mais l'activité faible peut être liée à la variation qualitative et quantitative du contenu en polyphénols d'une plante à une autre qui peut être attribuée à plusieurs facteurs tels que les conditions climatiques, la localisation géographique, la période de récolte, les facteurs génétiques et les conditions expérimentales (BOUCHENAK, YAHIAOUI et al.).

15.2.4 Imlillesse

Les composés naturels, y compris les polyphénols, ont diverses activités pharmacologiques et les effets biologiques, tels que les propriétés antioxydantes et sont connus pour leur effets protecteurs contre de nombreuses maladies liées au stress oxydatif (Nekkaa, Benaissa et al. 2021). Les propriétés antioxydantes de *R. alaternus* sont associées à la présence de nombreux composants, tels que les flavonoïdes, les anthraquinones les kaempférol le quercétine et les tannins (Ammar, Bhouri et al. 2009; Cuoco, Mathe et al. 2014; Zeouk and Bekhti 2019).

La faible activité peut être expliquée par l'influence de plusieurs facteurs par exemple l'extraction des composés phénoliques à partir de la matière végétale dépend de leur structure chimique, du type de solvant utilisé, de la méthode d'extraction de la granulométrie et du temps de la technique (Naczk and Shahidi 2004).

16 Récapitulatif sur l'activité antioxydante des plantes médicinales de la région de Bouira

Notre résultats montrent que les plantes de la région de Bouira présentent une dissemblance concernant l'activité antioxydante de ces derniers, en remarquant que les plantes qui possèdent les huiles essentielles (*Melissa officinalis* L., *Tetraclinis articulata*) présentent une activité plus importante que les plantes qui manquent ces composés (*Portulaca oleracea* L., *Rhamnus alaternus* L.), mais elle reste toujours une activité faible en comparaison avec du même genre de d'autre régions. En effet, les recherches actuelles ont été orientées vers les plantes médicinales comme source d'antioxydants et les composés particulièrement volatils présents dans leurs huiles essentielles (Saber, Harhar et al. 2020). Cette faiblesse des résultats peut être due à plusieurs facteurs naturels comme les conditions climatiques, la localisation géographique, la période de récolte, les facteurs génétiques et la grande variabilité de la composition chimique active, d'autre part elle peut être due à des conditions expérimentales telles que le type du solvant utilisé, de la méthode d'extraction de la granulométrie et du temps de la technique.

16.1.1 L'activité antibactérienne et antifongique

Le pouvoir antibactérien et antifongique des extraits des plantes médicinales testé (*Rhamnus alaternus* L., *Tetraclinis articulata*, *Portulaca oleracea* L. et *Melissa officinalis* L.) ont été étudié par la méthode de diffusion sur des puits sur un milieu gélosés solides Mueller-Hinton pour les bactéries et la méthode de diffusion des disques sur un milieu PDA pour l'activité antifongique. L'activité antibactérienne et antifongique des extraits a été estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les extraits à tester.

Comini, Núñez Montoya et al. (2011) ont rapportés que l'activité antimicrobienne chez quelque plante est dû à la présence d'antraquinones. Donc pour *Rhamnus alaternus* L. et *Portulaca oleracea* L. les résultats négative peuvent être dû au solvant utilisé pour la solubilité des anthraquinones. Plusieurs travaux antérieurs ont confirmé que les principaux composants des plantes *Tetraclinis articulata* et *Melissa officinalis* L. sont les huiles essentielles (jusqu'à 0,8 %). Les huiles essentielles ont une activité antimicrobienne considérable avec un spectre

d'action inhibant la croissance des levures, des bactéries et des moisissures. Cette activité antimicrobienne dépend de leur composition chimique, et surtout de la nature de leurs composés volatils (Oussalah, Caillet et al. 2007), ce qui explique les résultats négatifs de notre extrait éthanolique, qui ne montrent aucune activité antimicrobienne et antifongique.

L'effet des extraits des plantes médicinales et le témoin (contient que le milieu PDA et le solvant d'extraction éthanol 64%) sur les espèces fongiques présentent les mêmes résultats donc, dans ce cas-là les résultats étaient négatives. Ces résultats négatifs dus à plusieurs facteurs. Principalement l'utilisation de l'éthanol dans l'évaluation de l'activité antifongique, l'éthanol a également des effets physicochimiques non spécifiques qui résultent de la réduction de la disponibilité en eau et de la rupture des liaisons hydrogènes dans les composantes cellulaires, par conséquent l'éthanol provoque un stress hydrique qui affecte la croissance des levures en réduisant l'activité d'eau (Hallsworth, Nomura et al. 1998). De plus, les erreurs de manipulation, les contaminations et la forte charge bactérienne ensemencé sur les boîtes de pétri sont des facteurs non négligeable des résultats négative obtenus comme présentés dans la figure 18.

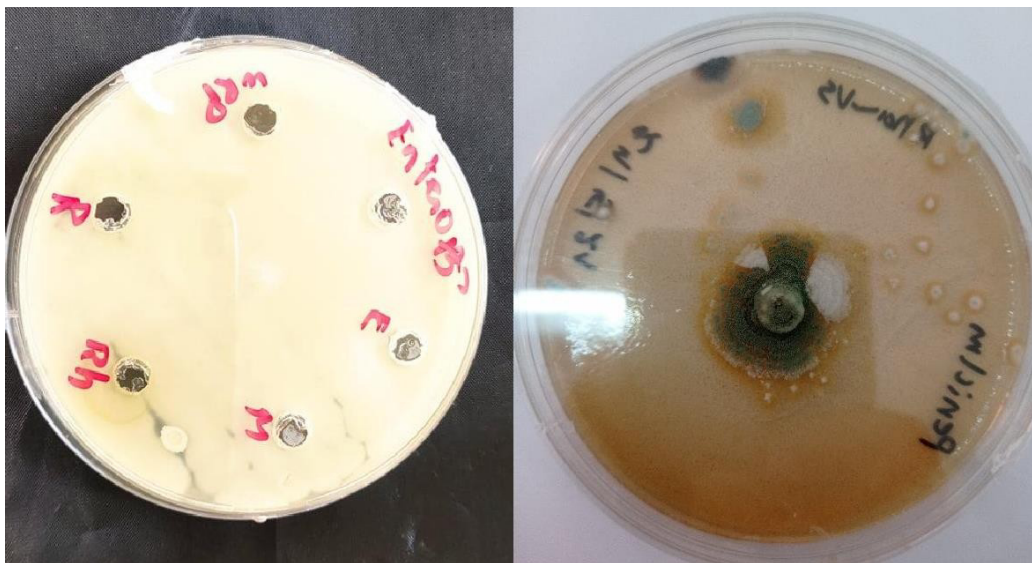


Figure 17 : Images montrent les contaminations des champignons et la charge bactérienne.

D'autre part, l'hypersensibilité des bactéries peut expliquer aussi les résultats négatifs par la sensibilité aux changements environnementaux externes, tels que la température, le pH, et les extraits naturels due à l'absence de la membrane externe (Balentine, Crandall et al. 2006).



Conclusion

CONCLUSION

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Ce travail rentre dans le cadre de la valorisation de quelques plantes médicinales de la région de la wilaya de *Bouira*, une étude comparative entre les techniques conventionnelle et non conventionnelle a été réalisé afin de sélectionné la meilleur technique d'extraction. Nous résultats montrent que y a aucune déférence significative entre les techniques mais elle reste l'EAU une alternative peu coûteuse, simple et efficace aux techniques conventionnelles d'extraction.

D'autre part, l'étude comparative des activités biologiques des différente plantes médicinales (*Rhamnus alaternus* L., *Tetraclinis articulata*, *Portulaca oleracea* L., *Melissa officinalis* L.) a été réalisée. L'activité antioxydante a été évaluée par plusieurs méthodes, Pour le test de décoloration de l'ABTS IC₅₀ était 0.8621 ± 0.0397 et 0.6121 ± 0.0296 mg/mL pour *Rhamnus alaternus* L. et *Portulaca oleracea* L. respectivement, par contre IC₅₀ de *Tetraclinis articulata* L. et *Melissa officinalis* L. étaient 0.1279 ± 0.0037 mg/mL et 0.129 ± 0.0043 mg/mL. De plus, *Tetraclinis articulata* et *Melissa officinalis* L. montrent une grande capacité de réduire les ions de fer que *Rhamnus alaternus* L. et *Portulaca oleracea* L. avec densité optique égale $1,3736 \pm 0,1145$ et $2,228 \pm 0,0231$. L'activité antioxydante totale a été aussi mesuré où, les dernier plantes montrent une activité plus élevé que *Rhamnus alaternus* L. et *Portulaca oleracea* L. En résumé, les résultats indiquent que les deux plantes *Rhamnus alaternus* L. et *Portulaca oleracea* L. présentent en faible activité antioxydante par rapport aux *Tetraclinis articulata* et *Melissa officinalis* L. grâce à leur richesse en composés bioactifs et en huiles essentielle. Concernant les résultats de l'activité antibactérienne contre les souches bactérienne négatives et positive et antifongiques contre *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Fusarium verticillioide*, et *Penicillium sp* sont négatifs pour toutes les plantes testées.

L'extraction des antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires et cardiovasculaires, en plus, ces résultats donne des possibilités d'usage quant à la valorisation des extraits de ces plantes dans les industries alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques.

Chaque plante se caractérise par un réservoir assez important de métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques particulières qui

demandent d'être exploitées par les recherches, de cet effet, et comme perspectives on propose de :

- Isoler et identifier de nouvelles substances bioactives naturelles par HPLC-SM et CPG-MS qui pourront répondre aux différents problèmes de la santé et d'être un alternatif des médicaments synthétiques.
- Evaluation de l'activité antibactérienne et antifongique par d'autres méthodes plus efficaces et avec d'autres souches.
- Evaluation des activités biologiques *in vivo* des plantes étudiées



Références bibliographiques

Référence

- ACKAH, J. A. A. B., A. K. M. KRA, et al. (2008).** "Evaluation et essais d'optimisation de l'activité anticandidosique de *Terminalia catappa* Linn (TEKAM3), un extrait de combretaceae de la pharmacopée ivoirienne. Assessment and tests of optimization of the anticandidosic activity of *Terminalia catappa*, an excerpt of combretaceae of the pharmacopeia of the cote d'ivoire." Bulletin de la société Royale des sciences de Liege.
- Afonso, V., R. Champy, et al. (2007).** "Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases: rôle dans les maladies rhumatismales." Revue du Rhumatisme 74(7): 636-643.
- Alam, A., A. S. Juraimi, et al. (2014).** "Morpho-physiological and mineral nutrient characterization of 45 collected Purslane (*Portulaca oleracea* L.) accessions." Bragantia 73(4): 426-437.
- Ammar, R. B., W. Bhourri, et al. (2009).** "Antioxydant and free radical-scavenging properties of three flavonoids isolated from the leaves of *Rhamnus alaternus* L. (Rhamnaceae) : A structure-activity relationship study." Food Chemistry 116(1): 258-264.
- Ammar, R. B., I. Bouhleb, et al. (2007).** "Transcriptional response of genes involved in cell defense system in human cells stressed by H₂O₂ and pre-treated with (Tunisian) *Rhamnus alaternus* extracts: Combination with polyphenolic compounds and classic in vitro assays." Chemico-Biological Interactions 168(3): 171-183.
- Amor, B. B. (2008).** Maîtrise de l'aptitude technologique de la matière végétale dans les opérations d'extraction de principes actifs: texturation par détente instantanée contrôlée (DIC), Université de La Rochelle.
- Avril, J.-L., H. Dabernat, et al. (2000).** Bactériologie clinique, Ellipses Edition Marketing SA.
- Baba Aissa, F. (2000).** "Encyclopédie des plantes utiles, flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident." Ed Librairie moderne Rouiba 46.
- Baker, S. E. (2006).** "*Aspergillus niger* genomics: Past, present and into the future." Medical Mycology 44(s1): 17-21.
- Balentine, C., P. Crandall, et al. (2006).** "The pre-and post-grinding application of rosemary and its effects on lipid oxidation and color during storage of ground beef." Meat Science 73(3): 413-421.
- Barakat, L. A. and R. H. Mahmoud (2011).** "The antiatherogenic, renal protective and immunomodulatory effects of purslane, pumpkin and flax seeds on hypercholesterolemic rats." North American journal of medical sciences 3(9): 411.
- Barrero, A., M. Herrador, et al. (2005).** "Chemical composition of the essential oils of leaves and wood of *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters." Journal of Essential Oil Research 17(2): 166-168.
- Bellakhdar, J. (2003).** Le Maghreb à travers ses plantes: plantes, productions végétales et traditions au Maghreb, Editions Le Fennec.

- Bentabet, N., Z. Boucherit-Otmani, et al. (2014).** "Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredolia aretioides* de la région de Béchar en Algérie." *Phytothérapie* 12(6): 364-371.
- Bhatti, M. Z., A. Ali, et al. (2015).** "Antioxidant and phytochemical analysis of *Ranunculus arvensis* L. extracts." *BMC Research Notes* 8(1).
- Billard, A., A. (2011).** Fenhexamid: mode d'action et résistance chez le complexe d'espèces *Botrytis* SPP., responsable de la pourriture grise de la vigne, Université Paris Sud - Paris 11: n.p.
- Billing, J. and P. W. Sherman (1998).** "Antimicrobial functions of spices: why some like it hot." *The Quarterly review of biology* 73(1): 3-49.
- Blumenthal, M., A. Goldberg, et al. (2000).** *Herbal Medicine. Expanded Commission E monographs.* Newton, Integrative Medicine Communications.
- BOUCHENAK, O., K. YAHIAOUI, et al. (2011).** "Criblage phytochimique et évaluation du pouvoir antioxydant des feuilles de *Myrtus communis* L. et *Rhamnus alaternus* L."
- Boulos, L., M. N. Hadidi, et al. (1984).** *Weed flora of Egypt*, American University in Cairo Press.
- Bouzi, W., M. Yahia, et al. (2011).** "Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de l'aubépine monogyne." *Lebanese Science Journal* 12(1): 59-69.
- Boyadzhiev, L. and V. Dimitrova (2006).** "Extraction and liquid membrane preconcentration of rosmarinic acid from lemon balm (*Melissa officinalis* L.)." *Separation Science and Technology* 41(5): 877-886.
- Bräuchler, C., H. Meimberg, et al. (2010).** "Molecular phylogeny of Menthinae (Lamiaceae, Nepetoideae, Mentheae) – Taxonomy, biogeography and conflicts." *Molecular Phylogenetics and Evolution* 55(2): 501-523.
- Buhagiar, J., M. C. Podestà, et al. (2000).** "Essential oil composition of different parts of *Tetraclinis articulata*." *Journal of Essential Oil Research* 12(1): 29-32.
- Chermette, R. and J. Bussieras (1993).** "Parasitologie vétérinaire." *Mycologie*, Edité par le Service de Parasitologie de l'École Nationale Vétérinaire de Maisons-Alfort.
- Chizzola, R., U. Lohwasser, et al. (2018).** "Biodiversity within *Melissa officinalis*: Variability of Bioactive Compounds in a Cultivated Collection." *Molecules* 23(2): 294.
- Chowdhary, C. V., A. Meruva, et al. (2013).** "A review on phytochemical and pharmacological profile of *Portulaca oleracea* Linn. (Purslane)." *International Journal of Research in Ayurveda and Pharmacy (IJRAP)* 4(1): 34-37.
- Cissé, M., P. Bohuon, et al. (2012).** "Aqueous extraction of anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa*: Experimental kinetics and modeling." *Journal of food engineering* 109(1): 16-21.

- Comini, L. R., S. C. Núñez Montoya, et al. (2011).** "Antibacterial activity of anthraquinone derivatives from *Heterophyllaea pustulata* (Rubiaceae)." *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 102(2): 108-114.
- Cotty, P. (1989).** "Virulence and cultural characteristics of two *Aspergillus flavus* strains pathogenic on cotton." *Phytopathology* 79(7): 808-814.
- Cuoco, G., C. Mathe, et al. (2014).** "Liquid chromatographic analysis of flavonol compounds in green fruits of three *Rhamnus* species used in Stil de grain." *Microchemical Journal* 115: 130-137.
- Dacosta, Y. (2003).** *Les phytonutriments bioactifs: 669 références bibliographiques*, Ed. Yves Dacosta.
- Dahmoune, F., H. Remini, et al. (2015).** "Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from *P. lentiscus* L. leaves: Comparative study of artificial neural network (ANN) versus degree of experiment for prediction ability of phenolic compounds recovery." *Industrial Crops and Products* 77: 251-261.
- Dahmoune, F., G. Spigno, et al. (2014).** "*Pistacia lentiscus* leaves as a source of phenolic compounds: Microwave-assisted extraction optimized and compared with ultrasound-assisted and conventional solvent extraction." *Industrial Crops and Products* 61: 31-40.
- Das, A. K., P. K. Nanda, et al. (2020).** "A comprehensive review on antioxidant dietary fibre enriched meat-based functional foods." *Trends in Food Science & Technology* 99: 323-336.
- Dastmalchi, K., H. D. Dorman, et al. (2008).** "Chemical composition and in vitro antioxidative activity of a lemon balm (*Melissa officinalis* L.) extract." *LWT-Food Science and Technology* 41(3): 391-400.
- Dhole, J., N. Dhole, et al. (2011).** "Preliminary phytochemical analysis and antimicrobial activity of some weeds collected from Marathwada region." *Journal of research in Biology* 1: 19-23.
- Dibert, K., E. Cros, et al. (1989).** "Solvent extraction of oil and chlorogenic acid from green coffee. Part II: Kinetic data." *Journal of food engineering* 10(3): 199-214.
- Djeridane, A., M. Yousfi, et al. (2006).** "Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds." *Food Chemistry* 97(4): 654-660.
- Dkhil, M. A., A. E. A. Moniem, et al. (2011).** "Antioxidant effect of purslane (*Portulaca oleracea*) and its mechanism of action." *Journal of Medicinal Plants Research* 5(9): 1589-1593.
- Ehling-Schulz, M., D. Lereclus, et al. (2019).** "The *Bacillus cereus* Group: Bacillus Species with Pathogenic Potential." *Microbiology Spectrum* 7(3).
- El Jemli, M., R. Kamal, et al. (2017).** "Chemical composition, acute toxicity, antioxidant and anti-inflammatory activities of Moroccan *Tetraclinis articulata* L." *Journal of traditional and complementary medicine* 7(3): 281-287.

- Farnsworth, N. R., O. Akerele, et al. (1986).** "Place des plantes médicinales dans la thérapeutique." *Bulletin of the World Health Organization* 64(2): 159.
- Favier, A. (2003).** "Le stress oxydant." *L'actualité chimique* 108(10): 863-832.
- Fischer, U. A., R. Carle, et al. (2013).** "Thermal stability of anthocyanins and colourless phenolics in pomegranate (*Punica granatum* L.) juices and model solutions." *Food Chemistry* 138(2-3): 1800-1809.
- Fulop, T., G. Pawelec, et al. (2020).** *Immunosenescence, oxidative stress, and cancers.* *Cancer Immunology*, Springer: 513-531.
- Gautam, A. K., S. Sharma, et al. (2011).** "Diversity, Pathogenicity and Toxicology of *A. niger*: An Important Spoilage Fungi." *Research Journal of Microbiology* 6(3): 270-280.
- Goudable, J. and A. Favier (1997).** "Radicaux libres oxygénés et antioxydants." *Nutrition clinique et métabolisme* 11(2): 115-120.
- Gugnani, H. C. (2003).** "Ecology and taxonomy of pathogenic aspergilli." *Frontiers in Bioscience* 8(6): s346-357.
- Guinebert, E., P. Durand, et al. (2005).** "Mesure de la résistance aux radicaux libres." *Acte du 6ème Journées de la Recherche Avicole*, S Malo, les 30: 554-558.
- Gurib-Fakim, A. (2006).** "Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow." *Molecular Aspects of Medicine* 27(1): 1-93.
- Hadjadj-Aoul, S. (1995).** *Les peuplements du thuya de Berbérie (Tetraclinis articulata, (Vahl) Masters) en Algérie: phytoécologie, syntaxonomie, potentialités sylvicoles*, Aix-Marseille 3.
- Hadjadj Aoul, S., M. Chouieb, et al. (2009).** "Effet des facteurs environnementaux sur les premiers stades de la régénération naturelle de *Tetraclinis articulata* (Vahl, Master) en Oranie, Algérie." *Ecologia mediterranea* 35(1): 19-30.
- Hallsworth, J. E., Y. Nomura, et al. (1998).** "Ethanol-induced water stress and fungal growth." *Journal of Fermentation and Bioengineering* 86(5): 451-456.
- Herodež, Š. S., M. Hadolin, et al. (2003).** "Solvent extraction study of antioxidants from Balm (*Melissa officinalis* L.) leaves." *Food Chemistry* 80(2): 275-282.
- Hof, H. and P. Hefner (1988).** "Pathogenicity of *Listeria monocytogenes* in comparison to other *Listeria* species." *Infection* 16(2): S141-S144.
- Hussein, M. A. (2010).** "Purslane extract effects on obesity-induced diabetic rats fed a high-fat diet." *Malaysian journal of nutrition* 16(3).
- Jafarpour, M. and A. N. Fard (2016).** "The effects of aqueous extract of *Melissa officinalis* on some blood parameters and liver of *Oncorhynchus mykiss*." *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation* 9(3): 748-758.

- Kim, I.-Y., M.-H. Lee, et al. (2013).** "Skin lightening and wrinkle improving efficacy of organic *Portulaca oleracea* extract in skin care cosmetic." *International Journal of Bio-Science and Bio-Technology* 5(5): 75-84.
- Kohen, R. and A. Nyska (2002).** "Invited review: Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification." *Toxicologic pathology* 30(6): 620-650.
- Kothe, H. W. (2007).** 1000 plantes aromatiques et médicinales, Terres éd.
- Kouider, H. and L. B. Assia (2017).** "Synthèse bibliographique sur le thuya de berbérie [*Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast.]." *Geo-Eco-Trop* 41(1): 13-27.
- Lagunez Rivera, L. (2006).** Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffé par induction thermomagnétique directe.
- Larson, T. M., D. F. Kendra, et al. (2011).** "*Fusarium verticillioides* chitin synthases CHS5 and CHS7 are required for normal growth and pathogenicity." *Current Genetics* 57(3): 177-189.
- Leybros, J. and P. Frémeaux (1990).** "Extraction solide-liquide. I. Aspects théoriques." *Techniques de l'ingénieur. Génie des procédés 2: J2780. 2781-J2780. 2721.*
- Lhuillier, A. (2007).** Contribution à l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches: *Agauria salicifolia* Hook. f ex Oliver, *Agauria polyphylla* Baker (Ericaceae), *Tambourissa trichophylla* Baker (Monimiaceae) et *Embelia concinna* Baker (Myrsinaceae).
- Lin, X., Y. Ran, et al. (2012).** "Comprehensive transcription analysis of human pathogenic fungus *Penicillium marneffe* in mycelial and yeast cells." *Medical Mycology* 50(8): 835-842.
- Liu, L., P. Howe, et al. (2000).** "Fatty acids and β -carotene in Australian purslane (*Portulaca oleracea*) varieties." *Journal of Chromatography A* 893(1): 207-213.
- Lopez-Velez, M., F. Martinez-Martinez, et al. (2003).** "The study of phenolic compounds as natural antioxidants in wine."
- Mahmoudi, S., M. Khali, et al. (2013).** "Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.)." *Nature & Technology*(9): 35.
- Mason, T. J., L. Paniwnyk, et al. (1996).** "The uses of ultrasound in food technology." *Ultrasonics sonochemistry* 3(3): S253-S260.
- Miron, T. L., M. Herrero, et al. (2013).** "Enrichment of antioxidant compounds from lemon balm (*Melissa officinalis*) by pressurized liquid extraction and enzyme-assisted extraction." *Journal of Chromatography A* 1288: 1-9.
- Mohamed, A. I. and A. S. Hussein (1994).** "Chemical composition of purslane (*Portulaca oleracea*)." *Plant Foods for Human Nutrition* 45(1): 1-9.
- Mohamed, B. S., Zouhair; Nabila, Soraa; (2017).** Guide pratique des bactéries pathogènes.

- mondiale de la Santé, O. (2017).** "Directives de qualité pour l'eau de boisson: 4e éd. intégrant le premier additif."
- Morin, O. (1994).** "Aspergillus et aspergilloses: biologie, Ed." Techniques Encycl. Med. Chir.(Elsevier, Paris), Maladies infectieuses: 8-600.
- Muylaert, A. and J. Mainil (2013).** Résistance bactériennes aux antibiotiques, les mécanismes et leur" contagiosité". Annales de Medecine vétérinaire, ULg-Université de Liège.
- Nacz, M. and F. Shahidi (2004).** "Extraction and analysis of phenolics in food." Journal of chromatography A 1054(1-2): 95-111.
- Nekkaa, A., A. Benaissa, et al. (2021).** "*Rhamnus alaternus* Plant: Extraction of Bioactive Fractions and Evaluation of Their Pharmacological and Phytochemical Properties." Antioxidants 10(2): 300.
- Novelli, G. (1997).** "Role of free radicals in septic shock." Journal of physiology and pharmacology 48(4).
- Okafor, I. A., M. B. Ayalokunrin, et al. (2014).** "A review on *Portulaca oleracea* (Purslane) plant – Its nature and biomedical benefits." International Journal of Biomedical Research 5(2): 75.
- Oussalah, M., S. Caillet, et al. (2007).** "Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: E. coli O157: H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*." Food control 18(5): 414-420.
- Oyaizu, M. (1986).** "Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine." The Japanese journal of nutrition and dietetics 44(6): 307-315.
- Ozkan, G., O. Sagdic, et al. (2010).** "Study on chemical composition and biological activities of essential oil and extract from *Salvia pisidica*." LWT-Food Science and Technology 43(1): 186-190.
- Panja, P. (2018).** "Green extraction methods of food polyphenols from vegetable materials." Current Opinion in Food Science 23: 173-182.
- Peksel, A., I. Arisan-Atac, et al. (2006).** "Antioxidant activities of aqueous extracts of purslane (*Portulaca oleracea* subsp. sativa L.)." Italian journal of food science 18(3).
- Penchev, P., G. Angelov, et al. (2010).** "Extraction des agents antioxydants (acide rosmarinique) à partir de la mélisse (*Melissa officinalis* L.)." Revue de génie industriel 5: 115-123.
- Petersen, M. and M. S. Simmonds (2003).** "Rosmarinic acid." Phytochemistry 62(2): 121-125.
- Pharmacognosie, B. J. (1999).** "phytochimie, plantes médicinales." Revue et Augmentée, Tec & Doc, Paris.

- Picó, Y. (2013).** "Ultrasound-assisted extraction for food and environmental samples." *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 43: 84-99.
- Poprac, P., K. Jomova, et al. (2017).** "Targeting Free Radicals in Oxidative Stress-Related Human Diseases." *Trends in Pharmacological Sciences* 38(7): 592-607.
- Poux, M., P. Cagnet, et al. (2010).** *Génie des procédés durables: Du concept à la concrétisation industrielle*, Dunod.
- Prieto, P., M. Pineda, et al. (1999).** "Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E." *Analytical biochemistry* 269(2): 337-341.
- Quezel, P. and S. Santa (1963).** *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*.
- Rached, W., F. Z. Zeghada, et al. (2018).** "Phytochemical analysis and assessment of antioxidant, antimicrobial, anti-inflammatory and cytotoxic properties of *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters leaves." *Industrial Crops and Products* 112: 460-466.
- Richardson, P. M., N. D. Fedorova, et al. (2008).** "Genomic Islands in the Pathogenic Filamentous Fungus *Aspergillus fumigatus*." *PLoS Genetics* 4(4): e1000046.
- Rolland, Y. (2004).** "Antioxydants naturels végétaux." *Oléagineux, Corps gras, Lipides* 11(6): 419-424.
- Ronat, N. (2001).** *La mélisse (Melissa officinalis L.): 99*.
- Ruberto, G. and M. T. Baratta (2000).** "Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems." *Food Chemistry* 69(2): 167-174.
- Saber, M., H. Harhar, et al. (2020).** "Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oil of Sawdust from Moroccan Thuya (*Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters)." *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 10(1): 129-141.
- Saewan, N. and A. Jimtaisong (2013).** "Photoprotection of natural flavonoids." *J Appl Pharm Sci* 3(9): 129-141.
- Salah, K. B. H. and R. Chemli (2004).** "Variabilité phénotypique de quelques populations de Pourpier (*Portulaca oleracea* L.) en Tunisie." *Acta Botanica Gallica* 151(1): 111-119.
- Scheidegger, K. A. and G. A. Payne (2003).** "Unlocking the Secrets Behind Secondary Metabolism: A Review of *Aspergillus flavus* from Pathogenicity to Functional Genomics." *Journal of Toxicology: Toxin Reviews* 22(2-3): 423-459.
- Sdouga, D., F. Branca, et al. (2020).** "Morphological Traits and Phenolic Compounds in Tunisian Wild Populations and Cultivated Varieties of *Portulaca oleracea* L." *Agronomy* 10(7): 948.
- Sohal, R. S., R. J. Mockett, et al. (2002).** "Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis." *Free Radical Biology and Medicine* 33(5): 575-586.

- Soliman, A. A., M. M. Elsayy, et al. (2020).** "Characterization, coating and biological evaluation of polyol esters rosin derivatives as coating films." *Journal of Coatings Technology and Research* 18(2): 373-381.
- Spichiger, R.-E., M. Figeat-Hug, et al. (2002).** *Botanique systématique des plantes à fleurs: une approche phylogénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicales*, PPUR presses polytechniques.
- Stevanato, R., M. Bertelle, et al. (2014).** "Photoprotective characteristics of natural antioxidant polyphenols." *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 69(1): 71-77.
- Tacherfiout, M., P. D. Petrov, et al. (2018).** "Antihyperlipidemic effect of a *Rhamnus alaternus* leaf extract in Triton-induced hyperlipidemic rats and human HepG2 cells." *Biomedicine & Pharmacotherapy* 101: 501-509.
- Teuscher, E., R. Anton, et al. (2005).** *Plantes aromatiques: épices, aromates, condiments et huiles essentielles*, Tec & Doc.
- Tiwari, P., B. Kumar, et al. (2011).** "Phytochemical screening and extraction: a review." *Internationale pharmaceutica sciencia* 1(1): 98-106.
- Tolba, I. (2016).** Détermination d'un méta-paramètre pour l'estimation de la capacité antioxydante globale des thés, tisanes et jus, Université du Québec à Trois-Rivières.
- Toumi-Benali, F. (2009).** Valorisation de *Tetraclinis articulata* dans la mise en valeur des espèces dégradées dans l'Ouest Algérien, possibilité de culture, régénération et potentialité phyto-bioclimatique de l'espèce, Thèse de doctorat. Université Sidi Bel Abbès.
- Tsahar, E., J. Friedman, et al. (2002).** "Impact on fruit removal and seed predation of a secondary metabolite, emodin, in *Rhamnus alaternus* fruit pulp." *Oikos* 99(2): 290-299.
- Uddin, M., A. S. Juraimi, et al. (2014).** "Purslane weed (*Portulaca oleracea*): a prospective plant source of nutrition, omega-3 fatty acid, and antioxidant attributes." *The Scientific World Journal* 2014.
- ÜstÜNdaŞ, M., H. B. Yener, et al. (2018).** "Parameters Affecting Lycopene Extraction from Tomato Powder and Its Antioxidant Activity." *Anadolu University Journal of Science and Technology-A Applied Sciences and Engineering*: 1-1.
- Venturini, G., G. Assante, et al. (2013).** "Pathogenicity variation in *Fusarium verticillioides* populations isolated from maize in northern Italy." *Mycoscience* 54(4): 285-290.
- Vilkhu, K., R. Mawson, et al. (2008).** "Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry—A review." *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 9(2): 161-169.
- Vinatoru, M. (2001).** "An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs." *Ultrasonics sonochemistry* 8(3): 303-313.
- Visagie, C., J. Houbraeken, et al. (2014).** "Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*." *Studies in mycology* 78: 343-371.

- Wang, W., N. Wu, et al. (2008).** "Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components." *Food Chemistry* 108(3): 1019-1022.
- Wen, C., J. Zhang, et al. (2018).** "Advances in ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from cash crops – A review." *Ultrasonics sonochemistry* 48: 538-549.
- Wichtl, M., R. Anton, et al. (1999).** *Plantes thérapeutiques: tradition, pratique officinale, science et thérapeutique*, Tec & Doc; Ed. médicales internationales.
- Wong, C.-C., H.-B. Li, et al. (2006).** "A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay." *Food Chemistry* 97(4): 705-711.
- Yala, J.-F., V. Ntsameso-Mve-Mba, et al. (2016).** "Évaluation *in vitro* de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux d'*Eryngium foetidum* récolté dans la ville de Franceville." *Journal of Applied Biosciences* 103: 9886-9893.
- Yanishlieva, N. V. and E. M. Marinova (1995).** "Antioxidant activity of selected species of the family Lamiaceae grown in Bulgaria." *Food/Nahrung* 39(5- 6): 458-464.
- YBERT, E. and D. M. A. DE LAAGE (2001).** "Larousse encyclopédie des plantes médicinales." Identification, préparations, soins, Larousse, Paris.
- Yin, G., Y. Zhang, et al. (2017).** "Characterization of Blue *Mold Penicillium* Species Isolated from Stored Fruits Using Multiple Highly Conserved Loci." *Journal of Fungi* 3(1): 12.
- Zeouk, I. and K. Bekhti (2019).** "A critical overview of the traditional, phytochemical and pharmacological aspects of *Rhamnus alaternus*: a Mediterranean shrub." *Advances in Traditional Medicine* 20(1): 1-11.
- Zeouk, I. and K. Bekhti (2020).** "A critical overview of the traditional, phytochemical and pharmacological aspects of *Rhamnus alaternus*: a Mediterranean shrub." *Advances in Traditional Medicine* 20(1): 1-11.

RESUME

Les plantes médicinales sont des sources importantes en nouvelles substances actives qui peuvent remplacer les médicaments. Dans le présent travail deux axes principaux ont été étudiés. Le premier est une comparaison entre des techniques d'extraction (EAU, macération et agitation à bain marie) afin de choisir la meilleure avec rendement et activités biologiques optimaux, les résultats montrent aucune différence significative entre ces techniques et l'EAU est une technique alternative simple, rapide et efficace a été sélectionnée pour l'évaluation des activités biologiques. Le deuxième est l'évaluation des activités antioxydantes (par les tests ; ABTS, PRAF et de AAT) sur les extraits des feuilles des plantes de *Bouira*. Les résultats ont confirmé que la Mélisse et Thuya berbère présentent une forte activité par rapport aux pourpier et Imlilisse. D'autre part, résultats des activités antibactériennes et antifongiques étaient négatifs.

Mots clés : Activité antioxydante, activité antibactérienne, activité antifongique, Mélisse, Thuya berbère, pourpier, Imlilisse

ABSTRACT

Herbal medicines are important sources of new active substances that can replace drugs. In this work two main axes have been studied. The first is a comparison between extraction techniques (UAE, maceration and water-bath agitation) in order to choose the best one with optimal yield and biological activities, the results show no significant differences between these techniques and the UAE is a simple, fast and effective alternative technique which was selected for the evaluation of biological activities. The second is the evaluation of antioxidant activities (by tests; ABTS, FRAP and AAT) on extracts leaves of *Bouira* plants. The results confirmed that Lemon Balm and Berber Thuya show a high activity compared to Common Purslane and Mediterranean Buckthorn. On the other hand, the results of antibacterial and antifungal activities were negative.

Key words: Antioxidant activity, antibacterial activity, antifungal activity, Lemon Balm, Berber thuya, Common Purslane, Mediterranean Buckthorn.

ملخص

النباتات الطبية هي مصادر هامة للمواد الفعالة الجديدة التي يمكن ان تحل محل الادوية. في هذا العمل تم دراسة محورين رئيسيين. الأول هو مقارنة بين تقنيات الاستخراج (EAU, macération, agitation à bain marine) من اجل اختيار الأفضل مع الغلة المثلى و الأنشطة البيولوجية العالية، حيث تظهر النتائج ان الفرق كبير بين هذه التقنيات و ان تقنية EAU هي التقنية البديلة لبساطتها، سرعتها و فعاليتها، لذا قد تم اختيارها لتقييم الأنشطة البيولوجية. و الثاني هو تقييم الأنشطة المضادة للاكسدة عن طريق الاختبارات ABTS, PRAF, AAT على أوراق من نباتات البويرة. حيث اكدت النتائج ان فرزيزوا و العرعار لديهما نشاط مرتفع مقارنة بالرجيلة و المليس. من ناحية أخرى. كانت نتائج الأنشطة المضادة للبكتيريا و الفطريات سلبية.

كلمات مفتاحية: النشاط المضاد للاكسدة، النشاط المضاد للبكتيريا، النشاط المضاد للفطريات، فرزيزوا، العرعار، الرجيلة، مليس.