



Réf:...../UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2022

MEMOIRE DE FIN DE CYCLE
EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine: SNV

Filière: Sciences Biologiques

Spécialité: Microbiologie Appliquée

Présenté par :

GHABECHE Manel et BENSENOUCI Chahinez

Thème

**Activité antioxydante et antimicrobienne des
extraits éthanoliques de deux plantes de la
famille des *Asteraceae*.**

Soutenu le: 07/07/2022

Devant le jury composé de:

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
Mme MELLOUK. S	MAA	Univ.de Bouira	Présidente
Mme DJOUAHRA.F	MCB	Univ.de Bouira	Promotrice
Mme DJENADI.K	MCB	Univ.de Bouira	Examinatrice

Année Universitaire: 2021/2022

Remercîment

*Notre première gratitude va au tout-puissant **ALLAH**, le créateur du Tout, pour Nous avoir donné la vie, le bénédicité et la force pour accomplir ce Travail.*

Nous adressons nos sincères remerciements tout particulièrement à notre Promotrice

***Dr Djouahra-Fahem Djamilâ.** D'avoir accepté de nous encadré,*

Nous présentons nous remerciements

Pour sa disponibilité et son aide tout le long de ce modeste Travail, ses bons conseils, ses immenses contributions, critiques constructives,

Patience et compréhension

Nous tenons également à exprimer nos sincères remerciement aux égards des

*Membres de jury, à **Dr Djenadi Katia** qui nous a fait l'honneur des a présence*

En acceptant d'examiner notre document et d'avoir Accepté de siéger parmi les membres du jury et d'avoir eu l'amabilité de partager ses connaissances.

d'avoir Accepter de Siéger par mi les membres du jury et d'avoir eu l'amabilité de Partager ses connaissances.

*Nous adressons également nos vifs remerciements à **Dr Mellouk S***

d'avoir accepté de présider le jury de cette soutenance et d'enrichir notre soutenance.

Nous remercions aussi les responsables du laboratoire de biologie

Pour leur gentillesse et Leurs soutiens.

Nos pensées vont à tous les enseignants qui ont participé à notre formation. Nous tenons à remercier profondément tous ceux qui ont participé de loin ou de près à la réalisation de ce travail

Dédicace

*A*u terme de ce parcours, je remercie enfin celles et ceux qui me sont chers et que j'ai

Quelque peu délaissés ces derniers mois pour achever ce travail.

Leurs attentions et encouragements m'ont accompagnée tout au long de ces années.

Je dédie ce travail à :

Allah

Louange à Allah tout puissant, Qui m'a permis de voir ce jour tant attendu

A mes plus chères personnes dans ma vie mes parents ;

Mon père Djamel, qui a toujours été à mes côtés avec ses précieux conseils et son Soutien moral, qui m'a encouragé sans limite. Je t'aime PAPA...

Ma chère mère Fadila, qui est la lumière de ma vie je ne peux pas vivre sans ses conseils, Son affection et son amour, sans elle je n'aurais pas ce mémoire, elle y a Un grand rôle car Elle m'a donné le courage et la force dans les moments difficiles de ma vie. Je t'aime MAMAN...

A mes grands-parents qui s'est toujours sacrifiée pour mon éducation, Qui ma entourée De son amour et de son affection, je la remercie et je n'oublierai jamais son soutien moral dans les moments les plus difficiles, que dieu la protège

A à toute famille Ghabeche et nakaa, à mes oncles, mes tantes, mes cousines A mon cher frère : Sohaib

A mes chères sœurs : hadil, Raihana,

A toutes mes amies Linda, Ikram, Meriem, Amira, Bouchra, hiba,

A ma binôme Chahinez avec qui j'ai vécu des beaux moments au cours de cette année, Ainsi qu'à sa famille.

A tous ceux qui m'aiment et que j'aime.

Tous ceux qui m'ont encouragée pendant la durée de la réalisation de ce travail À tous la promotion 2022

Merci

Manel

Avec un énorme plaisir, un cœur ouvert, et un grand amour, Je dédie ce travail :

*Tous d'abord Mes plus chères personnes dans ma vie **mes parents** ; Qui ont été la source de*

Ma force et encouragement depuis l'enfance Avec leurs prières et leur confiance,

Que je suis ici ce jour là Que dieu vous protège et vous garde pour moi

*A mes frères **Oussama, Bilal, Anis** et ma belle-sœur **Leïla**. A ma nièce **Miral***

A mes grands-parents, Mes tantes et leurs époux , Mes oncles et leurs épouses.

Mes cousines et cousins

*A toute la famille **Bensenouci et Korichi***

*A Ma cher binôme **Manel** avec laquelle j'ai partagé ce travail*

et Avec elle j'ai passé des moments inoubliables.

À sa famille et ces Amis. Je ne peux pas oublier de remercier chaleureusement mes très chères Copines :

Fedwa, Amira, Bouchra, Manel, Meriem, Kaothar.

Pour l'ambiance cordiale et L'aide

Qu'ils m'ont apportée à tout Moment. Je leurs souhaite,

à tous Bonne continuation et beaucoup de réussite.

*A toutes mes amis et mes camarades A toute la **promo master 2 Microbiologie (2021/2022)** Merci*

Chahinez

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction..... 1

Partie I : Synthèse bibliographique

Chapitre I : Phytothérapie et plantes médicinales

I.1. Phytothérapie et plantes médicinales 5

I.1.1. Définition de la phytothérapie..... 5

I.1.2. Les plantes médicinales..... 5

I.1.3. Métabolites secondaires des plantes5

I.1.3.1. Composés phénoliques6

I.1.3.2. Les saponosides.....8

I.1.3.3. Les alcaloïdes..... 9

I.1.3.4. Les huiles essentielles.....9

Chapitre II : Présentation de la famille des astéracées

II.1.Etymologie et caractéristiques 11

II.2.Répartition géographique11

II.3.Caractères écologiques13

II.4.Description botanique 13

II.5.Position systématique15

II.6.Utilisations et intérêts économiques 16

Chapitre III : Présentation des plantes *Pulicaria odora* L et *Calendula arvensis* L

III. 1. Présentation de la plante *Calendula arvensis* L 17

III.1.1. Description botanique17

III.1.2. Classification 17

III.1.3. Distribution géographique 18

III.1.4. Ecologie et répartition 18

III.1.5.Composés secondaires isolés à partir de la plante..... 19

III.1.6. Domaines d'application et intérêt en phytothérapie25

III.1.7. Les activités biologiques de l'espèce *Calendula arvensis* L..... 25

III. 2. Présentation de la plante *Pulicaria odora* L.....25

III.2.1. Description botanique..... 26

III.2.2. Classification..... 26

III.2.3. Distribution géographique..... 27

III.2.4. Ecologie et répartition..... 27

III.2.5. Composés secondaires isolés à partir de la plante.....	27
III.2.6. Propriétés et usage thérapeutique.....	29
III.2.7. Les activités biologiques de l'espèce <i>pulicaria odora</i> L	29

Deuxième partie : Partie experimental

Chapitre I: Matériels et Méthodes

I.1. Echantillonnage	32
I.2. Préparation de l'échantillon végéta.....	33
I.2.a. Le séchage.....	33
I.2.b. Broyage	33
I.2.c. La conservation	34
I.3. Extraction des polyphénols totaux	34
I.4. Analyses quantitatives par dosage spectrophotométrique	36
I.4.a .Dosage des polyphénols totaux	38
I.4.b .Dosage des flavonoïdes totaux.....	39
I.5. Analyse statistique.....	40
I.6. Évaluation du potentiel antiradicalaire.	40
I.6.a. Test au DPPH	40
I.7. Activité antibactérienne des extraits polyphénoliques de <i>Pulicaria odora</i> L et <i>Calendula arvensis</i> L.....	41
I.7.a. Les souches bactériennes utilisées.....	42
I.7.b. Préparation de l'extrait éthanolique.	42
I.7.c. Préparation de milieu de culture.....	42
I.7.d. Revivification des souches	42
I.7.e. Préparation de l'inoculum bactérien.....	43
I.7.f. Etude de l'effet antibactérien de l'extrait par la méthode de diffusion par puits sur gélose.....	43
I.8. Activité antifongique des extraits polyphénoliques de <i>Pulicaria odora</i> L et <i>Calendula arvensis</i> L.....	45
I. 8.a. Préparation du milieu de culture	45
I.8.b. Repiquage des souches	45
I.8.c. Etude de l'effet antifongique de l'extrait par la méthode de contact direct sur Milieu gélosé	46

Chapitre II : Résultats et discussions

II.1. Le rendement d'extraction des polyphénols.....	48
II.2. Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux.....	49
II.2.a .Dosage des polyphénols totaux.....	49

II.2.b. Dosage des Flavonoïde totaux.....	51
II.3. Évaluation du potentiel antiradicalaire.....	52
II.3.a. Test au DPPH.....	52
II.4. Activité antibactérienne des extraits polyphénoliques de <i>Pulicaria odora</i> L et <i>Calendula arvensis</i> L.....	54
II.5. Activité antifongique des extraits polyphénoliques de <i>Pulicaria odora</i> L et <i>Calendula arvensis</i> L.....	57
Conclusion	61
Références bibliographiques	
Annexes	
Résumés	

Liste des abréviations

- **P.Odora** : *Pulicaria odora*
- **Atm** : Atmosphère
- **CCM** : Chromatographie sur couche mince
- **DPPH** : diphényle-picrylhydrazyl
- **CEP** : champs électriques pulsés
- **TCs** : Tanin Condensés
- **C.arvensis** : *Calendula arvensis*
- **PPT** : la teneur des polyphénols totaux
- **CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice
- **CMB** : Concentration Minimale Bactérienne
- **MH** : Meller Hinton
- **VIH** : virus d'immunodéficience humaine
- **AlCl₃** : trichlorure d'aluminium
- **MS** : matière sèche
- **SM** : solution mère
- **W₈O₂₃** : tungstène
- **MO₈O₂₃** : molybdène
- **EAG** : équivalent acide gallique
- **A** : absorbance
- **Gram⁺** : Gram positive
- **Gram⁻** : Gram négative
- **IC₅₀** : concentration pour 50 d'inhibition
- **FT** : teneur des flavonoïdes

Liste des figures

Figure 01: Structure moléculaire de base des flavonoïdes (benzo- α -pyrone) avec la Numérotation classique	7
Figure 02: Structure chimique d'un tannin hydrolysables (Gallotannins (1), Ellagitannins (2))	8
Figure 03: Structure générale des proanthocyanidines	8
Figure 04 : Répartition géographique mondiale des Astéracées	12
Figure 05 : Évolution de la Répartition géographique des <i>Asteraceae</i> (à gauche) et du nombre Chromosomique de basse (à droite)	12
Figure 06: Caractéristiques du climat et du sol de famille des <i>Astéracées</i>	13
Figure 07 : Types de fleurs des <i>Astéracées</i>	14
Figure 08 : Type de fruits de la Famille des <i>Astéracées</i>	15
Figure 09 : <i>Calendula arvensis</i> (souci des champs).	17
Figure 10 : Répartition de la <i>C.arvensis</i> dans le monde.	18
Figure 11 : Les caractéristiques du climat et du sol de <i>Calendula arvensis</i>	19
Figure 12 : Les flavonoïdes isolés de la plante <i>Calendula arvensis</i> (Quercetine-3-O-Rutinoside) Et de <i>Calendula officinalis</i> (Quercetine-3-O-glucoside)	20
Figure 13 : Les tanins isolés de l'espèce <i>Calendula officinalis</i>	20
Figure 14: Exemples des acides phénoliques identifiés dans l'espèce <i>Calendula officinalis</i>	21
Figure 15 : Les composés majoritaires des HE de <i>Calendula arvensis</i>	22
Figure 16: Structure chimique de quelques saponines isolées de <i>Calendula arvensis</i>	22
Figure 17: Structure chimique de quelques sesquiterpènes identifiés dans <i>Calendula</i>	23
Figure 18: Structure chimique de l'hélianol, (un alcool triterpénique extrait par le méthanol) de fleurs de <i>Calendula</i>	23
Figure 19 : Structure générale des caroténoïdes déterminés par HPLC	24
Figure 20: Structure de base des anthocyanes	24
Figure 21 : La plante <i>Pulicaria odora</i> L	26
Figure 22: Caractéristiques du climat et du sol de <i>pulicaria odora</i> L	27

Figure 23: Structure des huiles essentielles de <i>Pulicaria odora</i> L : (A) : 2-isopropyl-4-méthylphénol et (B) : isobutyric acide 2-isopropyl-4-méthyl-phénylester	28
Figure 24: Aspect des feuilles (A) et fleurs (B) de <i>Pulicaria odora</i> L.	32
Figure 25: Aspect des feuilles (A) et fleurs (B) de <i>calendula arvensis</i> L	33
Figure 26 : Photographie des plantes (<i>Pulicaria odora</i> L et <i>Calendula arvensis</i> L) dans l'étuve	33
Figure 27 : L'aspect final de la plante <i>Calendula arvensis</i> L	34
Figure 28: L'aspect final de la plante de <i>Pulicaria odora</i> L	34
Figure 29 : La macération des plantes sous l'agitation magnétique	35
Figure 30 : Filtration des extraits.	35
Figure 31 : Photographie d'un évaporateur rotatif Bushi	36
Figure 32 : L'extrait de deux plantes après l'évaporation	36
Figure 33 : Protocole d'extraction des polyphénols	37
Figure 34 : Dosage des polyphénols totaux selon la méthode de Folin-Ciocalteu	38
Figure 35 : Dosage des flavonoïdes	40
Figure 36 : Revivification des souches bactériennes	42
Figure 37 : Protocole expérimentale d'activité antibactérienne (la méthode de diffusion par Puits)	44
Figure 38 : Repiquage des souches fongiques	45
Figure 39 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols en équivalent de l'acide Gallique.	49
Figure 40 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes en équivalent de quercetine	51
Figure 41 : Courbe du radicale libre DPPH des extraits (<i>Pulicaria odora</i> L <i>Calendula arvensis</i> L) et acide ascorbique évalué à différentes concentrations	52

Liste des tableaux

Tableau I : La classification classique	15
Tableau II : La position taxonomique de <i>C. arvensis</i> L	18
Tableau III : La classification de <i>Pulicaria odora</i> L	26
Tableau IV : Les souches bactériennes utilisées	42
Tableau V : L'aspect, couleur et rendement d'extraction des feuilles de <i>Pulicaria odora</i> L et de <i>Calendula arvensis</i> L.	48
Tableau VI : Les teneurs en polyphénols totaux de l'extrait éthanolique exprimées en mgEAG/gMS (n=3).	50
Tableau VII : La teneur en flavonoïdes de l'extrait exprimé en mg Eq/g (n=3).	51
Tableau VIII : Les concentrations efficaces pour réduire 50% de DPPH par l'acide ascorbique et les extraits de <i>Pulicaria odora</i> L et <i>Calendula arvensis</i> L.	53
Tableau IX : Diamètre des zones d'inhibition de différentes concentrations de l'extrait éthanolique de <i>Pulicaria odora</i> L sur les bactéries à Gram positif et négative.	54
Tableau V : Le diamètre des zones d'inhibition de différentes concentrations de l'extrait Éthanolique de <i>Calendula arvensis</i> L sur les bactéries à Gram positif et négative.	55
Tableau XI : Le pourcentage d'inhibition de mycélium de moisissures après traitement par les extraits Éthanolique de <i>Pulicaria odora</i> L et <i>Calendula arvensis</i> L	58

Introduction

Depuis l'antiquité, les plantes médicinales sont utilisées par la majorité de la population dans le monde, et surtout dans les pays en voie de développement (**Karmakar, 2011**). Le monde des végétaux est plein de ressources inépuisables et de vertus ; d'où l'homme puise non seulement sa nourriture, mais des molécules bioactives utilisées à des fins thérapeutiques ; soit pour diagnostiquer, prévenir ou pour soulager les diverses maladies (**Karmakar, 2011**).

Les plantes médicinales représentent une énorme source de métabolites. En particulier les composés phénoliques tels que les flavonoïdes, acides phénoliques, tanins, etc..., qui possèdent diverses activités biologiques à savoir antioxydante, anti-inflammatoire, Antimicrobiens (**Karmakar, 2011**).

Pour cela, l'industrie pharmaceutique moderne s'appuie principalement sur la recherche de nouvelles molécules issues de métabolites secondaires d'origine végétale ayant de nouvelles propriétés biologiques et pharmacologiques (**Hostettmann et al., 1982**).

L'Algérie est connue pour sa diversité florale : méditerranéenne, saharienne...etc. Appartenant à différentes familles botaniques, elle est estimée à plus de 3000 espèces (**Ozenda, 1991**). Parmi ces espèces on peut citer *Pulicaria odora* L et *Calendula arvensis* L de la famille des *Asteraceae*. C'est sur ces deux plantes qui sont porté notre présent travail. *Pulicaria odora* L est une espèce aux propriétés très biologiques et médicinales importantes, elle est caractérisée par une activité antibactérienne (**Fadwa et al, 2005**), antifongique (**Touati et al., 2014**) et cicatrisante (**Meddour et al., 2009**). Dans certaines régions de la Kabylie, les feuilles de *Pulicaria odora* L sont utilisées sous forme fraîche pour soigner des affections cutanées (plaies, brûlures, écorchures...) ou encore par voie interne pour soigner certaines pathologies digestives (ulcère gastrique, gastrite...). *Calendula arvensis* L est une espèce aux propriétés très biologiques et médicinales aussi importants, elle est caractérisée par une activité antibactérienne, antioxydante, anti-inflammatoire, et antidiabétique (**Abudunia, 2018**). Les feuilles de cette plante soulagent les vomissements et les ulcères internes, ils servent aussi à se débarrasser des verrues, callosités... (**Khalid et al., 2010**).

L'objectif de notre travail vise à démontrer la richesse de nos plantes en polyphénols à déterminer leurs propriétés biologiques. Pour cela notre étude englobe deux aspects :

- ❖ Le premier aspect est d'ordre phytochimique basé principalement sur l'extraction et le dosage des composés phénoliques. Il porte également sur l'évaluation de l'activité Antioxydant des polyphénols par le test antiradicalaire du radical libre DPPH.

Introduction

❖ Le second aspect est consacré à un test antimicrobien afin de déterminer l'efficacité de ces polyphénols après extraction contre différentes souches microbiennes (Bactéries et champignons) pouvant être pathogènes pour l'homme.

Ce mémoire s'articule en trois parties :

- ❖ La première partie est une étude bibliographique concernant la phytothérapie et les plantes médicinales, la présentation de la famille des *Asteraceae*, la phytothérapie et les plantes médicinales et présentation des plantes *Pulicaria odora* L et *Calendula arvensis* L.
 - ❖ La deuxième partie est consacrée à l'expérimentation, elle englobe le matériel et méthodes utilisés au cours de ce travail ainsi que les résultats obtenus et leurs discussions.
- Enfin une conclusion générale et quelques perspectives.

Première partie :

**SYNTHÈSE
BIBLIOGRAPHIQUE**

Chapitre I :

Phytothérapie et plantes Médicinales

I.1. Phytothérapie et plantes médicinales

I.1.1. Définition de la phytothérapie

Le terme "phytothérapie" est constitué en étymologie de deux racines grecques : *phuton* et *therapeia* qui signifient respectivement « plante » et « traitement ». La phytothérapie définit comme une discipline allopathique qui vise à prévenir et traiter certains dysfonctionnements et/ou certaines pathologies au moyen de plantes, de parties de plantes ou de préparations botaniques qu'elles soient alimentaires ou topiques (**Wichtl et Anton, 2003**). Elle se caractérise par trois types de pratiques :

- ✓ Une pratique traditionnelle, parfois très ancienne, basée sur l'usage des plantes en fonction des vertus découvertes empiriquement.
- ✓ Une pratique fondée sur des avancées et des preuves scientifiques, à la recherche de principes actifs extraits des plantes.
- ✓ Une pratique de prophylaxie, déjà utilisée dans les temps anciens. Nous sommes tous phytothérapeutes sans le savoir : c'est particulièrement vrai en cuisine, avec de l'ail, du thym, du gingembre ou tout simplement du thé vert... Une alimentation équilibrée avec certains éléments actifs est une mesure préventive en phytothérapie (**Clément, 2005**).
- ✓ Il est important de ne pas confondre cette discipline avec la phytopharmacie qui désigne à elle seule toutes les substances utilisées pour traiter les plantes, c'est-à-dire les pesticides, les fongicides, les herbicides et même les insecticides (**Prescrire, 2007**).

I.1.2. Les plantes médicinales

D'après la X^{ème} édition de la pharmacopée française, les plantes médicinales sont des médicaments botaniques au sens de la Pharmacopée européenne, ayant au moins en partie une valeur médicinale (**Debuigne, 1974**). Les plantes médicinales sont utilisées pour leurs propriétés spécifiques à la santé humaine, en effet, elles sont utilisées de différentes manières, en décoction, en imprégnation et en infusion. Une ou plusieurs de leurs parties peuvent être utilisées : racine ; feuille, fleur (**Dutertre, 2011**). Elles jouent un rôle important dans le développement de médicaments pour la recherche pharmacologique, non seulement lorsque leurs composants sont utilisés directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matières premières pour la synthèse de médicaments ou comme modèles (**Iserin, 2001 ; Ameenah, 2006**).

I.1.3. Métabolites secondaires des plantes:

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en faibles quantités par les végétaux (**Lutge et coll., 2002**). Elles jouent un rôle

dans l'adaptation des plantes à leur environnement. Les métabolites secondaires peuvent être classés en trois groupes principaux : les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes. Chacune de ces classes contient une très grande variété de composés dont l'activité en biologie humaine est très variée (**Krief, 2003**).

I.1.3.1. Composés phénoliques

Les composés phénoliques ou poly phénols sont des produits du métabolisme secondaire des plantes (**Bahorun, 1997**). Ils sont présents dans toutes les parties des plantes supérieures (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollen, fruits, graines et bois) ; et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques, Exemples comprennent la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines et la maturation des fruits (**Boizot et Charpentier, 2006**). Différentes parties de la plante contiennent différentes quantités de poly phénols, selon l'espèce végétale et les composés phénoliques considérés (**Bamforth, 2000**). Les composés phénoliques sont caractérisés par la présence d'au moins un noyau benzénique auquel au moins un groupement hydroxyle libre est directement attaché, ou à une autre fonction, telle que : éther, ester, hétéroside, etc. (**Bruneton, 1999**). Les principales classes de constituants phénoliques sont : les acides phénoliques (acide caféique, acide hydroxycinnamique, acide chlorogénique), les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des poly phénols, les tanins et les coumarines (**Tapiro et al., 2002**).

➤ Les acides phénoliques

Le terme acide phénolique s'applique à tous les composés organiques ayant au moins une fonction carboxyle et un groupement hydroxyle phénolique. En phytochimie, ce nom est utilisé uniquement pour les dérivés des acides benzoïque et cinnamique (**Belyagoubi et Benhammou, 2011**). Les composés phénoliques ont une activité anti-inflammatoire, antiseptique et analgésique (aspirine dérivée de l'acide salicylique) (**Iserin, 2001**).

➤ Les Flavonoïdes

Terme en latin ; flavus = jaune. Ayant une structure de faible poids moléculaire (**Figure 01**). Ils peuvent être considérés parmi les agents responsables des couleurs des plantes à côté des chlorophylles et des caroténoïdes (**Wichtl et Anton, 2009**). Ils contribuent particulièrement au maintien d'une bonne circulation et au contrôle des processus de croissance.

Certains flavonoïdes ont aussi des effets anti-inflammatoires, antioxydants, antiviraux, antifongiques, spasmolytiques. (Grunwald et Janick, 2006; Iserin, 2001).

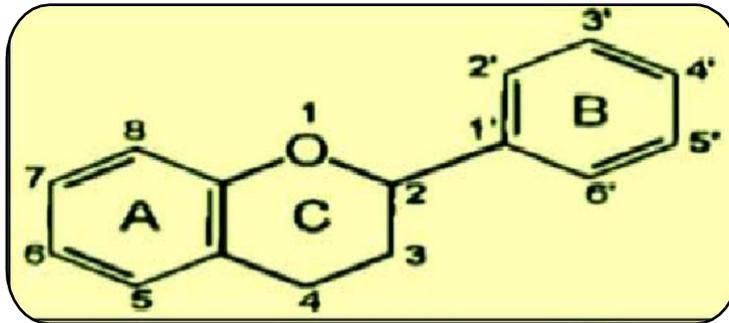


Figure 01: Structure moléculaire de base des flavonoïdes (benzo- α -pyrone) avec la numérotation classique (Colline et Crouzet, 2011).

➤ Les tanins

Les tanins sont des substances d'origine biologique qu'on trouve dans presque toutes les plantes et dans toutes les parties (écorce, racines, feuilles, etc.) (Michelin kan sole, 2009). Leurs poids moléculaire est de 500 à 4000 KD. Ils sont généralement en association avec des alcaloïdes, des polysaccharides et des protéines (Haung, 2009). Les deux principaux types de tanins sont chimiquement très différents ; les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Hygerman, 1988).

❖ Les tanins hydrolysables

Ils sont des polyesters d'un sucre (majoritairement le glucose) et d'un nombre variable de molécules d'acide phénolique qui sont considérées comme non- Flavonoïdes (Ellagitannins, Gallotannins) (Figure 02) (Delluc, 2004). Comme leur nom l'indique, ces tanins sont sujets à l'hydrolyse acido-basique et sont hydrolysés sous l'action des enzymes et de l'eau chaude (Conrad *et al.*, 1998), on distingue :

❖ **Tanins galliques (Gallotannins) :** qui produisent par l'hydrolyse des sucres et de l'acide gallique.

➤ **Tanins ellagiques (Ellagitannins) :** qui sont décomposés par des enzymes en sucre et en acide ellagiques (Paris et Hurabielle, 1981).

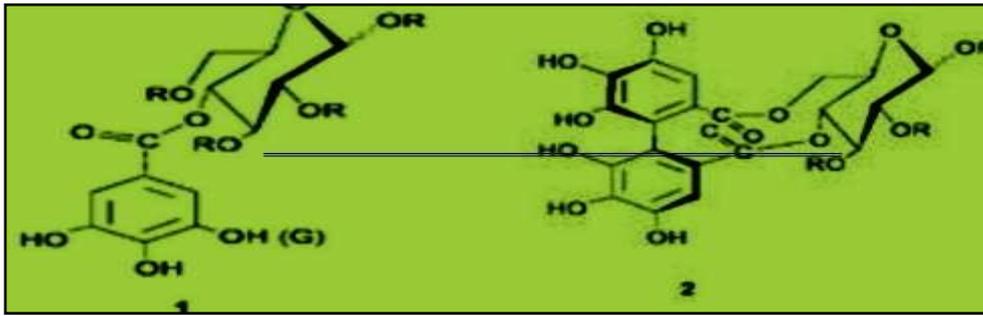


Figure 02: Structure chimique d'un tannin hydrolysables (Gallotannins (1), Ellagitannins (2)) (Khanbabaee et Ree, 2001).

❖ Les Tanins condensées

Les tanins condensés également appelés proanthocyanidines et sont synthétisés par l'intermédiaire de la voie biosynthétique des flavonoïdes. Ces molécules jouent un rôle dans la défense contre les herbivores (**Figure 03**). (Bogs *et al.*, 2005 ; Holderness *et al.*, 2008). Sont chimiquement définis comme étant des oligomères ou des polymères d'unités de flavonoïdes. Les plus importants sont les flavanediols 3,4 et le flavon-3-ol (catéchine) qui est l'unité de base de Tanins condensées (Bruneton, 1999 ; Schofield *et al.*, 2001).

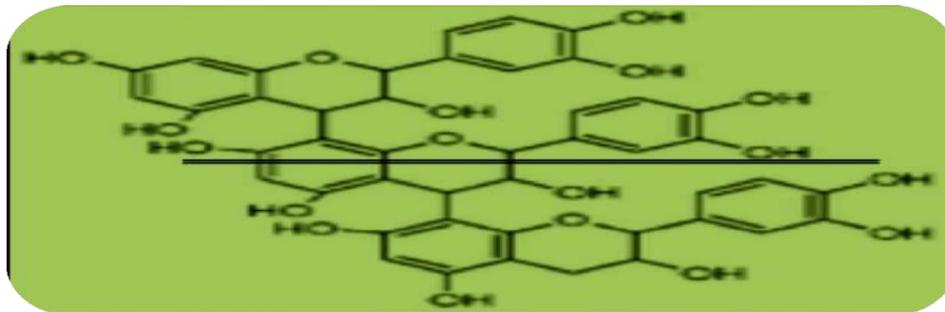


Figure03 : Structure générale des proanthocyanidines (Khanbabaee et Ree, 2001).

➤ Les coumarines

La coumarine est un composé phénolique non volatil que l'on trouve largement dans les plantes, en particulier dans les racines et l'écorce, et qui a une odeur agréable, certains sont utilisés pour aromatiser les épices ou le tabac, et certains sont très toxiques. Ce sont des dérivés du phénylpropane dont le précurseur est l'acide hydroxy cinnamique (Dutta-roy, 1999).

I.1.3.2. Les saponosides

Les saponosides sont des métabolites secondaires hétérosides présents dans de nombreuses plantes (Iserin, 2001 ; Çolak *et al.*, 2009). Ce sont des glycosides de haut poids moléculaire qui regroupent un ensemble complexe et chimiquement diversifié de molécules de triterpénoïdes ou de stéroïdes (Wallace, 2004). Les saponines existent sous deux formes,

les stéroïdes et les terpénoïdes. La structure chimique des stéroïdes est similaire à celle de nombreuses hormones humaines, tandis que les saponines terpénoïdes ont une activité hormonale moindre, mais elles ont souvent des propriétés expectorantes et favorisant la digestion, comme la glycyrrhizine dans la réglisse (**Grunwald et Janick, 2006 ; Iserin, 2001**).

I.1.3.3. Les alcaloïdes

Ce sont des substances organiques azotées d'origine végétale, aux structures alcalines et complexes (noyaux hétérocycliques), présentes dans plusieurs familles de plantes, la plupart des alcaloïdes sont solubles dans l'eau et l'alcool. Ils ont un goût amer, et certains sont toxiques (**Wichtl et Anton, 2009**). Certains alcaloïdes sont utilisés comme défense contre les infections microbiennes (nicotine, caféine, morphine, lupin) et comme médicaments anticancéreux (**Iserin, 2001**).

I.1.3.4. Les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des substances huileuses, volatiles, odorantes et savoureuses, extraites de certaines plantes aromatiques, par distillation, enfleurage, pressage, solvant ou autres méthodes (**Belaiche, 1979 ; Valnet, 1984 ; Wichtel et Anton, 1999**). Elles se trouvent presque exclusivement dans les plantes, où elles peuvent être stockées dans tous les organes (fleurs, feuilles, fruits, tiges, rimes et racines, graines, bois et écorce) (**Teixeira et al., 2013**). Les huiles essentielles sont principalement constituées de deux groupes distincts de composés odorants, selon la voie métabolique utilisée, les terpénoïdes d'une part, et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane, d'autre part (**Bruneton, 1993**). Les plantes aromatiques utilisent les huiles essentielles pour se protéger des virus, certains pensent qu'il s'agit d'une phytohormone, mais d'autres pensent que les huiles essentielles sont des messagers entre parasites et microbes (**Willem, 2009**). Leurs applications sont dans les inhalants, les lotions et les savons. Ils peuvent également être utilisés pour l'activité conservatrice et antimicrobienne. Les onguents, crèmes et gels à base d'huiles essentielles sont conçus pour soulager les entorses, les douleurs et les irritations articulaires ou musculaires et ils sont utilisés par voie topique (**Mapola, 2003**).

Chapitre II :

Présentation de la famille des *astéracées*

II.1.Étymologie et caractéristiques de la famille des Astéracées

Le nom *Astéracées*(*Asteraceae*) vient du mot grec Aster qui signifie étoile en relation avec la forme de la fleur (Crete, 1965). Aussi connue sous le nom de *Compositae*, elle est la plus grande famille de plantes à fleurs, qui est une famille internationale, principalement distribué dans les régions tempérées, subtropical ou tropical, généralement en montagne (Cronquist, 2001 et Singh, 2004).

Astéracées est une famille des dicotylédones comprennent plus de 1500 genres et plus de 25000 espèces décrites, y compris 750 endémiques, elle est l'une des plus importantes familles d'angiospermes. Les plantes de cette famille sont presque toujours des herbes aux racines succulentes : rhizomes, tubercules ou racines pivotantes (Harkati, 2011). Bien que tous les types biologiques soient présents dans les composites : arbres, lianes, arbustes, succulentes, épiphytes, plantes aquatiques, etc. La plupart des espèces sont principalement des herbacées vivaces ou annuelles (Bremer *et al.*, 1994).

II.2.Répartition géographique de la famille des Astéracées

La famille des *Astéracées* est une famille cosmopolite, elle est répartie sur tous les continents sauf l'Antarctique (Figure 04) (Azzouzi ,2016).La distribution géographique des *Astéracées* montre une structuration cohérente avec saphylogénie. Les premières lignées divergentes sont sud-américaines .De manière concomitante à une modification d'organisation chromosomique, des lignées ont colonisé l'Amérique du Nord, l'Australie et la Nouvelle-Zélande, l'Asie, l'Afrique du Nord et la Méditerranée, ainsi que l'Afrique subsaharienne (Chauvet, 2019).Dans la sous-famille des *Carduoideae*, une tribu, les *Cardueae*, a colonisé l'Eurasie et l'Europe ; dans la sous-famille des *Cichorioideae* deux tribus (*Gundelieae* et *Cichorieae*) ont colonisé l'Afrique du Nord et la Méditerranée et une autre tribu, les *Liabeae*, ont recolonisé l'Afrique du Sud. De plus, au sein des *Asteroideae*, l'essentiel du clade de « *Heliantheae alliance* », aurait recolonisé l'Amérique du Nord et le Mexique. (Figure 05)(Chauvet, 2019).



Figure 04: Répartition géographique mondiale des Astéracées (Belabbes, 2014).

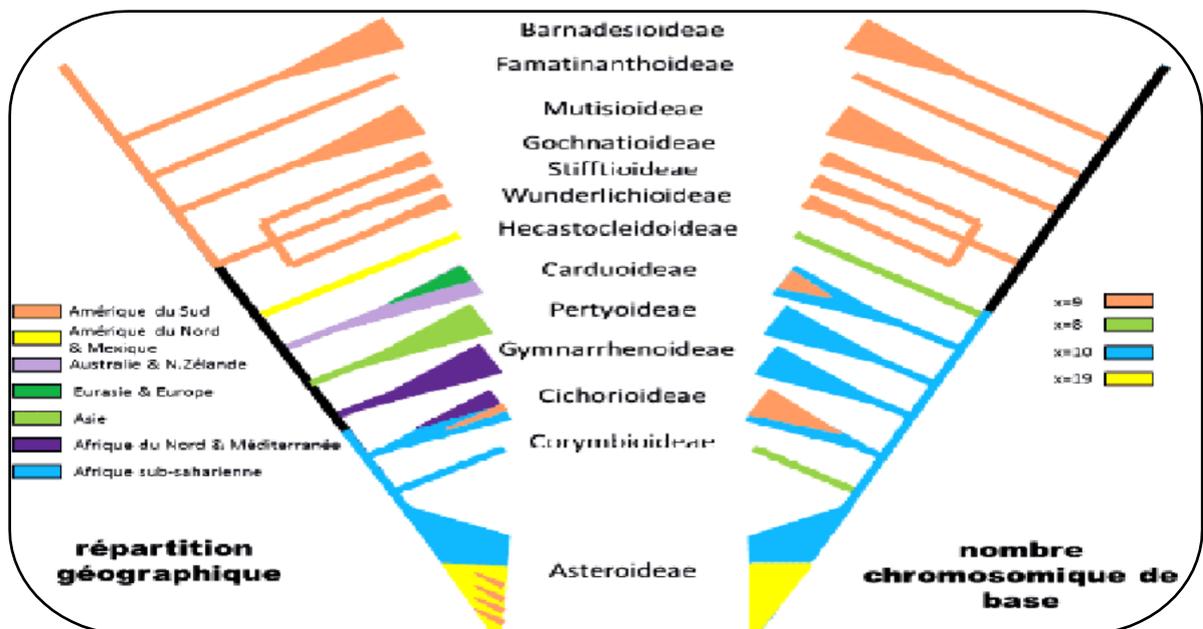


Figure 05: Évolution de la répartition géographique des *Asteraceae* (à gauche) et du nombre chromosomique de base (à droite) (Semple et Watanabe, 2009).

II.3. Caractères écologiques de la famille des *Astéracées*

La famille des *Astéracées* est généralement présente dans les régions tropicales, subtropicales et semi-arides, à la toundra alpine et arctique et aux régions tempérées. Comme la montre (**Figure 06**). Les plantes de la famille des *Astéracées* .Sont adaptées à tous les écosystèmes. Elles sont retrouvées sur les pelouses rocailleuses, sur les vires rocheuses, et dans les prairies de fauche (plus rarement). Pour l'altitude, elle préfère les massifs calcaires de Haute altitude (**Bermer, 1994**).Elles peuvent se présenter comme un hôte pour les virusvégétaux (**Bermer, 1994**).

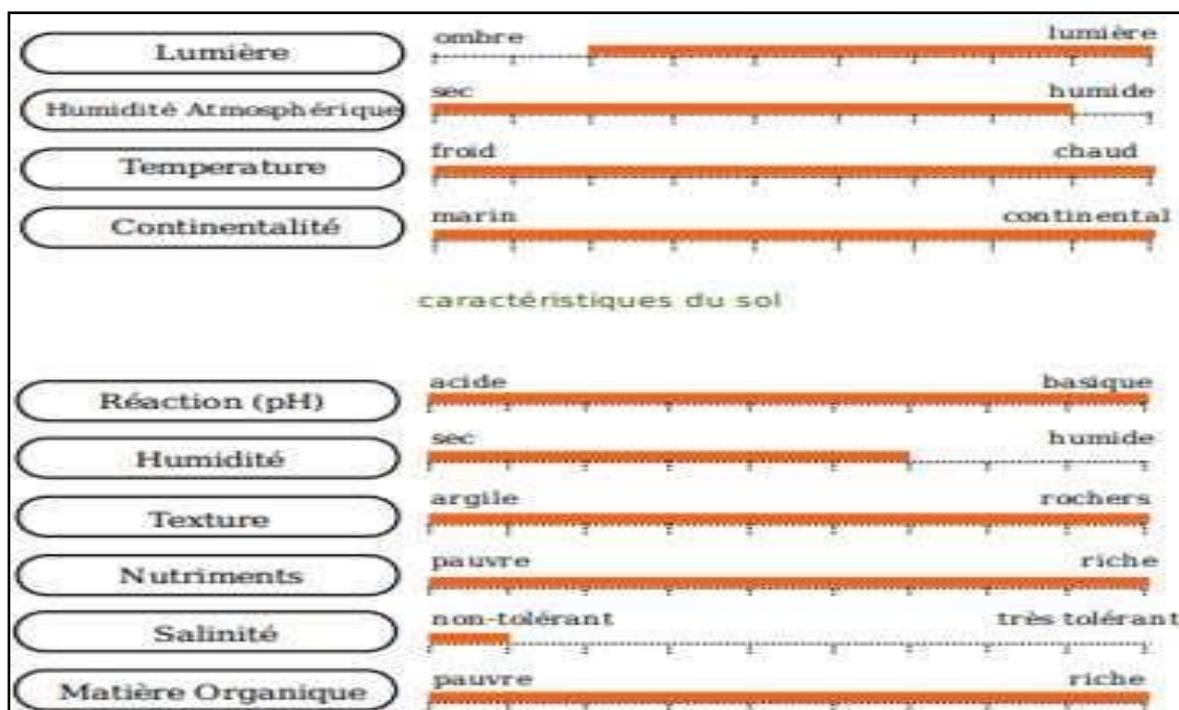


Figure 06 : Caractéristiques du climat et du sol de famille des *Astéracées* (**Tela Botanica, 2020**).

II.4. Description botanique de la famille des *Astéracées*

Les *Astéracées* ont la caractéristique commune d'avoir des fleurs réunies en capitules c'est-à-dire serrées les unes à côté des autres, sans pédoncules placés sur l'extrémité d'un rameau ou d'une tige ou entourées d'une structure formée par des bractées florales. Cette structure est en la forme de coupe ou de collerette est appelé un involucre (**Barkely et al., 2006**).

Les fleurs de la famille des *Astéracées* sont particulières : les étamines sont soudées entre elles par les anthères fendues vers l'intérieur. Sous le stigmate se trouve le "pinceau à pollen". C'est Adapté au schéma de pollinisation "piston". La croissance rapide des styles rend

pollen brossé et collecté. Une fois la stigmatisation passée pour les anthères, les stigmates se déploient et exposent leurs faces collantes au pollen. Il est nécessaire. Compte tenu de ce temps, le nectar est sécrété (Barkely *et al.*, 2006).

Les inflorescences sont généralement des fleurs tubulaires et/ou ligulées sessiles compactes, dessous s'étend des bractées involucre les disposées en une à plusieurs rangées (Figure 07). Bractée peut être herbacée, sec ou épineux. Sur les contenants, les bractéoles, si elles sont actuellement, il peut se présenter sous forme d'écaillés, de poils ou d'écaillés. Les initiales sont généralement entourées à la base de 1 à 6 colonnes de bractées, qui forment ensemble l'involucre (Barkely *et al.*, 2006).

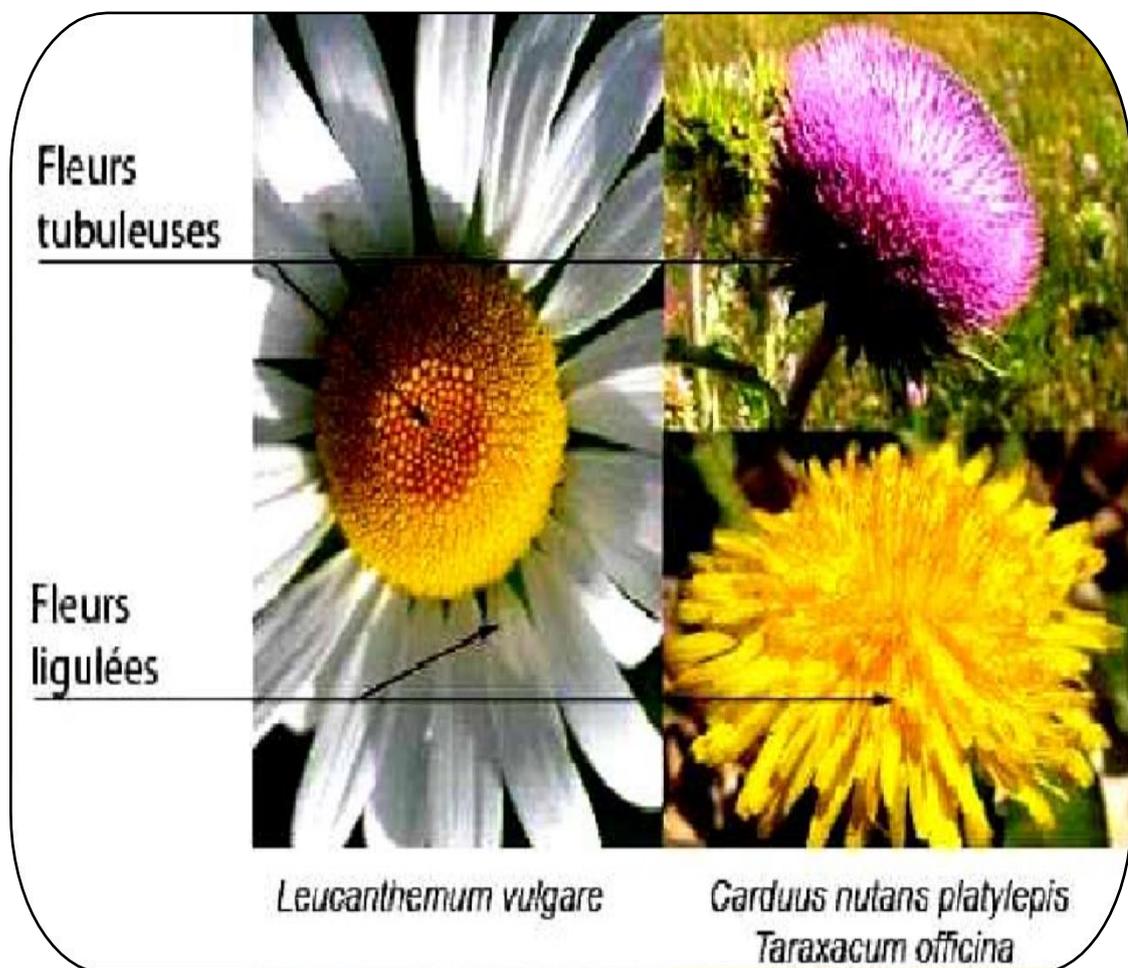


Figure 07 : Types de fleurs des *Astéracées* (Boutaghane, 2013).

Les fruits sont des akènes, souvent couronnés d'une aigrette de soies appelée Pappus qui favorise la dispersion des graines par le vent (**Figure08**) (Usher, 1996).

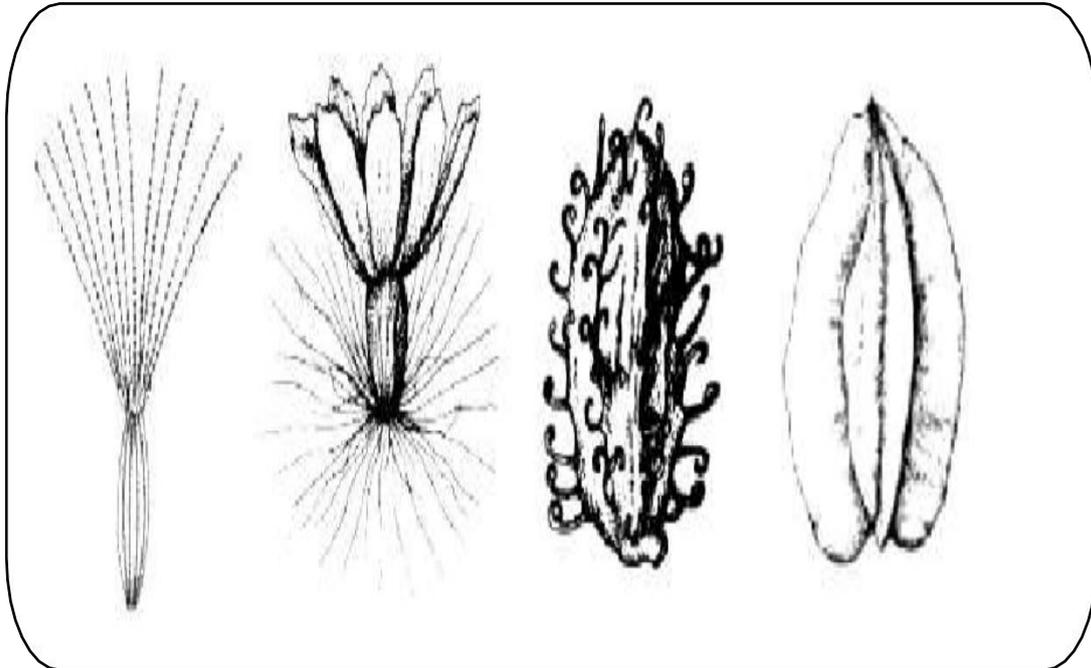


Figure 08: Type de fruits de la Famille des *Astéracées* (Messai, 2011).

Les feuilles sont le plus souvent alternes. Elles peuvent aussi être opposées ou réunies en rosette principale (Pâquerette) (Usher, 1996).

II.5. position systématique de la famille des *Astéracées*

Tableau I : La classification classique (Mezache, 2010).

Règne: *Plantae*

- **Sous-règne:** Tracheobionta (Plantes vasculaires)

Embranchement: Phanerogamae (Phanérogames)

- **Sous-embranchement:** Magnoliophytina (Angiospermes)

Classe: Magnoliopsida (Dicotyledones)

- **Sous-classe:** Asteridae

Ordre: Asterales

- **Famille:** *Astéracées* (*Composées*)

Les *Astéracées* sont la plus importante famille de plantes à fleurs en Algérie. Cette famille est la plus nombreuse de notre territoire, puisqu'elle contient 408 espèces, réparties en 109 genres, répartis en deux sous-familles (Quézel et Santa, 1963).

- **Tubuliflores** : Capitules comportant (ligules à 3 dents) comprend 6 groupes, plus de sa répartition à 82 genres et 299 espèces.
- **Liguliformes** : Capitules ne comportant pas (ligules à 5 dents). Comporte 27 genres et 109 espèces.

II. 6. Utilisations et intérêts économiques des *Astéracées*

Cette grande famille est économiquement importante et fournit des plantes comestibles : la laitue est la plante la plus cultivée de cette famille, suivie par l'artichaut, le salsifis, l'endive, l'estragon et le tournesol. De nombreuses autres espèces ont des utilisations ornementales, telles que les marguerites, les dahlias, les zinnias, les cosmos, les chrysanthèmes et les asters. Plusieurs espèces sont utilisées en pharmacie : Arnica (*Arnica montana* L), Camomille (*Matricaria chamomilla* L et *Anthemis nobilis* L), Patte de chat (*Antenaria djioca* Gartn), Tussilage (*Tussilago farfara* L) (**Gausson et Leroy, 1982**). Il existe également certaines substances répulsives chez *Anthemis*, *Chrysanthemum Matricaria*, etc... (Pyréthrine, qui ont servi de base à la synthèse d'insecticides non toxiques pour les homéothermes), et de l'inuline (polymère de fructose), utilisés notamment pour l'industrie alimentaire et la médecine, extraits de *Cichorium intybus*. D'*Helianthus tuberosus* (**Suzanne, 2002**).

III. 1. Présentation de la plante *Calendula arvensis* L

Calendula arvensis L est une plante de la famille *Asteraceae* et du genre qui signifie en latin « *Calendes* » car chez les Romains le premier jour du mois fleurit sur tous les calendriers. En Algérie, le genre *Calendula* est représenté par huit espèces et près de vingt-six variétés et sous-espèces (Quezel et Santa. 1963).

Les espèces les plus connues sont mentionnés dans le **tableau I (annexe1)**.

La plante *C.arvensis* L (**Figure 09**) est une plante méditerranéenne, fleurit toute l'année son nom vernaculaire arabe est **Djemra** et en Berbère, **Azouiout** (Petrović, 2010).



Figure 09: la plante *Calendula arvensis* (souci des champs).

III.1.1. Description botanique

C. arvensis L ou souci des champs est une plante annuelle herbacée de 30 à 50 cm d'hauteur, la tige dressée et ramifiée, les feuilles sont alternées, oblongues lâchement dentées ou entières, les fleurs jaunes ou oranges vifs, simples ou pleines pouvant atteindre 5 à 6 cm de diamètre, les akènes extérieurs arqués, épineux sur le dos les intérieurs roulés en anneau, lisses ou épineux. Capitules assez grands, solitaires, terminant les rameaux (Petrović, 2010).

III.1.2. Classification

La position taxonomique de *Calendula arvensis* L est donnée dans le (**tableau 02**) selon Quezel et Santa. (1963).

Tableau II: Position taxonomique de *C. arvensis* L

Règne	plantae
Embranchement	Spermatophytes
Sous-embranchement	Dicotyledones
Famille	Asteraceae
Genre	<i>Calendula</i>
Espèces	<i>Calendula arvensis</i> L

III.1.3. Distribution géographique

Calendula arvensis L se trouve couramment partout dans le monde. Elle est originaire de la région méditerranéenne (Belabbes, 2014). Il est très populaire en Europe centrale et méridionale, en Afrique du Nord et en Asie du Sud-ouest (Petrović, 2010). La Répartition de la *C. Arvensis* L dans le monde (figure 10).



Figure10: Répartition de la *C. Arvensis* L dans le monde (Petrović, 2010).

III.1.4. Ecologie et répartition

C'est une plante qui pousse dans les champs, les routes, les jardins abandonnés le calcaire facilite son développement. (Belabbes, 2018). Les caractéristiques du climat et du sol de *Calendula arvensis* sont mentionnées dans la figure 11.

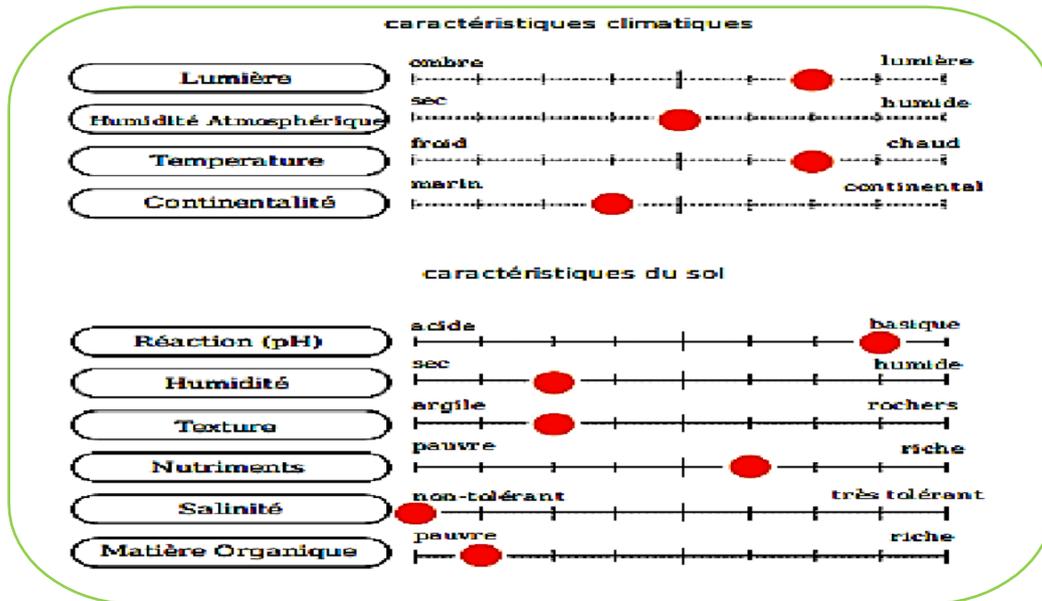


Figure 11 : Caractéristiques du climat et du sol de *Calendula arvensis* (Tela Botanica, 2020).

III.1.5. Composés secondaires isolés à partir de la plante

Depuis 1971, des études phytochimiques du genre *Calendula* ont été menées, avec seulement deux espèces, *Calendula officinalis* L et *Calendula arvensis* L les travaux ont conduit à l'identification des principaux métabolites secondaires présents dans le genre qui sont principalement des terpénoïdes, des saponines et tri terpènes suivi des sesquiterpènes et caroténoïdes, en parallèle un bon nombre de flavonoïdes et d'acides phénoliques a été isolé (Lehbili, 2018). Les résultats de screening phytochimique des fleurs de *Calendula arvensis* L réalisé par Abudunia en(2018), ont montré la présence dominante des anthocyanes. D'autres composés chimiques sont aussi présents avec des petites concentrations, comme les substances polyphénoliques (flavonoïdes, tanins). Par contre une absence totale des alcaloïdes, stéroïdes et terpène son été observé.

III.1.5.1. Les polyphénols

Les « polyphénols » ou « composés phénoliques » regroupent une vaste ensemble de plus de 8000 molécules, Ils sont largement distribués dans la règne végétale, divisées en une dizaine de classes chimiques, qui ont un point commun à savoir la présence dans leur structure au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH) (libres ou bien engagés dans une autre fonction éther, ester). Les représentants les plus nombreux (plus de 5000 molécules isolées) et les plus connus sont les « flavonoïdes », ils comprennent aussi les acides phénoliques, les stilbènes, les tanins

hydrolysables et condensés, les coumarines, les lignanes etc. (Hennebelle *et al.*, 2004). Les polyphénols sont des métabolites secondaires des plantes ayant une activité antioxydante, anti-inflammatoire et antimicrobienne...etc. (Bouakaz, 2006 ; Kwon *et al.*, 2007).

III.1.5.1.1. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes caractérisés dans ce genre sont ensemble immédiatement flavonols et leurs dérivés Glycosylés. Ils ont été isolés majoritairement parmi *Calendula officinalis* (Figure 12) (Yoshikawa *et al.*, 2001 ; Ukiya *et al.*, 2006). Les composés présentés ici bas ont été obtenus par *Calendula arvensis* L et avec *Calendula officinalis* L (Asolkar *et al.*, 1992).

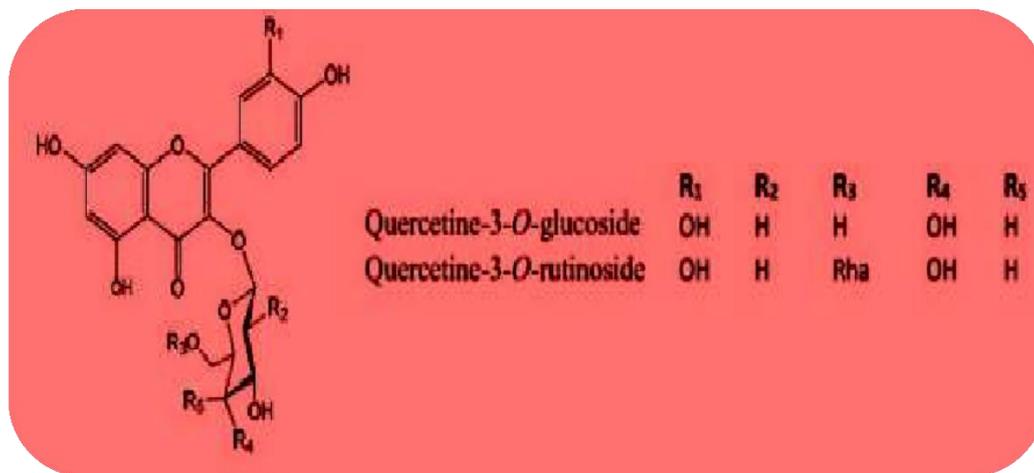


Figure 12 : Les flavonoïdes isolés de la plante *Calendula arvensis* (Quercetine-3-Rutinoside) et de *Calendula officinalis* (Quercetine-3-O-glucoside) (Lehbili, 2018).

III.1.5.1.1.2. Les tanins

Dans les investigations phytochimiques immédiatement chercheurs, les tanins isolés par *Calendula officinalis* sont catéchol et pyrogallol (Figure 13) (Kritli, 2011).

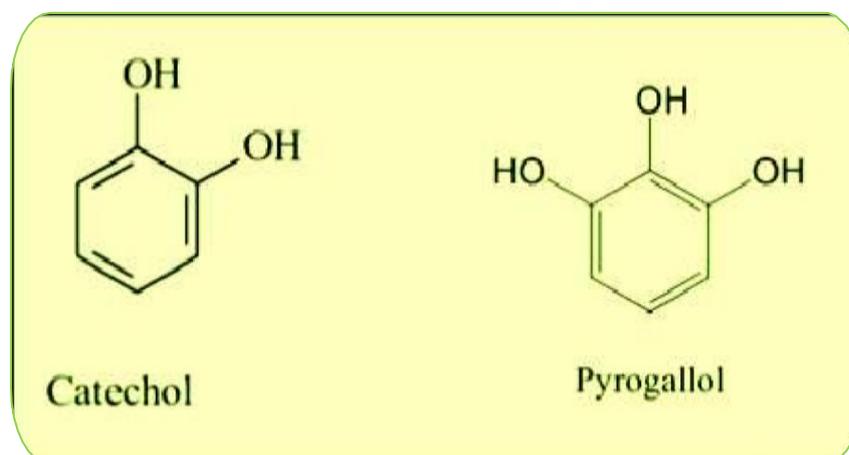


Figure 13: Les tanins isolés de l'espèce *Calendula officinalis* (Kritli, 2011).

III.1.5.1.1.3. Les acides phénoliques

Une caractérisation sur des plaques CCM ; obtenus à partir des différents extraits des fleurs de *Calendula officinalis* a permis d'identifier quatre acides phénoliques : l'acide Chlorogénique, l'acide caféique, l'acide coumarique et l'acide vanillique (**Figure14**) (**Ćetković et al., 2003**).

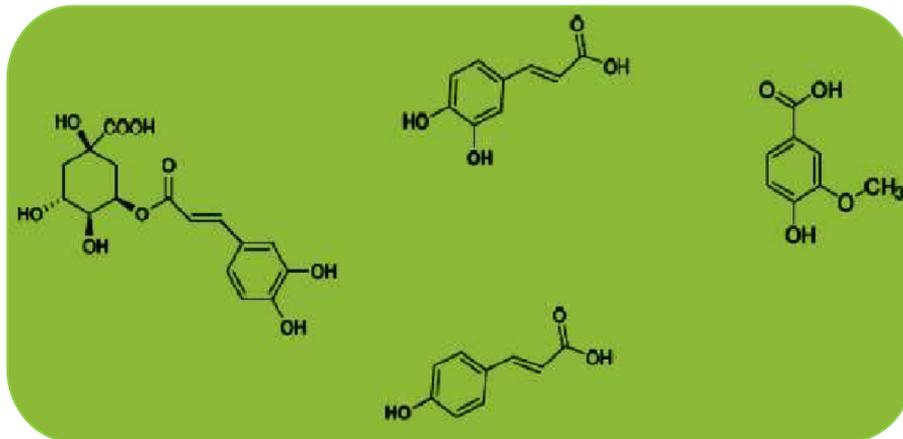


Figure 14: Exemples des acides phénoliques identifiés dans l'espèce *Calendula officinalis* (**Ćetković et al., 2003**).

III.1.5.2. Les terpénoïdes

Ce sont une démesuré école sous composés naturels avoisinant si 15000 à molécules différentes et sur allure volontiers lipophiles et quel possèdent une hiérarchie molaire construit d quelque monomère entre 5 carbones susnommé isoprène; ils ont chacun affaibli chargement molaire, volatiles (**Abbas et Miloudi, 2016**). Ces molécules présentent en forme des huiles essentielles, parfums et goût des plantes, pigments (carotène) ; des Conservateurs...etc. Conformément la différence sous vers d communautés si soutien isoprène, parmi les composés monoterpènes, sesquiterpènes, diterpènes, triterpènes... etc (**Hopkins, 2003**).

III.1.5.2.1. Les huiles essentielles

Les capitules du souci contiennent l'huile essentielle (HE) La teneur en ligules est inférieure à celle du capitule ; elle atteint son maximum en pleine floraison, avant de décroître significativement (0,13 % au lieu de 0,4 % à 0,97%). L'HE contient incontinent dérivésmonoterpéniques et sesquiterpéniques oxygénés cadinol et dérivés (**Muley et al., 2009**). Les HE immédiatement soucis corses ont avant-deux étudiés pendant 2010 durant l'équipe pendant **Paolini et al. (2010)**, révélant deux grandes classes de composés déterminés

par la quantité des composés sesquiterpéniques (hydrocarbures et alcools) et les Caractéristiques du sol. Avec Turquie pendant 2012, un groupe de recherche a étudié l'HE de *Calendula arvensis* L et a découvert que la plupart des composés étaient du sélénène (16,0%), β -pinène (12,3%), (Z)- α -santalol (8,2%), δ -amorphène (8,0%) et (Z) sesquilavandulol (4,8%) (Figure 15).

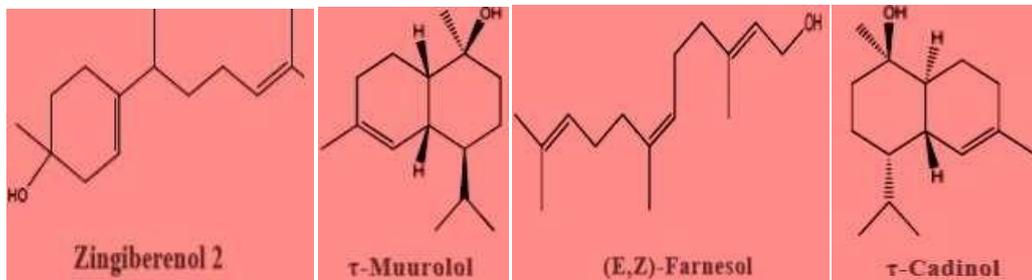


Figure 15 : Les composés majoritaires des HE de *Calendula arvensis* (Belabbes, 2014).

III.1.5.2.2. Les saponines

Une vingtaine par saponines de canicule isolée pendant *Calendula officinalis* et *Calendula arvensis* L, toutes ces saponines sont des glycosides de l'acide oléanolique avec comme partie osidique : le glucose, le galactose et l'acide glucuronique. Seulement, quatre saponines ont une génine différente. Deuxième enchainements sont retrouvés dans ces saponosides, selon le premier sucre lié directement à la génine en C-3 soit un glucose ou un acide glucuronique (Figure16) (Lehbili, 2018).

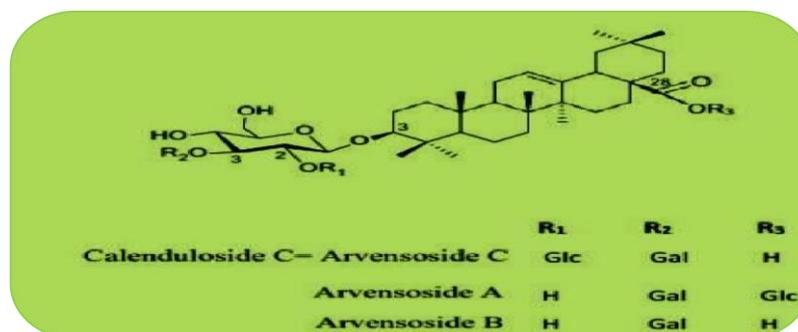


Figure 16 : Structure chimique de quelques saponines isolées de *Calendula arvensis* (Lehbili, 2018).

III.1.5.2.3. Les sesquiterpènes

Quatre glycosides sesquiterpènes ont été isolés à partir des parties aériennes de *Calendula arvensis* L (Figure17) (Pizza *et al*, 1988), qui sont l'arvoside B et ses dérivés, dont la partie génine est un rare- alloaromadendro le avec le β -fucopyranosyle comme partie osidique. Une étude récente a permis de mettre en évidence la présence de quinze sesquiterpènes glycolysés (D'ambrosio *et al*, 2015). Parmi ces composés, deux ont été

caractérisés dans le *Calendula arvensis* L (Pizza *et al.*, 1988). Il s'agit d'arvoside B et accord dérivation (2 méthylbutyl). Une étude récente a révélé la présence de quinze sesquiterpènes glycolytiques (D'ambrosio *et al.*, 2015). (Pizza *et al.*, 1988).

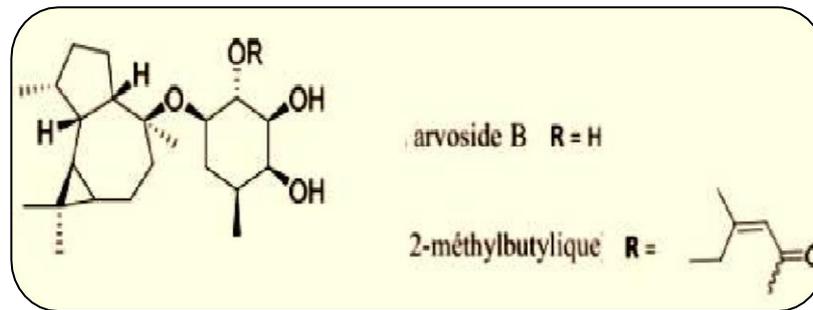


Figure 17 : Structure chimique de quelques sesquiterpènes identifiés dans *Calendula arvensis* L (Yoshikawa *et al.*, 2001).

III.1.5.2.4. Les triterpènes

Les études phytochimiques depuis fleurs avec *Calendula officinalis* L ont mis en évidence la présence de triterpènes pentacycliques.

➤ **Des dérivés de ψ -taraxastane :** le ψ -taraxasterol, faradiol, heliantriol et heliantriol (Figure 18).

➤ **Type Taraxastane:** taraxasterol, arnidol, heliantriol B.

➤ **Type lupane:** lupeol, calenduladiol, heliantriol B2 (Silwowski *et al.*, 1973 ; Wilkomirski *et al.*, 1979 ; Yoshikawa *et al.*, 2001).

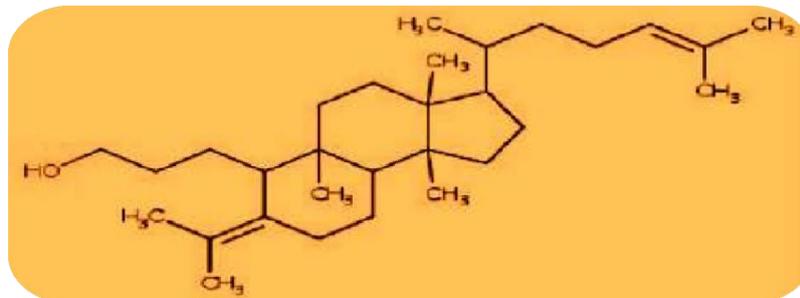


Figure 18: Structure chimique de l'hélianol, (un alcool triterpénique extrait par le méthanol) de fleurs de *Calendula*. (Akihisa *et al.*, 1996).

a) Les caroténoïdes

Une dissertation de HPLC a permis d'identifier seize caroténoïdes dans les feuilles, pétales et pollens de *Calendula officinalis* et *Calendula arvensis*.

À les pétales et les pollens, les principaux caroténoïdes sont flavoxanthin et auroxanthin tandis que la tige et les feuilles contenaient principalement de la lutéine et β -carotène (Figure 19) (Bako *et al.*, 2002).

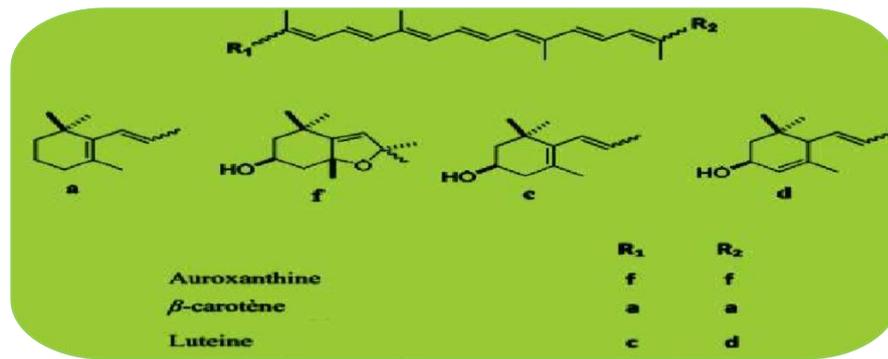


Figure 19: Structure générale des caroténoïdes déterminés par HPLC (Bako *et al.*, 2002).

III.1.1.5.3. Les anthocyanes

Les anthocyanes sont des molécules qui appartiennent à la famille des flavonoïdes. Sont des pigments colorés responsables de la pigmentation des fleurs, des fruits et des grains lequel donnent des couleurs très variées : bleu, rouge, mauve, rose ou orange. (Samouelian *et al.*, 2009). Ces molécules présentent comme les flavonoïdes un squelette de base en C₁₅ formé de deux cycles A et B liés par un hétérocycle (cycle C), chargé positivement, cette charge est due à leur structure de base commune : le cation flavylum ou 2-phenyl-1-benzopyriliium (Cooke *et al.*, 2005). Les anthocyanes sont solubles et s'accumulent dans les vacuoles des Cellules de l'épiderme des feuilles et au niveau de la pellicule des fruits (Figure 20). Les trois principaux anthocyanes sont :

- **La pélagonidine** : possédant un OH en 4' et engendrant une couleur rouge-orange,
- **La cyanidine** : possédant deux OH en 3', 4' ou en 4', 5' et engendrant une couleur rouge magenta
- **La delphinidine** : possédant trois OH en 3', 4', 5' et engendrant une couleur mauve.

(Dahmani, 2018)

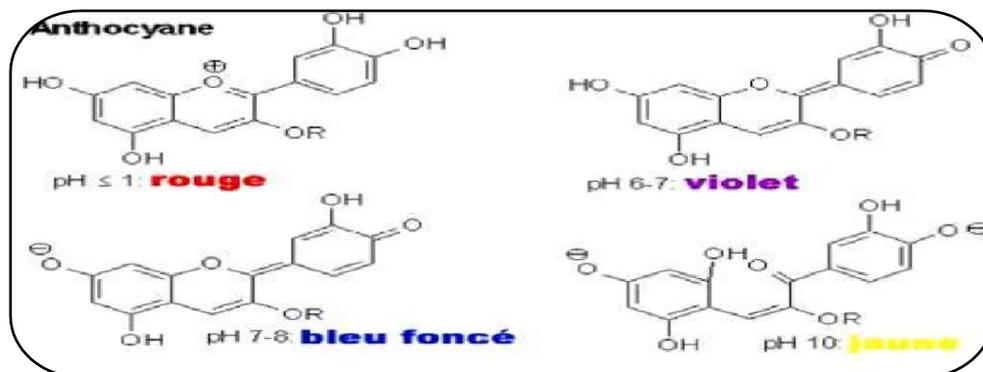


Figure 20: Structure de base des anthocyanes (Cooke *et al.*, 2005).

Le type exact d'anthocyanane présent dans cette espèce n'est pas déterminé dans les littératures.

III.1.5.1.4 Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances organiques azotés d'origine végétale et quel sont dérivés des acides aminés ; à caractère alcalin, toxiques et parfois à faibles doses et qui ont des effets thérapeutiques connues (**Sebai et al., 2012**). Il existe triple classes d'alcaloïdes : (selon que : l'atome d'azote est intégré ou non dans l'hétérocycle, et selon le précurseur des alcaloïdes).

- **Les vrais alcaloïdes** : sont bio synthétisés à partir des acides aminés et l'atome d'azote est incluse dans l'hétérocycle.
- **Les Pseudo-alcaloïdes** : représentent les mêmes caractéristiques que les vrais alcaloïdes, mais ne sont pas dérivés des acides aminés.
- **Les Proto-alcaloïdes** : l'atome d'azote n'est pas incluse dans l'hétérocycle et ils ne sont pas synthétisés à partir des acides aminés (**Bruneton, 1999**).

Des travaux effectués ou ce genre montrent l'absence totale des alcaloïdes.

Des nombreuses études menées sur cette espèce, ont démontré que les alcaloïdes sont inexistantes dans la plante *Calendula arvensis* L.

III.1.6. Domaines d'application et intérêt en phytothérapie

Calendula arvensis L est considéré comme une plante médicinale, ses fleurs sont un effet purifiant, antispasmodique et stimulant, sa tisane peut réduire les crampes d'estomac et des intestins ; quant aux feuilles, leur sève soulage les vomissements et l'ulcères internes, ils servent aussi à se débarrasser des verrues, callosités et cors, elles sont actuellement utilisées en phytothérapie. Différentes préparations sont disponibles sur les marchés tels que des onguents pour bébés, des huiles de massage, des crèmes et des savons protecteurs (**Khalid et al., 2010**).

III.1.7. Les activités biologiques de l'espèce *Calendula arvensis*

Calendula arvensis L est une espèce aux propriétés très biologiques et médicinales. Importants tels que caractérisent par une Activité antioxydante, antibactérienne, anti-inflammatoire, antidiabétique (**Abudunia, 2018**). Aussi il existe d'autres activités de cette espèce qui sont : Anti tumoral (**Jimenez-Medina, 2006**), Immun-modulateur (**Amirghofran, 2000**), Anti-VIH (**Kalvatchev, 1997**).

III. 2. Présentation de la plante *Pulicaria odora* L

Pulicaria odora L Appartient à la tribu Inuleae de la famille des *Astéraceae*, du genre *Pulicaria* qui compte environ 100 espèces réparties en Europe, au nord d'Afrique, d'Asie et plus particulièrement

autour de la méditerranée (Matieu Tene, 2004).

En Algérie, le genre *Pulicaria* est représenté par 16 espèces dont quatre sont situées au Sahara. Les espèces de *Pulicaria* ont été utilisées en médecine populaire comme insectifuges, galactagogues, antiépileptiques, ainsi que pour le traitement du rhume, de la toux, des coliques, de la transpiration excessive et du carminatif (Boumaraf *et al.*, 2016).

III.2.1. Description botanique

Pulicaria odora L. est une plante vivace de 30 à 60 cm de haut, poilue ou tomenteuse. Elle a une tige dressée, simple, ou ramifiée sur sa moitié supérieure. Tige souterraine élargie en nodules recouverts de feuilles écailleuses, Il a un gros capitule (15-25 mm) long manche, solitaire au sommet des tiges, la floraison des plantes a lieu tous les mois de juin à août ; pollinisé par les insectes (ou auto-élevé) ; dispersé par le vent (Rameau *et al.*, 2008 ; Roubaudi, 2011).



Figure 21 : plante *Pulicaria odora* L (photo personnel).

III.2.2. Classification

Tableau III: Classification de *Pulicaria odora* L (Lavagne, 2006).

Règne	Plantae
Division	Spermatophyta
Sous-division	Angiospermes
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Asterales
Famille	Asteraceae
Genre	<i>Pulicaria</i>
Espèces	<i>Pulicaria odora</i>

III.2.3. Distribution géographique de *Pulicaria odora* L

Pulicaria odora L est présent en Espagne, au Portugal, en Italie et en Afrique du Nord. Plusieurs désignations sont faites à cette espèce, qui est reportées d'une région à l'autre ; *Inula odora*, Herbe vergerette, Montana (**Gonzalez-romero et al., 2000**) et Amezough eggillef pour la population locale.

III.2.4. Ecologie et répartition

Pulicaria odora L pousse dans les climats chauds proches de l'océan, elle a besoin de plus ou moins de lumière, pousse dans des sols plus ou moins secs, à texture proche de l'argile, riche en nutriments, pauvre en matière organique, intolérant à la salinité, pH proche de l'alcalin (**Lavagne, 2006**). Les différentes caractéristiques sont indiquées dans la (figure 21).

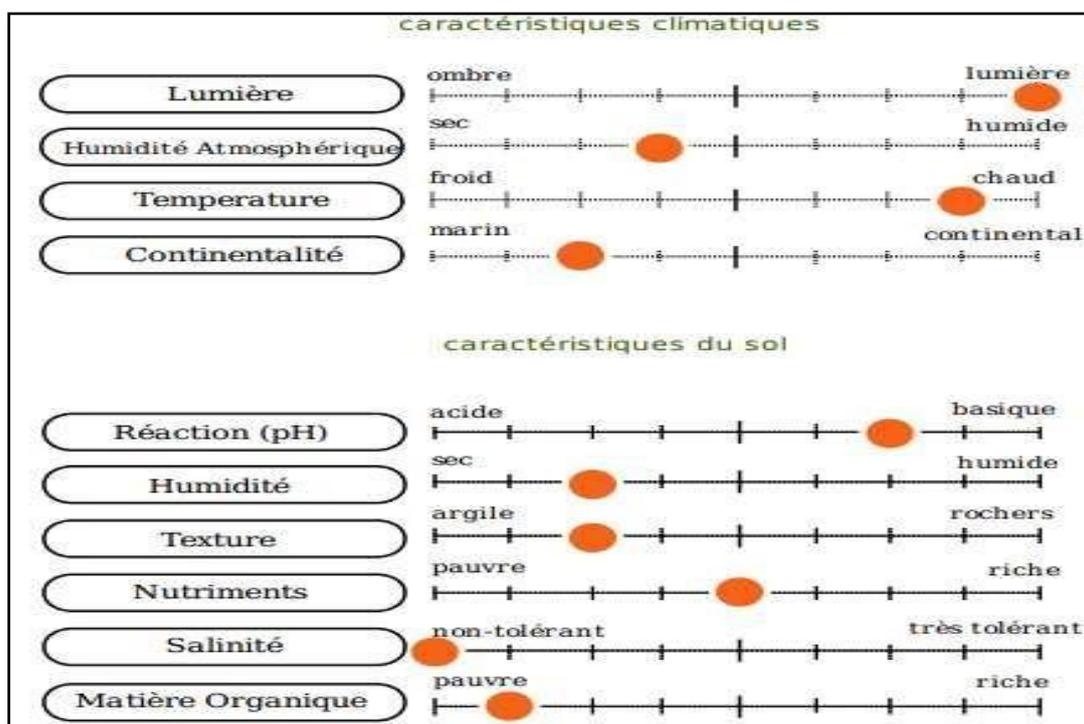


Figure 22 : Caractéristiques du climat et du sol de *pulicaria odora* L (**Lavagne, 2006**).

III.2.5. Composés secondaires isolés à partir de la plante

De nombreuses recherches ont été menées sur les différentes espèces du genre *Pulicaria* pour évaluer surtout la composition de leurs huiles essentielles. Cependant, peu d'études ont été menées sur *Pulicaria odora* L.

III.2.5.1. Flavonoïdes

Une étude réalisée par **Williams et al. (2003)**, sur quatre espèces du genre *Pulicaria*, a montré que *Pulicaria odora* L est différente des autres espèces grâce à la production d'une série de

dérivés du 6-hydroxy-kaempférol méthyl, et le 3,7,4' triméthyl 6-hydroxy-kaempférol éther comme flavonoïdes majeurs des feuilles. et d'un autre nouveau composé complètement méthylé, Éther 3,5,6,7,4'-pentaméthylé. Aussi, parmi les espèces étudiées, seule *Pulicaria odora* L. produit le 7- Glucoside, patulétine (quercétine 6-méthyl éther) et le 6-hydroxy-kaempférol méthyl éther tandis que les dérivés de la quercetagine et la quercétine 3-glucuronide ont été détectées à l'état de traces. (Williams *et al.*, 2003).

III.2.5.2. Huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles des racines de *Pulicaria odora* L par la méthode de distillation à la vapeur a permis d'isoler le thymol et l'isobutyrate de thymol. Ces huiles essentielles sont riches en composés oxygénés, ce qui explique leur odeur aromatique (Hanbali *et al.*, 2005). tandis que les travaux Ezoubeiri *et al.* (2005), ont permis l'identification de deux isomères du thymol (figure 23) chez *Pulicaria* par Chromatographie sur colonne de gel de silice, il s'agit de 2-isopropyl-4-méthylphénol ($C_{10}H_{14}O$) et de isobutyric acide 2-isopropyl-4-méthyl-phénylester ($C_{14}H_{20}O_2$). Ce dernier est considéré comme le composé principal des huiles essentielles de *P. odora* L.

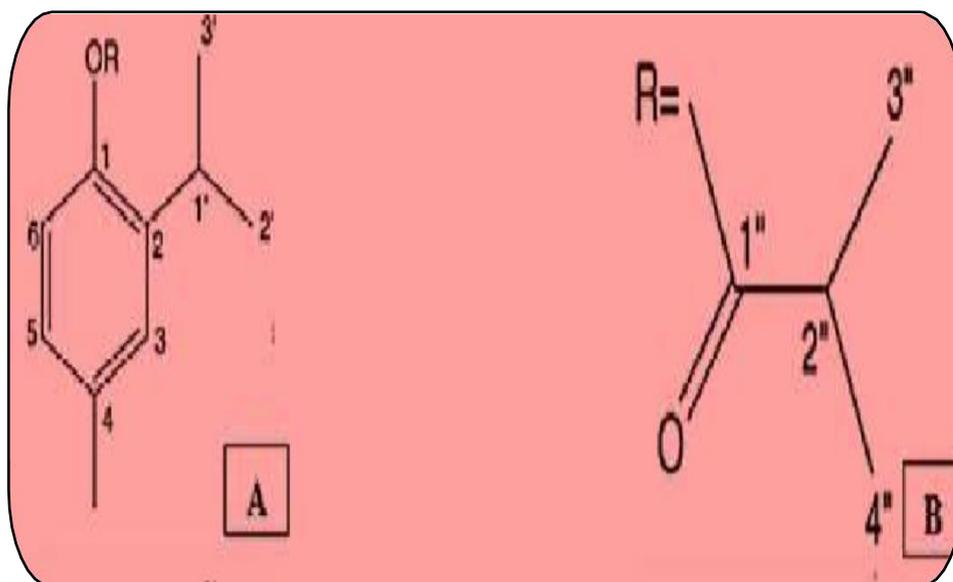


Figure 23: Structure des huiles essentielles de *Pulicaria odora* L : (A) : 2-isopropyl-4-méthylphénol et (B) : isobutyric acide 2-isopropyl-4-méthyl-phénylester (Ezoubeiri *et al.*, 2005).

III.2.6 propriétés et usage thérapeutique

Pulicaria odora L. est un médicament marocain plante largement utilisée en médecine traditionnelle pour traiter les maux de dos, troubles intestinaux et crampes menstruelles, La plante est un constituant du remède traditionnel appelé « Mssakhen », qui est donné aux femmes après l'accouchement. Les parties aériennes de la plante sont utilisées comme antibactérien ou anti diarrhéique (Awen *et al.*, 2010). et ses racines sont utilisées pour ses effets anti-inflammatoires (Bellakhdar, 1997). *Pulicaria odora* L est aussi utilisé comme une épice appréciée pour sa saveur, qui est utilisée pour parfumer le pain et la viande (Ezoubeiri *et al.*, 2005).

III.2.7 Activités biologiques de l'espèce *Pulicaria odora* L

Pulicaria odora L est une espèce aux propriétés très biologiques et médicinales. Importants tels que caractérisent par une activité antibactérienne (Fadwa *et al.*., 2005) et antifongique (Touati *et al.*,2014) et cicatrisante (Meddour *et al.*.,2009). D'après l'étude de (Hanbali *et al.*, 2005, Ezoubeiri *et al.*, 2005). Les huiles essentielles de *Pulicaria odora* L se caractérisent par une activité antibactérienne et antifongique.

**Deuxième
partie:**

**Partie
expérimentale**

Cette étude a été effectuée au sein du laboratoire de la microbiologie, et de biochimie, faculté des sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la terre à l'Université Akli Mohand Oulhadj bouira, pendant la période allant du mois de mars au mois juin 2022.

Les objectifs de ce travail sont:

- Préparation de l'extrait à partir des plantes de *Pulicaria odora* L et *Calendula arvensis* L par la méthode macération.
- Dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes dans les extraits éthanolique des deux plantes
- Evaluation de l'activité anti radicalaire par le test de DPPH.
- Teste l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion des puits sur milieu solide (Miller Hinton) et antifongique sur milieu solide (PDA).

❖ **Matériels et réactifs utilisés**

Le matériel et les différents réactifs utilisés pour l'extraction et les différents tests sont reportés dans les annexes (**Annexe II**).

I. Méthodologie du travail

I.1.échantillonnage

Le matériel végétal est constitué des feuilles de deux plantes de la famille des *Asteraceae*. *Pulicaria odora* L récolté dans la région Draa El Mizane, de la wilaya de Tizi ouzou (**figure 24**) et *Calendula arvensis* L récolté dans la région Dar El Biaa et Farachati, de la wilaya de bouira (**figure25**), l'échantillonnage a été effectué le mois de mars de l'année 2022.



Figure24: Aspect des feuilles (A) et fleurs (B) de *Pulicaria odora* L.



Figure 25:Aspect des feuilles (A) et fleurs (B) de *calendula arvensis* L.

I.2. Préparation de l'échantillon végétale

I.2.a- Le séchage

Le séchage des feuilles des deux plantes a été effectué dans l'étuve à température ambiante 37 C° pendant 48 heures (**figure 26**).



Figure 26:photographie des plantes (*Pulicaria odora* L et *Calendula arvensis* L) dans l'étuve.

I.2.b. Le broyage

Après séchage, les feuilles des deux plantes sont broyées grâce à un broyeur électrique pour obtenir une poudre fine.

I.2.c. La conservation

La poudre de la plante a été conservée dans des flacons en verre recouverts d'aluminium, à température ambiante et à l'abri de la lumière et de l'humidité. L'aspect final de la plante *C.arvensis* L et *P.odora* (**figure 27**



Figure 27: L'aspect final de la plante *Calendula arvensis* L (photo personnel).



Figure28 : L'aspect final de la plante de *Pulicaria odora* L (photo personnel).

I.3. Extraction des polyphénols

Une quantité de 30g de la poudre végétal (*Pulicaria odora* L) est macérée dans 340ml d'éthanol et une quantité de 30g de la poudre (*Calendula arvensis* L) est macérée dans 250ml d'éthanol pendant 72 heures sous agitation magnétique (**figure 29**).



Figure 29 : la macération des plantes sous l'agitation magnétique (photo personnel).

Ensuite les extraits ont été filtrés (**figure 30**), et concentrés par évaporation sous pression réduite à 40°C à l'aide d'un évaporateur rotatif Bushi (**figure 31**) qui permet d'éliminer le solvant sous vide.

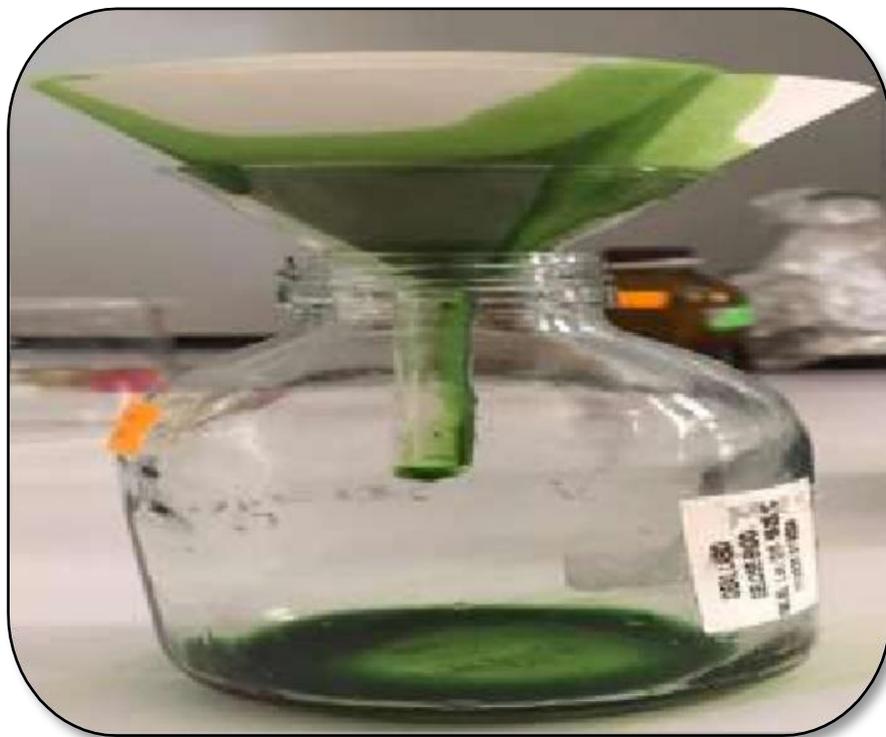


Figure 30 : Filtration des extraits. (Photo personnel).

➤ **Evaporation**

Le protocole utilisé pour l'évaporation des filtrats est celui décrit par (Michiels *et al.*2012) :

- ✓ Placer le filtrat dans le ballon d'évaporation ;
- ✓ Procéder à l'évaporation jusqu'à disparition complète du solvant ($T^{\circ} = 45^{\circ}\text{C}$) ;
- ✓ Retirer le ballon du rotavapeur et attendre qu'il soit froid ;
- ✓ Peser le ballon afin de calculer le rendement d'extraction ;



Figure31 : photographie d'un évaporateur rotatif Bushi (photo personnel).



Figure 32 : L'extrait de deux plantes après l'évaporation (photo personnel).

❖ Mode opératoire

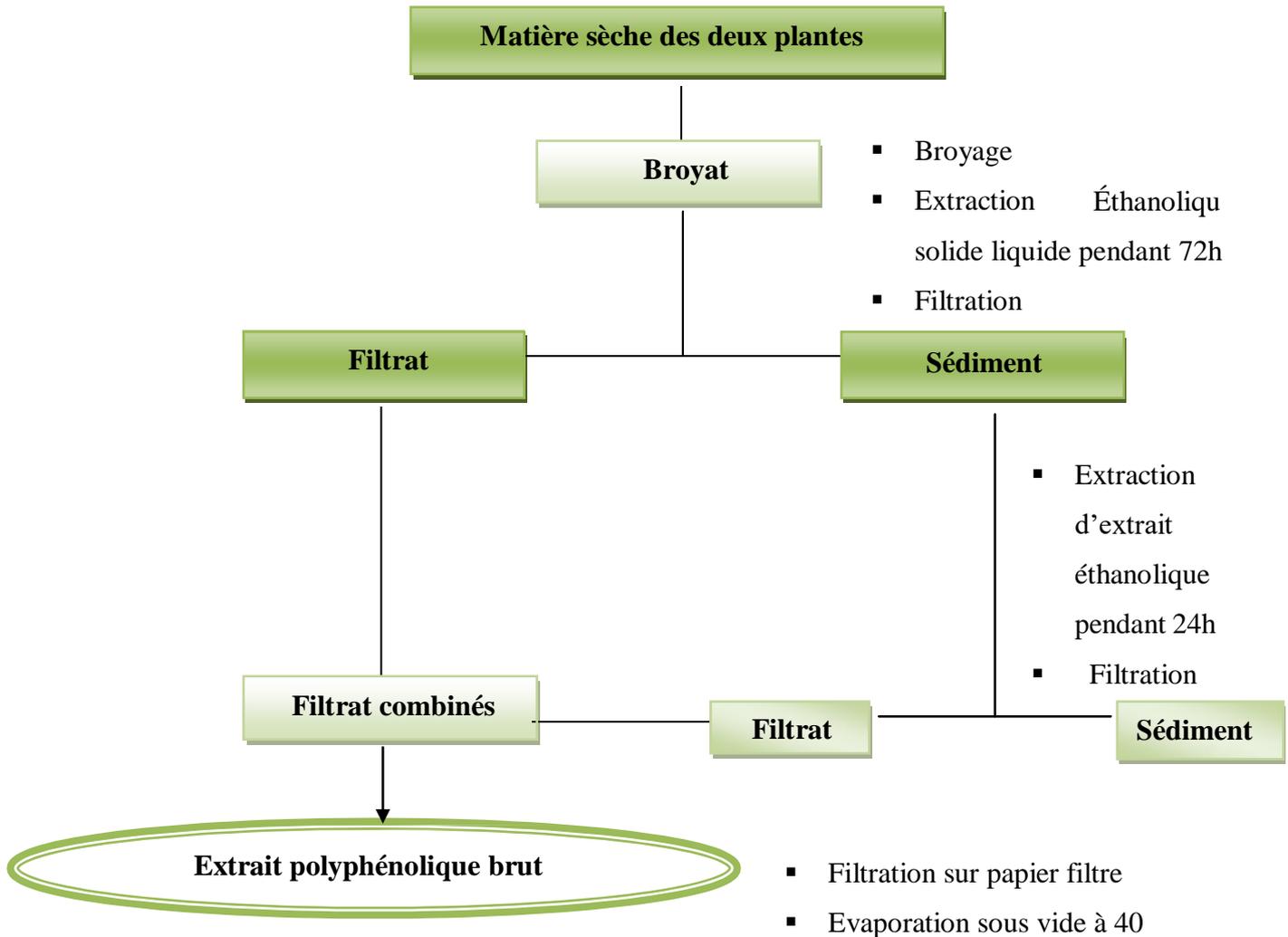


Figure33: Protocole d'extraction des polyphénols (Owen et John, 1999).

❖ Calcul du rendement de l'extraction

Le rendement d'extraction est défini comme étant le rapport entre le poids de l'extrait Sec obtenu après évaporation du solvant et le poids de la poudre végétale traitée. Le rendement d'extraction exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante (Bssaibis *et al.*, 2009) :

Où :

$$R (\%) = [(P1-P0) / P]. 100$$

R : rendement de l'extraction en %.

P1 : poids du ballon avec extrait en gramme après évaporation du méthanol.

P0 : poids du ballon vide en gramme.

P : poids de l'échantillon initial (poudre végétale) en gramme.

I.4. Analyses quantitatives par dosage spectrophotométrique

I.4.a Dosage des polyphénols totaux

❖ Principe

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué avec le réactif colorimétrique Folin-Ciocalteu selon la méthode décrite par (Wong *et al*, 2006). Ce réactif de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Lors de l'oxydation des phénols, le réactif Folin-Ciocalteu est réduit en un complexe ayant une couleur bleue constituée d'oxyde de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). L'intensité de la couleur mesurée à 765 nm est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés (Boizot et charpentier, 2006). Le protocole est résumé dans la (figure 34).

❖ Mode opératoire

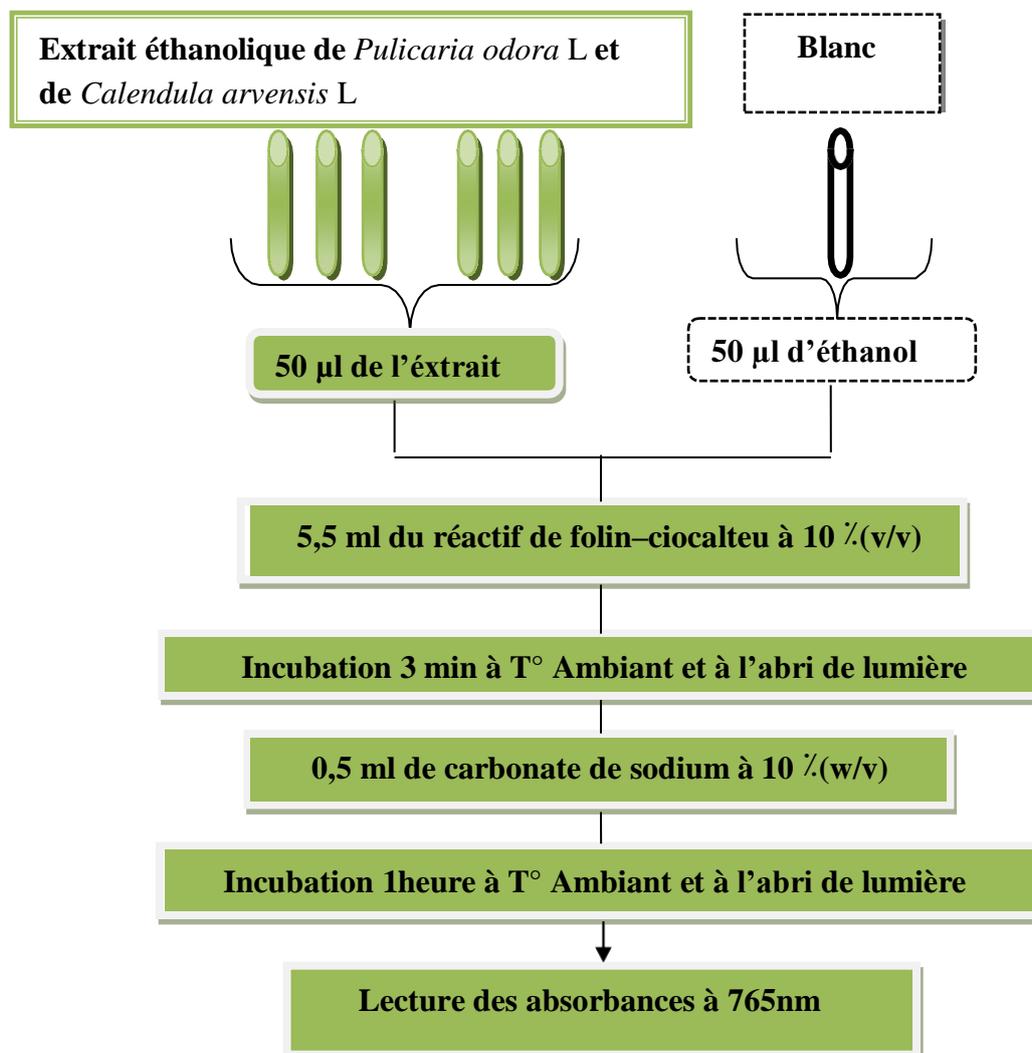


Figure 34: Dosage des polyphénols totaux selon la méthode de Folin-Ciocalteu (Boizot et charpentier, 2006).

❖ Expression des résultats

La concentration des polyphénols totaux a été déterminée en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisée avec "l'acide gallique" comme standard. Les résultats sont exprimés en (mg EAG/ g MS) Les teneurs en polyphénols totaux (**PPT**) sont calculées selon la formule suivante (**Bentabetlasгаа, 2015**).

$$\text{PPT} = a \times f / b$$

a : concentration en polyphénols en mg/ml déterminée à partir de la courbe d'étalonnage.

f : facteur de dilution.

b : concentration initial de l'extrait (mg/ml).

I.4.b. Dosage des Flavonoïde totaux

❖ Principe

Le dosage des flavonoïdes a été déterminé par la méthode du trichlorure d'aluminium (AlCl_3) **Kosalec et al., 2004** avec quelques modifications.

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium. Ils forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux qui sont le fer et l'aluminium.

❖ Mode opératoire

Les extraits ont été préparées soit dans l'eau distillée ou l'éthanol 96%, tout en précisant la masse pesée, puis un volume de 0.5 ml de chaque préparation a été ajouté à un 0.5ml de la solution d' AlCl_3 à 2% (prépare dans l'éthanol), Après incubation pendant 1h l'absorbance a été lue 430 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible (**Bahroun et al., 1996**). Le protocole est résumé dans la (**figure 35**).

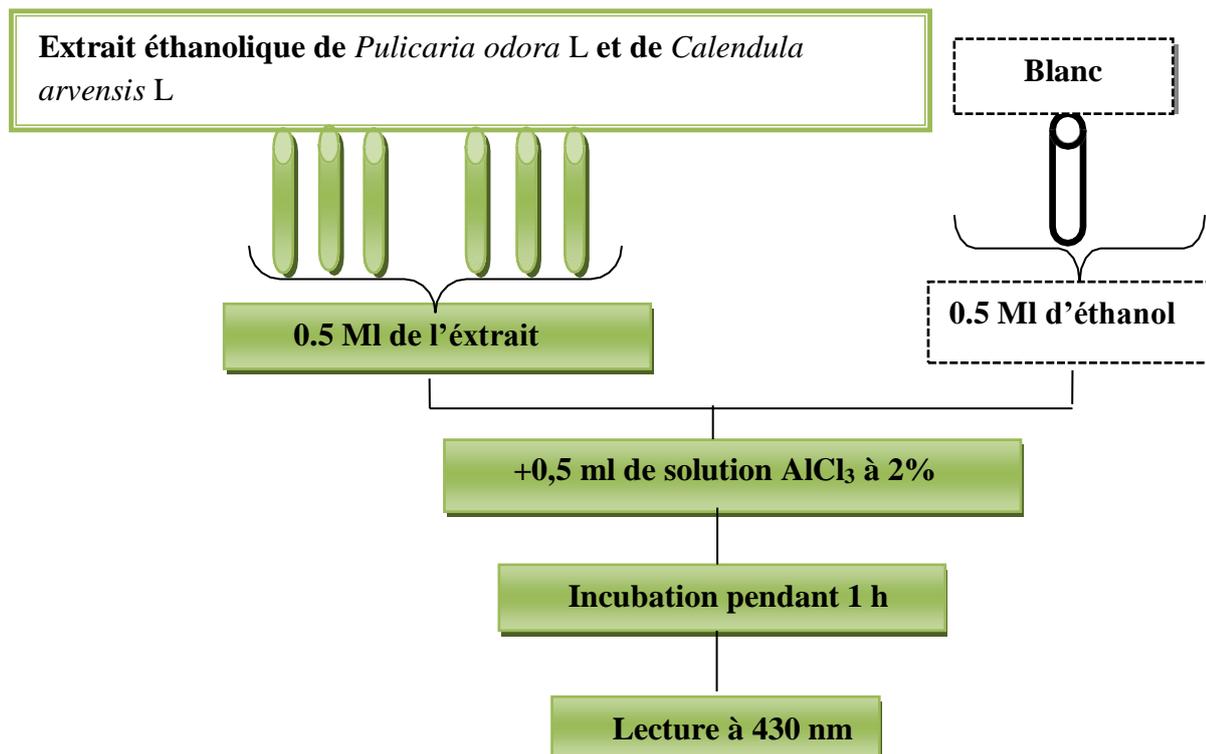


Figure 35: Dosage des flavonoïdes par la méthode de (Bahroun *et al.*, 1996).

❖ Expression des résultats

Les concentrations des flavonoïdes contenus dans l'extrait de la plante ont été calculées en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant la quercétine comme standard, les résultats sont exprimés en mg équivalent en quercétine/g d'extrait.

I.5. Analyse statistique

L'analyse statistique a été faite en utilisant le logiciel XLSTAT, les résultats sont représentés sous la forme de moyenne \pm déviation standard (DS) et analysés par analyse de variance à un facteur (ANOVA) suivi du test de Tukey pour les comparaisons multiples et la détermination des seuils de signification ($P < 0.05$).

I.6. Évaluation du potentiel anti radicalaire

L'évaluation de l'activité antioxydante par piégeage de différents radicaux peut être effectuée par plusieurs méthodes ; on peut citer :

- La méthode utilisant le radical libre DPPH. (2;2-diphényl-1-picrylhydrazyl).

I.6.a. Test au DPPH

❖ But

Détermination in vitro du pouvoir antioxydant des extraits (feuilles) de la plante

P. odora L et *C. arvensis* L par la réduction du radical DPPH.

L'activité du balayage des radicaux libres a été mesurée en employant le radical libre stable DPPH (C₁₈H₁₂N₅O₆) qui est l'un des essais principaux employés pour explorer l'utilisation des extraits d'herbes comme antioxydants (Markowicz Bastos *et al.*, 2007).

❖ Principe

En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH. (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette se réduit en 2,2 diphényl 1 picryl hydrazine de couleur jaune. (Maataoui *et al.*, 2006).

Ce radical est un oxydant qui peut être réduit par l'antioxydant (AH) selon la réaction suivante :



❖ Mode opératoire

Pour préparer le DPPH, on a mélangé 1,96 mg de DPPH dans 50 ml de l'éthanol, après une agitation pendant 1h, Une solution de 4mg/4ml de chaque extrait éthanolique a été préparés à partir de laquelle des dilutions dans l'éthanol (1/2,1/3,1/4,1/5,1/6) ont été réalisées.

L'effet de chaque extrait sur le DPPH est mesuré par la procédure décrite par (Chaouche *et al.*, 2013). Un volume de 50µl de différentes concentrations à chaque extrait est ajouté à 950 µl de la solution éthanolique du DPPH les tubes sont incubés à une température ambiante et l'arbi de la lumière pendant 30 min. L'absorbance est effectuée à 517 nm à l'aide d'un spectromètre (Sanchez Moreno *et al.*, 1998).

➤ L'antioxydant de référence ou le contrôle positif (acide ascorbique) a été aussi préparé selon la même méthode.

❖ L'expression des résultats

L'activité antiradicalaire est estimée par l'équation décrite par (Talbi *et al.*, 2015) :

$$\% = [(A \text{ contrôle} - A \text{ extrait}) / A \text{ contrôle}] \times 100$$

Abs contrôle : absorbance de la solution DPPH en absence d'un antioxydant.

Abs extrait : absorbance de la solution de DPPH en présence d'un antioxydant.

I.7. Activité antibactérienne des extraits polyphénoliques de *Pulicaria odora* L et *Calendula arvensis* L.

Nous avons testé l'activité des polyphénols de la plante à différentes concentrations vis-à-vis de quelques souches bactériennes par la méthode des puits.

I.7.a. Les souches bactériennes utilisées**Tableau IV** : Les souches bactériennes utilisées

Type de Gram	Les souches bactériennes
Les bactéries Gram positif	<i>Bacillus cereus</i> ATCC6633
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538
	<i>Entérocooccus faecalis</i>
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
Les bactéries Gram négatif	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853

I.7.b. Préparation de l'extrait éthanolique

Les extraits secs de *Pulicaria odora* L et de *Calendula arvensis* L ont été solubilisés dans l'éthanol pour avoir des solutions mères de 1mg/ml à partir de laquelle des dilutions ont ensuite effectuées.

I.7.c. Préparation de milieu de culture

Deux milieux de culture utilisé pour l'étude de l'activité antibactérienne est le Gélose Miller hinton et la gélose nutritive solide acidifié (38g Mueller Hinton + 3g d'agar dans 1000 ml d'eau distillé) (14g gélose nutritive dans 500mL d'eau distillée). Une fois préparé, le milieu de culture a été stérilisé par autoclavage pendant 1h et 30 min à 121 C°. Avant utilisation, le milieu est liquéfié puis coulé (Environ 20 ml du milieu préparé dans chaque boîte de Pétri). La composition de ce milieu est Mentionnée dans (**Annexe 3**).

I.7.d. Revivification des souches

Les souches bactériennes à tester sont repiquées par la méthode des stries sur la gélose nutritive, (**figure 36**), puis incubées à 37C° pendant 24 heures afin d'obtenir des cultures jeunes.

**Figure 36** : Revivification des souches bactériennes. (**Photo personnel**).

I.7.e. Préparation de l'inoculum bactérien

La suspension bactérienne a été préparée à partir des cultures bactériennes revivifiées. À l'aide d'une anse de platine, quelques colonies ont été prélevées puis introduites dans des tubes à essai contenant 9 ml d'eau physiologique stérile, Après une homogénéisation des tubes pendant quelques secondes, une lecture de densité optique de chacune des suspensions préparées a été effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible à une longueur d'onde de 625 nm. La densité optique doit être comprise entre 0.08 et 0.13, ce qui correspond à une concentration de 10^8 UFC/ml. L'inoculum préparé est dilué au 1/100^{em} dans l'eau physiologique pour avoir une concentration finale de 10^6 UFC/ml, comme indiquée par le (Casfm, 2001).

I.7.f. Etude de l'effet antibactérien de l'extrait polyphénolique de *Pulicaria odora* L et *Calendula arvensis* L par la méthode de diffusion par puits sur gélose.

La méthode de diffusion des puits a été décrite pour la première fois par **Nathan et al. (1978)**. C'est un modèle couramment utilisé pour tester l'activité antimicrobienne (**Holder et Boyce 1994**). La méthode de diffusion en gélose est souvent utilisée pour mettre en évidence l'antagonisme entre les micro-organismes. Dans cette procédure bien connue, le test est effectué en ensemencement de la souche d'intérêt sur le milieu (Muller Hinton) par des stries serrées en surface (**Balouiri et al ., 2016**). Sur les boîtes de Pétri inoculées par les germes cibles préparés préalablement, 7 puits sont réalisés en utilisant un embout stérile. Dans chaque puits on met 50 µl d'extrait éthanolique à différentes concentrations. Un témoin contenant 50 µl d'éthanol et l'autre contenant 50 µl acide gallique ont été utilisés dans chaque boîte comme des témoins. Les boîtes ont été placées au réfrigérateur de 4°C pendant une nuit. Puis incubé dans l'étuve à 37°C pendant 24h. L'activité antibactérienne est déterminée en termes de diamètre de la zone d'inhibition produite autour des puits après 24h d'incubation (**Bouhdid et al., 2006**) (figure 33).

❖ Lecture de résultat

Après l'incubation, on mesure de diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque puis. Plus le diamètre de la zone est grand plus la souche est sensible. L'échelle de l'estimation de l'activité antibactérienne est donnée par (**Touati et al., 2018**).

- **Résistante** : $D < 8$ mm
- **Intermédiaire** : $15 \text{ mm} \geq D \geq 8$ mm
- **Sensible** : $D > 15$ mm

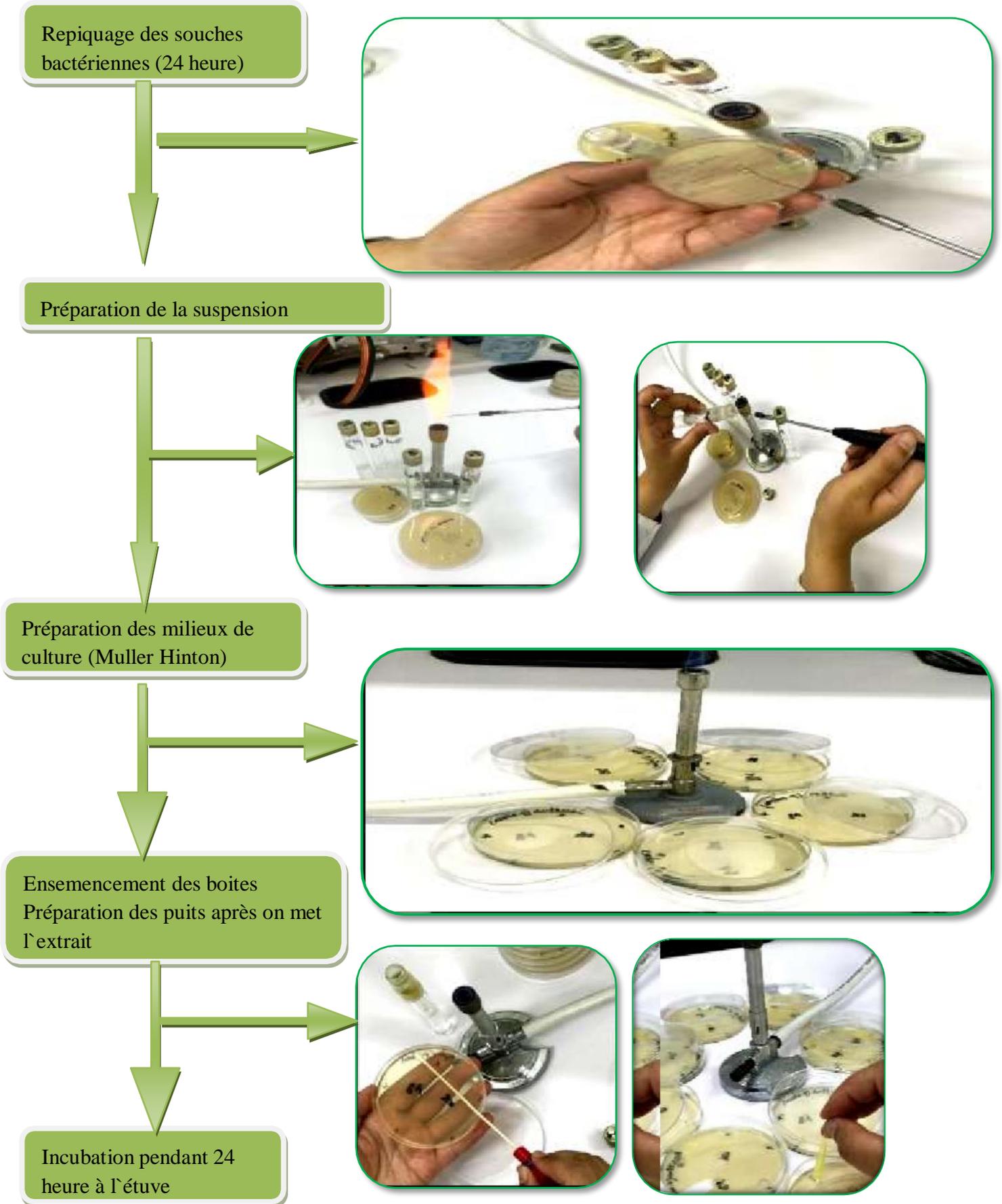


Figure 37: protocole expérimentale d'activité antibactérienne (la méthode de diffusion par

Puits) (photo personnel).

I.8. Activité antifongique des extraits polyphénoliques de *Pulicaria odora* L et *Calendula arvensis* L.

I.8.a. Préparation du milieu de culture

Le milieu de culture utilisé pour l'étude de l'activité antifongique est le **PDA** (Potato dextrose Agar ou pomme de terre glucosée et gélosée) acidifié (21g PDA dans 500 ml). Une fois préparé, le milieu de culture a été stérilisé par autoclavage. Avant utilisation, le milieu est liquéfié puis coulé (Environ 20 ml du milieu préparé dans chaque boîte de Pétri). La composition de ce milieu est Mentionnée dans (**Annexe 3**).

I.8.b. Repiquage des souches

Le PDA est le milieu de culture utilisé pour l'entretien des souches fongique. Des espèces moisissure ont été récupérer dans le tube incline contenant dans le milieu (PDA) conservées à 4°C. Le repiquage des souches se fait par prélèvement d'un fragment de colonie pour les trois espèces des champignons phytopathogènes (*Aspergillus Flavus*, *Aspergillus niger* 1, *fusarium verticilium*). À l'aide d'une anse de platine stérilisée. Ce fragment est déposé au centre d'une boîte Pétri contenant le milieu PDA comme (**figure35**).

Le repiquage se fait aseptiquement devant le du bec Bunsen .L'observation des champignons filamenteux se fait Après 7 jours d'incubation à 28°C.



Figure 38 : Repiquage des souches fongiques (photo personnel).

I .8. c. Etude de l'effet antifongique de l'extrait par la méthode de contact direct sur milieu gélosé.

Cette technique décrite par **Grover *et al.* (1962)** et **Khallili (2001)** consiste à mélanger 1 ml d'une solution alcoolique à base d'extrait phénolique de *Pulicaria odora* L et *Calendula arvensis* L, à différentes concentrations de 15mg/ml, 30mg/ml, 60mg/ml avec 15 ml du milieu PDA en surfusion, dans un tube à essai stérile. Après agitation, le contenu a été versé dans une boîte de Pétri. Une boîte contenant le milieu PDA et 1 ml d'éthanol 95° a été utilisée comme témoin négatif. Un fragment de champignon a été implanté au centre de chaque boîte (traitées et témoin), ces dernières sont ensuite incubées à 28 c° pendant 7 à 8 jours.

Le suivi de la croissance fongique a été effectué tous les deux jours jusqu'à la fin de la durée appropriée d'incubation où l'on procède à la mesure des diamètres de mycélium pour dégager le pourcentage d'inhibition ou taux d'inhibition, calculé comme suit :

$$\% \text{ d'inhibition du mycélium} = ((\text{MIc} - \text{MI t}) / \text{MIc})$$

Avec ;

MIc = diamètre de Mycélium dans la boîte témoin (control)

MI t = diamètre de Mycélium dans les boîtes contenant les principes actifs (Champignons traités).

L'extrait est qualifié de :

- ❖ très actif lorsqu'il possède une inhibition comprise entre 75 et 100 %, la souche fongique est dite très sensible ;
- ❖ actif lorsqu'il possède une inhibition comprise entre 50 et 75 %, la souche fongique est dite sensible ;
- ❖ moyennement actif lorsqu'il possède une inhibition comprise entre 25 et 50%, la souche est dite limite ;
- ❖ peu ou pas actif lorsqu'il possède une inhibition comprise entre 0 et 25%, la souche est dite peu sensible ou résistante.

A l'issue de ces données, tout extrait ayant présenté un pourcentage d'inhibition supérieur à 50% sur une souche fongique est sélectionné pour la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) (**Alcamo, 1984; Rotimi *et al.*, 1988**).

Chapitre III :

Résultats et Discussions

III.1.1. Le rendement d'extraction des polyphénols

L'aspect, la couleur et le rendement d'extraction des extraits éthanolique obtenus par macération de la poudre des feuilles de *Pulicaria odora* L et *Calendula arvensis* L sont mentionnées dans le **tableau V** ci dessus.

Tableau V : Aspect, couleur et rendement d'extraction des feuilles de *Pulicaria odora* L et de *Calendula arvensis* L.

	Rendement en%	Aspect	Couleur
Feuilles de <i>Pulicaria odora</i> L	4,96%	Non collante	Vert
Feuilles de <i>Calendula arvensis</i> L	12,9%	Non collante	Vert foncé

D'après Ces résultats, on note que la valeur de rendement obtenue durant notre travail de *Pulicaria odora* L (4,96%) est inférieur de *Calendula arvensis* L (12,93%). Cette différence dans le rendement peut être probablement liée aux conditions opératoires, la région et la période de récolte.

Le rendement de *Pulicaria odora* L est inférieur à celle rapporté par **Gaci et Lahiani (2017)** qui est de l'ordre de (22,02%) par macération aqueuses. Cette différence dans le rendement peut être probablement liée Conditions opératoires, la région et la période de récolte.

Le rendement de *Calendula arvensis* L est inférieure à celle rapporte par **(Abudunia, 2018)**. Qui est de l'ordre de (20,5%) Cette différence dans le rendement peut être probablement liée à une nature de solvant d'extraction utilisée et leur polarité. Dailleur cet auteur a utilisé le méthanol comme solvant d'extraction.

En effets, **Selon Spigno et al. (2007)**, l'extraction dépend de plusieurs paramètres y compris le volume et la nature des Solvant utilisé, la température et le temps d'extraction.

Plusieurs études ont souligné que les matières grasses et les phospholipides empêchent la pénétration du solvant dans la matière solide et l'extraction complète des substances végétales, ce qui se reflète négativement sur le taux d'extraction **(Matkowski et Piotrowska, 2006)**. Les solvants alcooliques sont capables d'augmenter la perméabilité des parois cellulaires en facilitant l'extraction d'un plus grand nombre de molécules polaires, de moyenne et de faible polarité **(Seidel, 2005)**.

II.2. Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux

II.2.a .Dosage des polyphénols totaux

La méthode suivie pour doser les polyphénols totaux des extraits des feuilles de *Pulicaria odora* L et de *Calendula arvensis* L est la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu. C'est l'une des méthodes les plus anciennes conçue pour déterminer la teneur en polyphénols, des plantes médicinales et les nourritures (Abdel-Hameed, 2009). L'acide gallique est le standard le plus souvent employé dans la méthode de Folin-Ciocalteu (Maisuthisakuletal., 2008).

Une courbe d'étalonnage a été alors effectuée avec l'acide gallique (Figure 39), une mesure de la densité optique (DO) de l'extrait a été réalisée à 765 nm. La quantité des polyphénols totaux est déterminée par l'équation de régression : $Y = ax + b$ exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme de l'extrait sec.

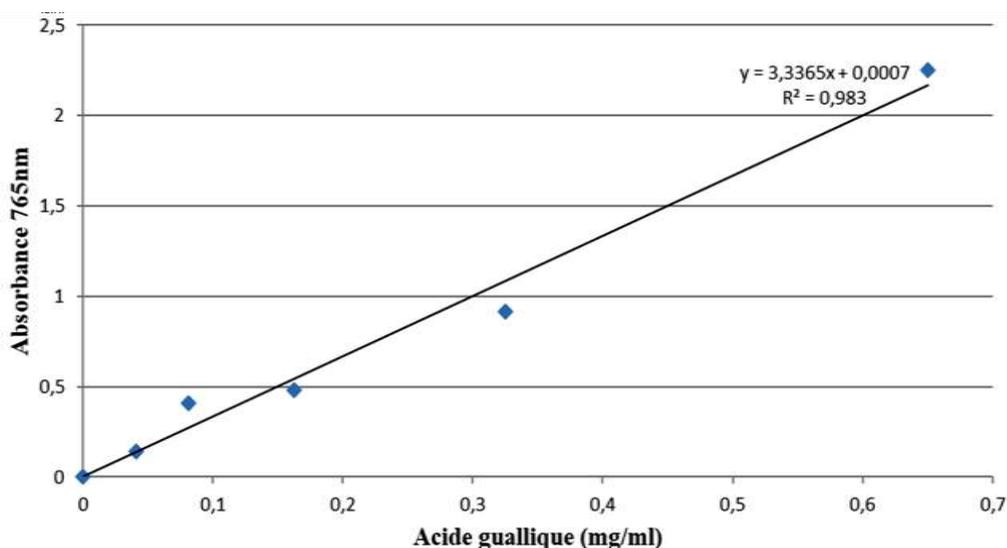


Figure 39: Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols en équivalent de l'acide gallique.

Les Teneurs de polyphénol de nos extraits (Tableau VI), sont exprimés en milligramme Équivalent de l'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g MS).

Les valeurs sont données sous la forme de moyenne de 3essais \pm Ecart type (ET).

Tableau VI : Teneurs en polyphénols totaux de l'extrait éthanolique exprimées en mgEAG/gMS (n=3).

Extrait	Teneur en polyphénols (mg EAG/g MS)
<i>Pulicaria odora</i> L	72±0,0002
<i>Calendula arvensis</i> L	200± 0,0005

A partir le tableau si dessus nous pouvant dire que:

La plante *Calendula arvensis* L donne une teneur en PPT de l'ordre de 200± 0,0005mg EAG/g MS qui représente la valeur la plus élevé comparé à la teneur en PPT donné par la plante *Pulicaria odora* L qui est égale 72±0,0005 mgEAG/gMS. Mais l'analyse statistique révèle une différence significative entre les teneurs en polyphénols des feuilles de *Pulicaria odora* L et *calendula arvensis* L ($P < 0,05$), Donc le type du solvant utilisé pour l'extraction influence sur la teneur en polyphénols totaux des différents extraits

Nos valeurs sont inferieur à celles enregistrées par **Touati et al. (2018)** qui ont indiqué pour les feuilles et les racines de la plante médicinale *Pulicaria odora* L une teneur de 90±0.63mgEAG/g pour l'extrait méthanolique.

Une autre étude réalisée par **Gherib et al. (2016)** qui ont pour leur part indiqué pour une autre espèce du genre *Pulicaria* une teneur de 329,9 ±0,3mgEAG/g pour les extraits de fleurs et 222,7±1,1mgEAG/g pour ceux des feuilles.

Nos valeurs sont supérieures à celles enregistrées par **Abudunia. (2018)** qui ont indiqué pour la plante médicinale *Calendula arvensis* L 50.26±0.18mgEAG/g pour l'extrait méthanolique et 47.89±2.34mgEAG/g pour l'extrait aqueux.

Une autre étude effectuée sur 51 espèces végétales, **Tawaha et al. (2007)** ont eu un taux de phénol totaux de 12.3mgEAG/g pour l'extrait méthanolique.

De même, **Parejo et al. (2003)** ont noté pour des extraits aqueux de neuf plantes appartenant à la famille des *Asteraceae* des teneurs en polyphénols comprises entre 71 et 211,5mgEAG/g concorde avec nos résultats.

D'autre part **Wojdylo et al. (2007)**, ont signalée que la famille des *Asteraceae* présente des teneurs élevées en composés phénoliques par rapport aux autres familles botaniques.

Plusieurs facteurs peuvent influencer les teneurs en composés phénoliques, des études récentes ont montré que les facteurs extrinsèques (facteurs géographique et climatiques) (**Generalic et al., 2012**), facteurs génétiques, mais aussi le degré de maturation de la plante et la période de stockage a une forte influence sur les composés phénoliques (**Benhouda et al., 2014**).

II.2.b. Dosage des Flavonoïde totaux

La teneur en flavonoïdes (FT) a été estimée par la méthode colorimétrique de trichlorure d'aluminium (Bahorun *et al.*, 1996). La quantité des flavonoïdes est déterminée par l'équation de régression : $Y=ax$ (Figure 40) exprimés en mg d'équivalent de quercétine par gramme de l'extrait sec.

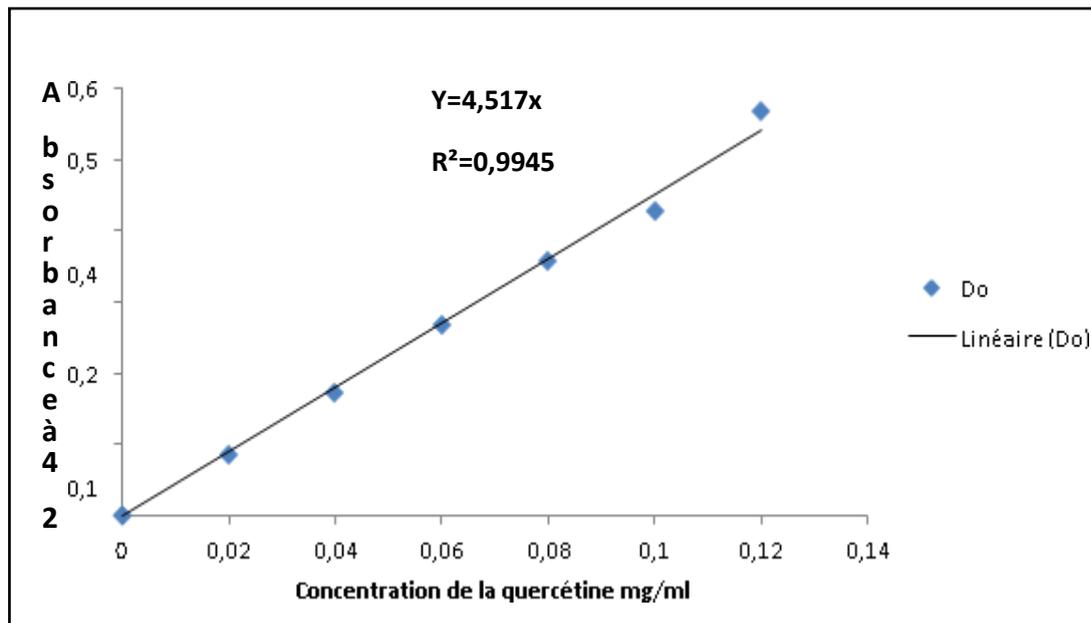


Figure 40: Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes en équivalent de quercétine.

Les taux de flavonoïdes de nos extraits (Tableau VII), sont exprimés en milligramme équivalent de la quercétine par gramme de matière sèche (mgEQ/gMS). Les valeurs sont données sous la forme de moyenne de 3 essais \pm ET. **Tableau VII:** Teneur en flavonoïdes de l'extrait exprimé en mg Eq/g MS (n=3).

Extrait	Teneur en flavonoïdes (mgEQ/gMS)
<i>Pulicaria odora</i> L	52 \pm 0,009
<i>Calendula arvensis</i> L	44 \pm 0,002

A partir le tableau si dessus nous pouvant dire que: La plante *Pulicaria odora* L donne une teneur en FT de l'ordre de 52 \pm 0,009 mg Eq/gMS qui représente la valeur la plus élevé comparé à la teneur en FT donné par la plante *Calendula arvensis* L qui est égale 44 \pm 0,002 mg Eq/g MS. Mais, l'analyse statistique ne révèle aucune différence significative entre les teneurs en flavonoïde des feuilles de *Pulicaria odora* L et *Calendula arvensis* L (P>0,05). Nos valeurs sont supérieures à celles enregistrées par Touati *et al.*, (2018) qui ont indiqué

pour les feuilles et les racines de la plante médicinale *Pulicaria odora* L, une teneur de $11,34 \pm 3,15 \text{ mgEc/g}$ pour l'extrait au méthanol.

Une autre étude effectuée sur les feuilles de cinq espèces de la famille des *Asteraceae* par **Conforti et al. (2009)**, ils ont trouvé des valeurs allant de 7,49 à 32,9 mg Eq/g. en utilisant un mélange éthanol/eau à 70% comme solvant d'extraction.

De même **Liu et al. (2008)**, ont trouvée des valeurs inférieures à notre $24,26; 26,91 ; 28,35 \text{ mgEr/g}$ dans trois espèces de la famille des *Asteraceae* en utilisant l'éthanol à 60% pour l'extraction.

Cependant, **Bohm et Tod, (2001)** ont suggéré la richesse en flavonoïdes chez des espèces végétales appartenant à la famille des *Asteraceae*.

Selon **Falleh et al., (2008)**, la teneur en flavonoïdes peut être liée aux conditions climatiques (température chaude, exposition solaire élevée, sécheresse et salinité) qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires tels que les polyphénols.

II.3. Évaluation du potentiel antiradicalaire

L'activité antioxydante des extraits de *Pulicaria odora* L *Calendula arvensis* L ainsi que le témoin l'acide ascorbique a été estimée par la méthode du radical libre DPPH. Elle est largement utilisée pour estimer la capacité des substances à agir en tant que piègeurs des radicaux libres ou donneurs d'hydrogène et d'évaluer ainsi leur activité antioxydante (**Milardovic et al., 2006; Laib, 2011**).

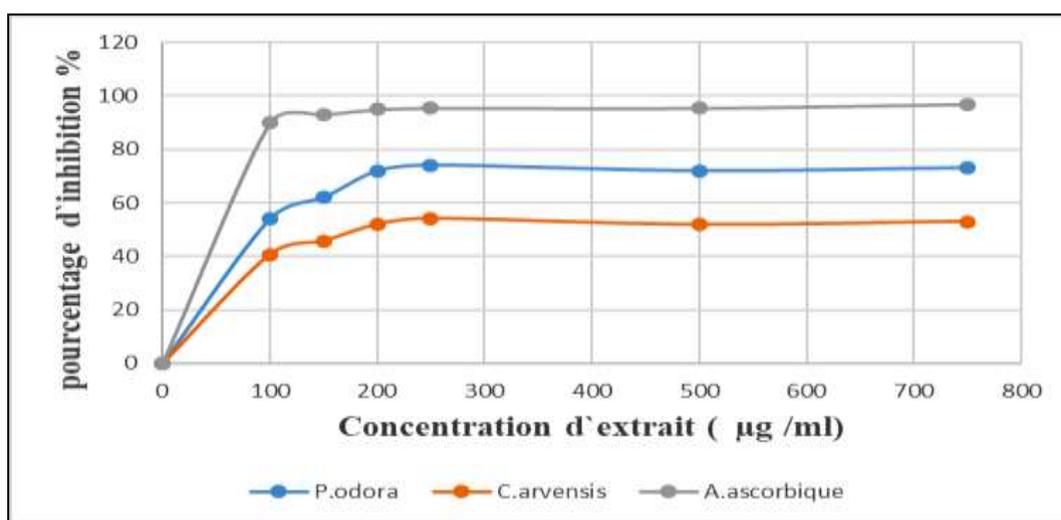


Figure 41 : courbe du radical libre DPPH des extraits (*Pulicaria odora* L *Calendula arvensis* L) et acide ascorbique évaluée à différentes concentrations.

D'après les résultats illustrés dans la (**figure 41**) On observe que tous les extraits présentent un effet contre la radicale DPPH, qui augmente en parallèle à l'augmentation de

Leurs concentrations. En effet, l'acide ascorbique présente l'activité la plus élevée avec un pourcentage d'inhibition de presque 100% suivie l'extrait de *Pulicaria odora* L avec un pourcentage d'inhibition de presque 80% tandis que l'activité la plus faible a été marquée au niveau d'extrait de *Calendula arvensis* L avec un pourcentage d'inhibition de presque 60%.

IC₅₀ est un paramètre largement utilisé pour mesurer l'activité antioxydante des échantillons. Elle est définie comme la concentration nécessaire pour diminuer la concentration initiale du DPPH de 50%. Plus la valeur IC₅₀ est faible, plus l'activité antioxydante est élevée (Rivero-Cruz *et al.*, 2020).

Tableau VIII: Les concentrations efficaces pour réduire 50% de DPPH par l'acide ascorbique et les extraits de *Pulicaria odora* L et *Calendula arvensis* L.

Extrait	<i>Pulicaria odora</i> L	<i>Calendula arvensis</i> L	Acide ascorbique
IC ₅₀ (µg/ml)	6 5	80	50

L'IC₅₀ enregistré pour l'acide ascorbique est de l'ordre de 50 µg/ml, elle est inférieure par rapport à l'IC₅₀ enregistré pour les extraits des *Pulicaria odora* L et *Calendula arvensis* L, qui sont de l'ordre de 65 µg/ml et de 80 µg/ml pour les deux extraits, respectivement. Nos valeurs sont inférieures à celles enregistrées par Cherifi et Hami. (2017). Qui ont indiqué pour l'acide ascorbique une IC₅₀ de l'ordre de 96,74±0.07µg/ml et pour l'extrait aqueux *Pulicaria odora* L une IC₅₀ de 106,56 ±0.05 µg/ml. Cette différence dans l'IC₅₀ peut être probablement liée aux conditions opératoires, type de solvant.

Nos valeurs sont supérieures à celles enregistrées par Abudunia. (2018), qui ont indiqué pour la plante médicinale *Calendula arvensis* L a une bonne activité de piégeage des radicaux DPPH avec une valeur de 20.9 ± 5.34 µg/ml. D'ailleurs cet auteur a utilisé le méthanol comme solvant d'extraction. En 2012, l'équipe d'Ercetina *et al.* (2012) ont réalisé des travaux sur les extraits des feuilles et fleurs de *Calendula arvensis* L et de *Calendula officinalis* L, les résultats ont montré l'extrait de méthanol des fleurs de *Calendula arvensis* L à la plus forte activité de piégeage des radicaux DPPH (52.25 ± 1.34 µg/ml), inférieure à nos résultats. L'activité antioxydante des composés phénoliques est principalement due à leurs propriétés redox, ce qui permet à ces composés d'absorber et de neutraliser les radicaux libres et de piéger les espèces réactives d'oxygène (Rejeb, 2008).

Un extrait possédant un composé phénolique qui contient un grand nombre de groupes Hydroxyle a une activité antioxydant élevé (Arabshahi *et al.*, 2007).

II.4. Activité antibactérienne des extraits polyphénoliques de *Pulicaria odora* L et *Calendula arvensis*L

L'activité antimicrobienne des extraits de *Pulicaria odora* L et de *Calendula arvensis* L a été évaluée sur des souches bactériennes à Gram positif et à Gram négatif par la méthode de diffusion en milieu gélosé Mueller Hinton. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau IX.

Tableau IX: Diamètre des zones d'inhibition de différentes concentrations de l'extrait éthanolique de *Pulicaria odora* L sur les bactéries à Gram positif et négative.

		Diamètre de la zone d'inhibition (mm)/Profil des sensibilités				
Extrait Souches	Concentration de l'extrait (mg/ml)	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Klebsiella Pneumoniase</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Entérocooccus faecalis</i>
<i>Pulicaria odora</i> L	1mg/ml	16: Sensible	14: moyenne	17: Sensible	0	0
	0.5mg/ml	14: moyenne	13: moyenne	0	0	0
	0.25mg/ml	13: moyenne	0	0	0	0
	0.125mg/ml	11: moyenne	12: moyenne	0	0	0
	0.06mg/ml	10: moyenne	0	0	0	0
Acide gallique		24: très sensible	15: moyenne	0	0	0
Ethanol		0	0	0	0	0

Tableau X: Diamètres des zones d'inhibition de différentes concentrations de l'extrait Éthanolique de *Calendula arvensis* L sur les bactéries à Gram positif et négative.

Extrait	Souches	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)/Profil de sensibilité					
		Concentration de l'extrait (mg/ml)	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Klebsiella Pneumoniase</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>	<i>Entérocooccus faecalis</i>
<i>Calendula arvensis</i> L		1mg/ml	20: Sensible	15: Moyenne	0	12: moyenne	0
		0.5mg/ml	18: Sensible	12: moyenne	0	0	0
		0.25mg/ml	15: moyenne	11: Moyenne	0	0	0
		0.125mg/ml	13: Moyenne	11: Moyenne	0	10 : moyenne	0
		0.06mg/ml	11: Moyenne	0	0	10 : moyenne	0
	Acide gallique	25: très Sensible	20: Sensible	0	17: moyenne	0	
	Ethanol	0	0	0	0	0	

L'activité antibactérienne de l'extrait a été estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des puits contenant des extraits éthanolique de *Pulicaria odora* L et *Calendula arvensis* L à différentes concentrations.

Dans notre étude, les souches bactériennes testées à Gram positif sont plus sensibles que les souches à Gram négative.

L'étude de l'activité antibactérienne de l'extrait polyphénolique de la plante *Pulicaria odora* L. a montré un effet sensible sur les deux souches de bactéries à Gram⁺ testées (*Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus*) avec des zones d'inhibition respectives de 16mm et 17mm. Cependant, La plante *Calendula arvensis* L possède un effet sensible sur *Bacillus cereus* avec une zone d'inhibition de 20mm. Par contre les souches de bactéries à Gram negative *Klebsiella pneumoniae* a un effet moyenne pour les deux plantes *Pulicaria odora* L et *Calendula arvensis* L avec des zones d'inhibition respectives 14mm, 15mm.

Contrairement à l'extrait éthanolique de *Pulicaria odora* L les souches *Pseudomonas* et *Entérocooccus faecalis* ont pas présenté d'effet inhibiteur avec les différentes concentrations. Cependant les souches *Staphylococcus aureus* et *Entérocooccus faecalis*.

D'après notre étude le témoin (acide gallique) a un effet sensible élevé par rapport des extraits éthanolique de *Pulicaria odora* L et *Calendula arvensis* L.

Concernant notre plante *Pulicaria odora* L, à notre connaissance, il n'existe aucune étude qui parle sur l'activité antimicrobienne ses extraits polyphénoliques, très peu de données ont été retrouvées concernant sa composition chimique et ses activités biologiques le peu de travaux disponibles sont été accentués sur l'effet des huiles essentielles.

D'ailleurs, d'après les travaux de **Hanbali et al. (2005)** et **Ezoubeiri et al. (2005)**, les huiles essentielles extraites des racines de cette plante se caractérisent par une activité antibactérienne. Cependant, des travaux menés avec différentes espèces du même genre, notamment des extraits de polyphénols méthanoïques de l'espèce *Pulicaria dysenterica* sont actifs sur des souches de *B. subtilis* et *S. aureus* confortant nos résultats (**Bahman et al., 2002**). Alors que **El-kamali et Mahjoub**. Ont démontré une sensibilité des mêmes souches bactérienne qu'on a étudiées (Gram⁺ et Gram⁻) aux extraits méthanolique et éthanolique de l'espèce *Pulicaria undulata*. Cette différence de sensibilité des souches microbiennes aux extraits biologiques peut être expliquée par une adaptation évolutive liée étroitement aux conditions biotiques (l'espèce elle-même) et abiotique (milieu).

D'après **Çolak et al. (2009)**, la sensibilité d'un microorganisme à un extrait dépend des propriétés de type de polyphénols et du microorganisme lui-même.

D'après plusieurs études, la différence dans la sensibilité des souches de Gram⁺ et de Gram⁻ aux extraits, peut être due à la différence de la structure des deux type des bactéries en effet, les bactéries Gram négatif sont généralement plus résistantes, l'absence d'activité chez ces bactéries est due à la présence d'une membrane externe qui possèdent des polysaccharides, protéines et des phospholipides dans leur paroi cellulaire servant comme barrière aux agents bioactifs (**Shtayeh et al., 1998; Çolak et al., 2009**).

De plus, **Trombetta et al., 2005**, ont conclu que l'effet antimicrobien des composés polyphénoliques est partiellement dû à une perturbation des fractions lipidiques de la membrane plasmique des bactéries. Alors que, ces composés phénoliques altèrent la perméabilité de la membrane et causant la perte de ses organites intracellulaires.

D'autres auteurs, **Dhaouadi et al. (2010)** suggèrent que l'effet antimicrobien des polyphénols induit l'inhibition de la croissance bactérienne suite à leur adsorption sur la membrane cellulaire et leur interaction avec les enzymes et les effecteurs ou la privation en Substrat étions métalliques.

Nos valeurs sont inférieures à celle enregistrées par **Hanbali et al. (2005)**, qui ont indiqué pour les huiles essentielles de *Pulicaria odora* L ont démontré qu'elle possède une très bonne activité sur *Bacillus cereus* avec un diamètre de 30mm pour une concentration de 5g/ml.

L'étude réalisée par **Hamid yousfi. (2015)**, sur l'extrait méthanolique de la plante *Pulicaria cripsa* à montrer pour la souche *Pseudomonas* une zone d'inhibition de 17 mm. Ce résultat ne concorde pas avec la notre. Et zone d'inhibition élevée contre *Staphylococcus* 29 mm cette valeur est supérieure à celle enregistré pour nos résultats.

L'étude réalisée par **Shtayeh et al. (1998)**, ont démontré que l'activité obtenue sur *Klebsiella pneumoniae* par l'extrait éthanolique de *Inula viscosa*, une espèce qui appartient à la famille des *Asteraceae*, a donné une zone d'inhibition de 9 mm pour une concentration de 200mg/ml d'extrait ces résultats et inférieur à nos résultats.

Ensuite l'étude de **Gherib et al. (2006)**, sur *Pulicaria Mauritanica* a démontré que l'huile essentielle de cette dernière possède une activité sur *Enterococcus faecalis* avec un diamètre de $22,7 \pm 1,5$ mm, ne concorde pas à nos résultats.

L'étude réalisée par **Abdumia. (2018)** ont démontré que l'activité obtenue sur les bactéries à Gram positive (*Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* SARM) par l'extrait méthanolique de *Calendula arvensis* L à des zones d'inhibition respectives de 15mm, 10mm et les bactéries à Gram négative (*Pseudomonas aeruginosa*) a donné une zone d'inhibition de 15mm. Ne concorde pas avec nos résultats.

D'autres études réalisées par **Karabegović et al. (2011)**, sur l'extrait méthanolique de la plante *Artemisia campestris* (*Asteraceae*) à montrer pour la souche *Bacillus subtilis* une zone d'inhibition de $20,5 \pm 0,3$ mm. Ce résultat concorde avec le nôtre.

II.5. Activité antifongique des extraits polyphénoliques de *Pulicaria odora* L et *Calendula arvensis* L

Les résultats d'antifongioGramme enregistrés par la méthode de contact direct sur gélose PDA additionnée de différentes concentrations de chaque extrait ont mentionnés dans le **(tableau XI)** ci dessus.

Tableau XI : Pourcentage d'inhibition de mycélium de moisissures après traitement par les extraits éthanolique de *Pulicaria odora* L et *Calendula arvensis* L.

Souches des moisissures	%d'inhibition de mycélium au 7em jour		
	Concentration de l'extrait (mg/ml)	<i>Pulicaria odora</i> L	<i>Calendula arvensis</i> L
<i>Aspergillus flavus</i>	0.375mg/ml	/	/
	0.625mg/ml	/	/
	1mg/ml	/	/
<i>Aspergillus niger</i> 1	0.375mg/ml	1,6 : résistante	3,3 : résistante
	0.625mg/ml	28,3:limité	16,6 : résistante
	1mg/ml	48,3:limité	41,6:limité
<i>Fusarium verticilium</i>	0.375mg/ml	27,2:limité	9,1 : résistante
	0.625mg/ml	30,9:limité	27,2:limité
	1mg/ml	70,9 : sensible	45,4:limité

Aspect des champignons *Fusarium verticilium*, *Aspergillus niger*1, *Aspergillus flavus* en présence de témoin éthanol par la méthode de contact direct mentionné dans (Annexe 7).

D'après ce tableau, on remarque que les pourcentages d'inhibitions de la croissance des souches de moisissure testés augmentent en parallèle à l'augmentation de la concentration des extraits des deux plantes (*Pulicaria odora* L et *Calendula arvensis* L) dans le milieu.

Cependant, la meilleure activité est observée avec *Pulicaria odora*L aussi bien pour la souche *fusarium verticilium* que pour la souche d'*Aspergillus niger* avec pourcentages d'inhibitions respectifs de 70,9% et de 48, 3%. Tandis qu'*Aspergillus flavus* présente une insensibilité totale aux deux substances naturelles étudiées. En effet, on observe chez cette souche d'*Aspergillus flavus*, que la croissance mycélienne est plus importante dans les boîtes traitées que dans la boîte témoin, ce qui prouve que ces extraits ne présentent aucune activité antifongique, mais plutôt certaines favorisent la prolifération et l'envahissement de mycélium.

D'après la classification de la sensibilité donnée par **Alcamo. (1984)** ; Et **Rotimi et al.(1988)**.

- **Résistante** : $0 \leq D \leq 25$
- **Limite** : $25 \leq D \leq 50$
- **Sensible** : $50 \leq D \leq 75$
- **Très sensible** : $75 \leq D \leq 100$

Aspergillus niger 1 a un effet limité pour l'extrait de *Pulicaria odora* L à Partir de la concentration 0,625 mg/ml et à partir de la 1mg/ml pour *Calendula arvensis* L. tandis que *fusarium verticilium* il présent un effet limité à partir de 0.375mg/ml pour *Pulicaria odora* L et partir de 0,625 mg/ml pour *Calendula arvensis* L, tandis que à la concentration de 1 mg/ml ce champignon est qualifier comme étant sensible.

Comparativement à d'autres travaux, on constate que notre résultat est en accord avec celui enregistré par **Foudah et al.(2015)**, lors d'une étude sur un autre genre de *Pulicaria* qui est *Pulicaria crispa* il ont indiqué un effet inhibiteur sur *Aspergillus niger* (DE 18mm) en utilisant un extrait méthanolique de cette plante.

D'autre part, **Karabegović et al. (2011)**, ont montré une forte activité antifongique d'*Artemisia campestris* et (*Asteraceae*) vis-à-vis *Aspergillus niger* avec une zone d'inhibition de $33,1 \pm 0,1$ mm.

D'après les résultats d'**Amine et al. (2017)**, L'extrait aqueux de *Calendula officinalis* L (*Asteraceae*). N'a exprimé aucune activité antifongique vis-à-vis *Fusarium oxysporum*, ne concorde pas à nos résultats

Cependant pour la souche d'*Aspergillus flavus*, et contrairement à notre résultat où la croissance mycélienne est plus importante dans les boites traitées que dans la boite témoin, l'étude de **Boussa, (2013)**, a permis de montrer que les composés phénoliques de *Pulicaria odora* L, sont dotés d'une bonne activité antifongique vis-à-vis ce champignon avec une zone d'inhibitions $17 \pm 0,57$ mm.

Le mécanisme d'action des extraits des plantes a été évalué aussi par plusieurs études. Certains chercheurs attribuent cette fonction aux composés phénoliques qui sont douées d'une activité antifongique. Ces composés peuvent altérer la structure de la membrane cellulaire, en inhibant la croissance mycélienne (**Ghani et al., 2008; Yan et al., 2008**).

Conclusion et perspectif

Conclusion

La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde entier sont riches en molécules bioactives à intérêts bénéfiques sur la santé humaine. Parmi ces plantes, *Pulicaria odora* L et *Calendula arvensis* L. qui sont deux plantes utilisées traditionnellement pour leurs vertus thérapeutiques vis-à-vis de plusieurs maladies. A cet effet, notre étude a pour objectif de déterminer la teneur en composés phénoliques, d'évaluer l'activité antimicrobienne (antibactérienne et antifongique) ainsi que l'activité antioxydante des extraits éthanoliques des parties aériennes de ces deux plantes.

La détermination de rendement d'extraction de a révélé que c'est *Calendula arvensis* L. qui a donné la valeur la plus élevée (12,93 %) contre 4,96% trouvé chez *Pulicaria odora* L. Après dosage de ces composés par la méthode de Folin Ciocalteu, les teneurs en polyphénols totaux obtenues ont été estimées à 72 et 200 mg EAG/g MS pour *Pulicaria odora* et pour *Calendula arvensis* L. respectivement. Cependant, le dosage des flavonoïdes par la méthode colorimétrique de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) a montré des teneurs plus proches 52 et 44 mgEQ/g MS pour *Pulicaria odora* L et *Calendula arvensis* L. respectivement.

L'activité antioxydante des extraits éthanoliques des deux plantes déterminés par la méthode du DPPH a montré que l'effet de l'extrait de *Pulicaria odora* est le plus important avec une IC_{50} de 65 μ g/ml tandis que celui *Calendula arvensis*, il a donné une IC_{50} de 80 μ g/ml.

Au cours de cette étude nous avons réalisé également un test antimicrobien vis-à-vis de quelques souches pathogènes (cinq souches bactériennes et trois souches fongiques), les résultats ont montré que les extraits éthanolique des feuilles de *Pulicaria odora* L et *Calendula arvensis* L agissent différemment sur les souches bactériennes testées dont on peut citer *Bacillus cereus* ATCC 6633 sur laquelle on a enregistré des zones d'inhibitions de 16mm et 20mm. Tandis que *Klebsiella pneumoniae* les zones d'inhibitions enregistrées ont été de 14mm et de 15mm. Pour les extraits de *P. odora* et de *C. arvensis* respectivement.

Concernant l'activité antifongique, les résultats ont montré que la souche *Fusarium verticillium* est sensible à l'extrait *Pulicaria odora* L et *Aspergillus niger 1* a un effet limité pour les deux extraits. On peut conclure que les extraits de notre plante exercent de bon effet biologiques et pourrons par conséquent être utilisée dans le traitement des maladies.

En perspectives, il est intéressant de compléter cette étude par:

- ❖ L'identification des composés phénoliques extraits par des techniques plus précises telles que l'HPLC, GS/SM.
- ❖ L'étude de l'influence d'autres méthodes d'extraction (par exemple : sonication, hydrodistillation) et type de Solvant sur le rendement d'extraction en composés

Conclusion

Polyphénoliques des deux plantes.

- ❖ L'élargissement de l'étude de l'activité antimicrobienne des extraits polyphénoliques sur d'autres espèces bactériennes pathogènes pour la santé humaine.
- ❖ L'évaluation de la performance de préparations combinées des extraits des deux plantes.

Références bibliographiques

A

- **Abbas A, Miloudi S. (2016).** Evaluation de l'activité antioxydante et antifongique d'une plante médicinale: *Pistacia lentiscus*. Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi, B.B.A.
- **Abdel-Hameed, E.S. (2009).** Total phenolic contents and free radical scavenging activity of certain Egyptian Ficus species leaf samples. Food Chem. 114:1271-1277.
- **Abudunia A-M. (2018).** Étude phytochimique, screening biologique et pharmacologique des fleurs de : *calendula arvensis*. Université Mohammed v, Rabat.
- **Akihisa T, Yasukawa K, Oinuma H, Kasahara Y, Yamanouchi S, Takido M, Kumaki K, Tamura T. (1996).** Triterpene alcohols from the flowers of compositae and their antiinflammatory effects. Phytochemistry 43.N°6.1255-1260.
- **Alcama E. I. (1984)** .Fundamentals of Microbiology. Edition Addison-Wesly publishing company, London p. 310-341; 617-699.
- **Ameenah G. F. (2006).** Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow Molecular Aspects of Medicine, 27: 1-93des sciences médicales.p120
- **Amirghofran Z, Azadbakht M, Karimi M-H. (2000).** Evaluation of the immunomodulatory effects of five Herbal plants.JEthnopharmacol. pp.16772.
- **Arabshahi D.S., Devi D.V.et Urooj A. (2007).** Evaluation of antioxidant activity of some plant extracts and their heat, pH and storage stability. Food Chem., 100: 1100-1105
- **Asolkar L-V, Kakkar K-K, Chakre O-J. (1992).** Part-1. New Delhi: Council of Scientific and Industrial Research. Glossary of Indian Medicinal Plants with Active Principles. p153.
- **Awen B.Z., Unnithan C.R., Ravi S., Lakshmanan A.J. (2010).** GC-MS analysis, antibacterial activity and genotoxic property of Erigeron mucronatus essential oil. Natural Product Communication, 5. P 621-624
- **Azzouzi S. (2016).** Etude phytochimique et biologique de Bituminaria bituminosa(L.) C.H. Stirton (*Fabaceae*) et Centaurea dimorpha Viv. (*Asteraceae*). Thèse doctora : phytochimie : Constantine : Université Mentouri Constantine, p12.

B

- **Bahman N., Gholan reza A., Parivash G.(2002).** Antimicrobial Activity of Pulicaria dysenterica L. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 1: 31-32.

- **Bahorun, T. (1997)** Substances naturelles actives : la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. Food and agricultural research council, Réduit, Mauritius. 83-94.
- **Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., ... & Pinkas, M. (1996).** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-forschung*, 46(11), 1086-1089.
- **Bakó E, Deli J, Tóth G .(2002).** HPLC study on the carotenoid composition of *Calendula products*. *J BiochemBiophys Methods*. 53, 241-50.
- **Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. (2016).** Methods for in vitro evaluating Antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71– 79. Doi: 10.1016/j.jpha.2015.11.005
- **Bamforth, C.W., (2000).** Perceptions of deer foam.*J.Inst.brew*, 106:229-38p.
- **Barkely T.M., Brouillet L., Strother J.L. (2006).** Flora of North America, *Asteraceae* Family. 19, 3-69.
- **Belabbes R. (2014).** Enquête ethnobotanique, caractérisation chimique et activités biologiques des volatils des deux plantes médicinales de l'ouest Algérien: *Calendula arvensis* L et *Carthamus sp* L. Université ABOU BEKR BELKAÏD, TLEMCCEN.
- **Belabbes R. (2014).** Enquête ethnobotanique, caractérisation chimique et activités biologiques des volatils des deux plantes médicinales de l'ouest Algérien: *Calendula arvensis* L et *Carthamus sp* L. Université Abou bekr Belkaïd, Tlemcen.
- **Belaiche, P. (1979).** Traité de phytothérapie et d'aromathérapie-TOME II'aromatogramme, vol. 1, 3 vols. Paris: MALOINE SA.
- **Bellakhdar J. (1997).** La pharmacopée traditionnelle marocaine. **Ibis Press. P 764**
- **Belyagoubi N., Benhammou N. (2011).** Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de Doctorat en Biologie – Option : Substances Naturelles, Activités biologiques et Synthèse, Université Aboubakr Belkaïd, (Tlemcen): p109
- **Benhouda A., yahia M. (2014).** Toxicity, analgesic and anti-pyretic activities of methanolic extract from hyoscyamus albus' leaves in albinos rats. *International journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*. Issn- 0975-1491 vol 6, issue 3
- **Bentabet Lasgaa, N. (2015).** Étude phytochimique et évaluation des activités biologiques de deux plantes Fredoliaaretioides et echiumvulgare de l'ouest algérien (Doctoral dissertation, Thèse de doctorat).

- **Bogs, J., Downey, M.O., Harvey, J.S., Ashton, A.R., Tanner, G.J. ET Robinson, S. P. (2005).** Proanthocyanidin Synthesis and Expression of Genes Encoding Leucoanthocyanidin Reductase and Anthocyanidin Reductase in Developing Grape
- **Berries and Grapevine Leaves. American Society of Plant Biologists, 139: 652-663.**
- **Bohm, B. A., & Stuessy, T. F. (2001).** Flavonoids of the sunflower family (*Asteraceae*). Springer Science & Business Media.
- **Boizot, N ; Charpentier, J.P. (2006)** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Méthodes et outils pour d'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques, INRA, p 79-82.
- **Bouakaz, I. (2006).** Etude phytochimique de la plante *Genista Microcephala* (Doctoral dissertation, Batna, Université El Hadj Lakhder. Faculté des sciences de l'ingénieur)
- **Bouhdid, S., Idaomar, M., Zhiri, A., Baudoux, D., Skali, N. S., and Abrini. J. (2006).** Thymus essential oils: Chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities. Biochimie, Substances Naturelles et Environnement.
- **Boumaraf M., Mekkiou R., Benyahia S., Chalchat J.C., Chalard P., Benayache F., Benayache S., (2016).** Essential Oil Composition of *Pulicaria undulata* (L.) DC. (*Asteraceae*) Growing in Algeria, International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research; 8(5). P 746-749.
- **Boussa Abdelhalim. (2013).** Séparation des composés phénoliques de *Pulicaria odora* par chromatographie et étude de leurs activités antimicrobiennes. Université A. MIRABEJAIA.
- **Boutaghane N. (2013).** Etude phytochimique et pharmacologique de plantes médicinales Algériennes *Genista ulicina* Spach (*Fabaceae*) et *Chrysanthemum macrocarpum* (Sch Bip) Coss et Kralik ex Batt (*Asteraceae*). Thèse doctorat : Pharmaco-chimie. Constantine: Université de Constantine, 158 p..
- **Bremer K., Gordon P., Dewolf JR. (1994).** *Asteraceae* cladistics and classification, Portland, 97 (890), 176-178.
- **Bruneton J. (1993).** Pharmacognosie phytochimie plantes médicinales –Tec & Doc, Lavoisier, Paris, p 915.
- **Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. médicales Internationales Ed : Tec & Doc, Cachan, p. 647-673.
- **Bssaibis F., Gmira N. & Meziane M. (2009).** Activité antibactérienne de *Dittrichia*

viscosa (L.) W. Greuter Rev. Microbiol. Ind. San. Environn. 3(1): 44-55.

C

- **CASFM, 2001.** Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.
- **Celiktas, O.Y, Bedir, E., Vardar Sukan, F., 2007.** In vitro antioxidant activities of Rosmarinus officinalis extracts treated with supercritical carbon dioxide. Food Chem. 101: 1457-1464.
- **Ćetković G-S, Dilas S-M., Brunet J-M, Tumbas, V-T. 2003.** Thin-layer chromatography Analysis and scavenging activity of marigold (*Calendula officinalis* L) extracts. Acta Periodica Technologica. 34, 93-102
- **Chaouche, Y,M., Haddouchi,F.,Zaouali ,Y.,Ksouri , R.,Attou,A.,&Benmansour,A 2013),** Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from four Ruta species growing in Algeria.Food chemistry ,141 (1);253-258.
- **Chauvet M. (2019).** Encyclopédie des plantes alimentaires. Belin, Paris.
- **Cherifi Lynda et Hami Alicia. (2017).** Activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de deux plantes : *pulicaria odora* et *smilax aspera* de la région de Tizi ouzou.UNIVERSITE MOULOUD MAMMARI DE TIZI OUZOU.
- **Clément, R. P. (2005).** Aux racines de la phytothérapie: entre tradition et modernité (1re partie). Phytotherapie, 3(4), 171-175.
- **Çolak F., Savaroğlu F., İlhan S. (2009).** Antibacterial and Antifungal Activities of Arum maculatum L. Leaves Extracts. Journal of Applied biological Sciences, 3(3): 13-16.
- **Collins ; Crouzet. (2011).** Polyphénols et procédés, Transformation des polyphénols au travers des procédés appliqués à l'agroalimentaires, Ed, Lavoisier, p6-17.
- **Conforti, F., Sosa, S., Marrelli, M., Menichini, F., Statti, G. A., Uzunov, D., ... & Menichini, F. (2009).** The protective ability of Mediterranean dietary plants against the oxidative damage: The role of radical oxygen species in inflammation and the polyphenol, flavonoid and sterol contents. Food Chemistry, 112(3), 587-594.
- **Conrad, J., Vogler, B., Klaiber, I., Roos, G., Walter, U., & Kraus, W. (1998).** Two triterpene esters from Terminalia macroptera bark. Phytochemistry, 48(4), 647-650.
- **Cooke D, Steward W-P, Gescher A-J, Marczyklo T.(2005).** Anthocyanins from fruits and vegetables—does bright colour signal cancer chemopreventive activity. European Journal of Cancer 41, 1931-1940.
- **Crete P. (1965) :** Précis de botanique. Masson, Paris, édition 2, P 429

D

- **Dahmani M.M. (2018).** Evaluation de l'activité biologique des polyphénols de *Carthamus caeruleus* L (*Asteraceae*). Université Mohamed bouguerre, Boumerdes.
- **Debuigne, G. (1974).** Larousse des plantes qui guérissent.
- **Delluc, L., (2004).** Identification et caractérisation fonctionnelle de deux gènes régulateurs du métabolisme des composés phénoliques de la baie de raisin. Thèse de doctorat de l'université Bordeaux, 310p
- **Dhaouadi, K., Raboudi, F., Estevan, C., Barrajon, E., Vilanova, E., Hamdaoui, M., & Fattouch, S. (2011).** Cell viability effects and antioxidant and antimicrobial activities of Tunisian date syrup (Rub El Tamer) polyphenolic extracts. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(1), 402-406.
- **Dutertre J., 2011.** Enquête prospective au sein de la population consultant dans les cabinets de médecine générale sur l'île de la Réunion : à propos des plantes médicinales, utilisation, effets, innocuité et lien avec le médecin généraliste. Thèse. Doc. Univ. Bordeaux 2 - Victor Segalen. U.F.R
- **Dutta-roy A K. (1999).** Molecular Mechanism of Cellular Uptake and Intracellular Translocation of α -Tocopherol: Role of Tocopherol-binding Proteins. *Food and Chemical Toxicology*, 37(9-10): 967-971.

E

- **El-Kamali, H. H., & Mahjoub, S. A. T. (2009).** Antibacterial activity of *Francoeuria crispa*, *Pulicaria undulata*, *Ziziphus spina-christi* and *Cucurbita pepo* against seven standard pathogenic bacteria. *Ethnobotanical Leaflets*, 2009(6), 6.
- **Ercetin T, Senol FS, Orhan IE, Tokerb G. (2012).** Comparative assessment of antioxidant and cholinesterase inhibitory properties of the marigold extracts from *Calendula arvensis* L. and *Calendula officinalis*. *Ind Crop Prod*; pp. 203-8
- **Ezoubeiri A., Gadhi C.A., Fdil N., Benharref A., Jana M., Vanhaelen M. (2005).** Isolation and antimicrobial activity of two phenolic compound from *Pulicaria odora* L. *Journal of Ethnopharmacology* 99. P 287–292.

F

- **Fadwa E.L.H., Mohamed A., Aicha E., Chamus E.A.G., Fouad M., Ahmed B., Amparo M.B., H. Bovra. (2005).** Chemical composition and Antibacterial Activity of Essential Oils of *Pulicaria odorae* L., *J. of E thnopharm.* 99 : 399-401.
- **Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N ., Trabelsi N ., Boulaaba**

M., Abdely C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities Comptes Rendus. Biologies 331:372–37.

- **Foudah A.I., Aftab A., Soliman A.G., Salkini M.A., Elmoustasim O.I. et al., (2015).** Pharmacognostical, antioxidant and antimicrobial studies of aerial part of *Pulicaria crispa* (Family: Asteraceae).

G

- **Gaci Yasmine ET Lahiani Samia. (2017).** Evaluation de l'activité antimicrobienne ET cicatrisante d'extraits de deux plantes de la Région de kabyle: *Pulicaria odora* L. et *Carthamus caeruleus* L. UNIVERSITÉ M'HAMED BOUGARA BOUMERDES.
- **Gausсен. H, Leroy. F. (1982).** Précis de botanique (végétaux supérieurs) ; France ; 2ème éd; 424-426 ; p592.
- **Generalic, I., Skroza, D., Surjaka, J., Mozinab, S.S., Ljubenkovic, I., Katalinic, A. Simate, V. and Katalinic, V. (2012).** Seasonal Variations of Phenolic Compounds and Biological Properties in Sage (*Salvia officinalis* L.). Chemistry & Biodiversity, 9. P 441-456.
- **Ghani, S. B. A., Weaver, L., Zidan, Z. H., Ali, H. M., Keevil, C. W., & Brown, R. C. (2008).** Microwave-assisted synthesis and antimicrobial activities of flavonoid derivatives. Bioorganic & medicinal chemistry letters, 18(2), 518-522.
- **Gherib, M., Chahrazed, B., El-Haci, I. A., Chaouche, T. M., & Bekkara, F. A. (2016).** Antioxidant and antibacterial activities of aerial part essential oil and some organic extracts from the Algerian medicinal plant *Pulicaria mauritanica* coss. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 7(1), 76.
- **González-Romero, M. A., Villaescusa-Castillo, L., & Díaz-Lanza, A. M. (2000).** Sesquiterpene lactones from *Inula Montana* L. Zeitschrift für Naturforschung C, 55(9-10), 697-700.
- **Grover R.K., Moore J.D. (1962).** Toximetric studies of fungicides against the brown rot organisms, *Sclerotinia fruticola* and *S. laxa*. Journal of Phytopathology 52, 876-880.
- **Grunwald J. Janick C. (2006).** Guide de la phytothérapie. 2ème édition. Italie : marabout.

H

- **Hamid Yousfi M. (2015).** Dépistage phytochimique et activité antimicrobienne de l'extrait entier de plante de *Pulicaria crispa*.
- **Hanbali FE, Akssira M, Ezoubeiri A, Gadhi CEA, Mellouki F, Benherraaf A, Amparo M. Blazquez AM and Boira H. (2005).** Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Pulicaria odorata*. *Journal of Ethnopharmacology*. 99, 399-401.
- **Harkati B. (2011).** Valorisation et identification structurale des principes actifs de la plante de la famille *Asteraceae* : *Scorzonera undulata*. Thèse doctorat : Chimie organique : Constantine Université de Mentouri Constantine, p 4
- **Hennebelle T, Sahpaz S, Bailleul F. (2004).** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif.
- **Holder, I. A., & Boyce, S. T. (1994).** Agar well diffusion assay testing of bacterial susceptibility to various antimicrobials in concentrations non-toxic for human cells in culture. *Burns*, 20(5), 426–429. Doi: 10.1016/0305-4179(94)90035-3.
- **Holderness, J., Hedges, J.F., Daughenbaugh, K., Kimmel, E., Graff, J., Freedman, B. ET Jutila, M.A. (2008).** Response of $\gamma\delta$ T cells to plant-derived tannins. *Critical Review of Immunology*, 28(5): 377-402.
- **Hopkins, W. G. (2003).** Physiologie végétale. De Boeck Supérieur.
- **Huang W., Zhong C.Y., Zhang Y. (2009).** Natural phenolic compounds from medicinal herbs and dietary plants: Potential use for cancer prevention. *Nutrition and Cancer* 62(1) : 1–20
- **Hygerman A. E and Larry G. B. (1988).** Choosing appropriate methods and standards for assaying tannin. *Journal of Chemical Ecology* 15(6): 1795-1810.

I

- **Iserin P. (2001).** Encyclopédie des plantes médicinales. Édition Larousse.

J

- **Jimenez-Medina E, Garcia-Lora AM, Paco L, Algarra I, Collado A, Garrido. (2006).** A new extract of the plant *calendula officinalis* produces a dual in vitro effect: cytotoxic anti-tumor activity and lymphocyte activation. *BMC Cancer*.5; 6(1) pp. 119.

K

- **Kalvatchev Z, Walder R, Garzaro. (1997).** Anti-HIV activity of extracts from *Calendula officinalis* flowers. *Biomed Pharmacother* P; 51(4) pp.176-8.
- **Karabegović I, Nikolova M, Veličković D, Stojičević S, Veljković V et Lazić M. (2011).** Comparison of Antioxidant and Antimicrobial Activities of Methanolic Extracts of the *Artemisia sp.* Recovered by Different Extraction Techniques. *Chinese Journal of*

Chemical Engineering, 19 (3): 508.

- **Khalid, Khalid A. ET DA SILVA, Jaime A. Teixeira. (2010).** Yield, essential oil and pigment content of *Calendula officinalis* L. flower heads cultivated under salt stress conditions. *Scientia horticulturae*, Vol. 126(2), 297-305.
- **Khallili Adel Raouk.M. (2001).** Phytofungitoxic proprieties with aqueous extract of some plants. *Pakistan journal of biological sciences* 4 (4), 392-394.
- **Khanbabaee, K. ET Ree, T.R. (2001).** Tannins: Classification and Defenition. *Journal of Royal Society of Chemistry*, 18: 641-649.
- **Kosalec, I., Bakmaz, M., Pepeljnjak, S., & Vladimir-Knezevic, S. A. N. D. A. (2004).** Quantitative analysis of the flavonoids in raw propolis from northern Croatia. *ACTA PHARMACEUTICA-ZAGREB-*, 54(1), 65-72).
- **Krief, S., (2003).** Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, thèse doctorat, muséum national d'histoire naturelle. P32.
- **Kritli D. (2011).** Etude chimique et microbiologique de l'huile essentiel de calendula arvensis. SAAD DAHLAB, Blida
- **Kwon, J. Y., Dahanukar, A., Weiss, L. A., & Carlson, J. R. (2007).** The molecular basis of CO2 reception in *Drosophila*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(9), 3574-3578.

L

- **Laib, I., & Barkat, M. (2011).** Composition chimique et activité antioxydante de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandou officinalis*.
- **Lavagne A. (2006).** La végétation des bas-marais du vallon du Lauzanier Larche (Alpes-de-Haute-Provence, France) -.06, p. 41- 57 - Départ. /Région : *Le Journal de Botanique*, 1, N°34.
- **Lehbili M. (2018).** Étude phytochimique et biologique de trois espèces Algériennes : *Calendula stellata*. (*Asteraceae*), *Scabiosa stellata* L. (*Caprifoliaceae*) et *Salviabarrelieri*Etl. (*Lamiaceae*) université frères mentouri-constantine 1 faculté des sciences exactes département de chimie.
- **Liu, H., Qiu, N., Ding, H., & Yao, R. (2008).** Polyphenols contents and antioxidant Capacity of 68 Chinese herbals suitable for medical or food usent. *Food Research International*, 41(4), 363-370.
- **Lutge U ; Klnge M, Bauer G. (2002).** *Botanique 3eme Ed : Technique et documentation*. Lavoisier, Paris. P211.

M

- **Maataoui, B.S., Hmyene, A., Hilali, S. (2006).** Activités anti-radicalaires d'extraits de jus de fruits du figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*). *Lebanese Science Journal*. 7: 3-8.
- **Maisuthisakul, P., Pasuk, S., Ritthiruangdej, P. (2008).** Relationship between antioxidant properties and chemical composition of some Thai plants. *J Food Composition and Analysis*. 21: 229-240.
- **Mapola G. (2003).** Variations individuelle et saisonnière de la teneur et de la composition des huiles essentielles d'*E. citriodora* acclimaté à Pointe-Noire (Congo-Brazzaville). Mémoire de diplôme d'étude approfondie en chimie et technologie Alimentaire. Université Marien Ngouabi. 5-9p.
- **Markowicz Bastos, D.H., Saldanha, L.A., Catharino, R.R., Sawaya, A.C.H.F., Cunha, I B S., Carvalho, P.O. Eberlin, M.N. (2007).** Phenolic Antioxidants Identified by ESI-MS from Yerba Maté (*Ilex paraguariensis*) and Green Tea (*Camelia sinensis*) Extracts. *Molecules*. 12: 423-432.
- **Matkowski, A., & Piotrowska, M. (2006).** Antioxidant and free radical scavenging activities of some medicinal plants from the *Lamiaceae*. *Fitoterapia*, 77(5), 346-353.
- **Meddour R., Mellal H., Meddour-Sahar O., Derridj A. (2009).** La Flore Médicinale et ses Usages en Kabylie (wilaya de Tizi- Ouzou, Algérie) : Quelques résultats d'une Etude Ethnobotanique. Faculté des Science Biologique et Science Agronomique, Université de Mouloud Mammeri, BP17 RT, 15 000, Tizi- Ouzou, Algérie. p. 184,195.
- **Messai L. (2011).** Etude phytochimique d'une plante médicinale de l'est algérien (*Artemisia herba alba*). Thèse Doctorat : Phytochimie : Constantine : Université de Mentouri Constantine, p12-26.
- **Mezache N. (2010).** Détermination structurale et évaluation biologique de substances naturelles de quelques espèces de la famille *Asteraceae* : *Senecio giganteus* Desf. Et *Chrysanthemum myconis* L. Thèse Doctorat: Phytochimie: Constantine : Université Mentouri Constantine, p 4-5.
- **Michellin Kan sole R. (2009).** Etude ethnobotanique phytochimique et activités biologiques de quelques *lamiaceae* du Burkinafaso. Diplôme d'études approfondies (D.E.A). Université Ouagadougou, p76.

- **Michiels Ja, Kevers C, Pincemail J, Defraigne Jo, Dommes J. (2012).**Extraction conditions can greatly influence antioxidant capacity assays in plant food matrices. Food Chemistry, (130):986–993
- **Milardović, S., Iveković, D., & Grabarić, B. S. (2006).** A novel amperometric method for antioxidant activity determination using DPPH free radical. Bioelectrochemistry, 68(2), 175-180.
- **Muley B-P, Khadabadi S-S, Banarase N-B. (2009).** phytochemical constituents and pharmacological activities of *Calendula officinalis* L. (*Asteraceae*): a review. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 8 (5), 455- 465.

N

- **Nathan, P., Law, E. J., Murphy, D. F., & MacMillan, B. G. (1978).** A laboratory method for selection of topical antimicrobial agents to treat infected burn wounds. Burns, 4(3), 177-187.

O

- **Owen, P. L., & Johns, T. (1999).** Xanthine oxidase inhibitory activity of northeastern North American plant remedies used for gout. Journal of ethnopharmacology, 64(2), 149-160.

P

- **Paolini J, Barboni T, Desjobert J-M, Djabou N, Muselli A, Costa J. (2010).** Chemical composition, intraspecies variation and seasonal variation in essential oils of *Calendula arvensis* L. Biochemical Systematics and Ecology. 38, 865- 872.
- **Parejo, I., Viladomat, F., Bastida, J., Rosas-Romero, A., Saavedra, G., Murcia, M. A. & Codina, C. (2003).** Investigation of Bolivian plant extracts for their radical scavenging activity and antioxidant activity. Life Sciences, 73(13), 1667-1681.
- **Paris, M., et Hurabielle, M., (1981).** Matière médicale (pharmacognosie). Ed. Masson, T. 1, Paris, 26-67p.
- **Petrović L, Lepojević Z, Sovilj V. (2010).** Composition of essential oil obtained from tubular, head and ligulate flowers of *Calendula officinalis* L. By steam distillation of plant material and CO₂ extracts. Journal of Essential Oil Research, 22(2), 143-146.
- **Pizza, C., & De Tommasi, N. (1988).** Sesquiterpene glycosides based on the alloaromadendrane skeleton from *Calendula arvensis*. Phytochemistry, 27(7), 2205-2208.
- **Prescrire. (2007).** Bien utiliser les plantes en situations de soins, numéro spécial 2007, T. 27, n°286.

Q

- **Quézel P., Santa S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II, C.N.R.S. Paris. 902-1087.

R

- **Rameau J.C., Mansion D., Dumé G., Gauberville C. 2008.** Flore forestière française. Tome II, Région méditerranéenne, 2419p. Roubaudi L. 2011. Compte rendu de la section botanique dans les îles d'hygères du 14 au 16 mai 2011. In Bulletin mensuel de la société linnéenne de Lyon, 80 (9-10) : 227-238
- **Rejeb, I. (2008).** Etude de l'effet de l'irradiation sur les polyphénols de curcumin. Centre National des Sciences et Technologie Nucléaires. Université du 7 novembre à Carthage ,5-6.
- **Ribéreau-Gayon P. (1968).** Les composés phénoliques des végétaux. Ed: Dunod.Paris, P: 173 201.
- **Rivero-Cruz, J. F., Granados-Pineda, J., Pedraza-Chaverri, J., Pérez-Rojas, J. M., KumarPassari, A., Diaz-Ruiz, G., & Rivero-Cruz, B. E. (2020).** Phytochemical constituents, antioxidant, cytotoxic, and antimicrobial activities of the ethanolic extract of Mexican brown propolis. Antioxidants, 9(1), 70.
- **Rotomi V.O., Laughon B.E., Bartlett J.G. Mosadomi H.A. (1988).** Activities of Nigerian chewing stick extracts against *Bacteriodes gingivalis* and *Bacteriodes melaninogeniticus*. Antimicrobial agents and chemotherapy, 32, 598, 600.

S

- **Samouelian F, Gaudin V, Boccara M. (2009).** Génétique moléculaire des plantes. Edition Quae, p 21, 22. Sanchez-moreno, C. methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. International journal of foods science and technology, 2002, vol.8, n°3, pp.121-137
- **Sánchez-Moreno, C. (2002).** Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. Food science and technology international, 8(3), 121-137.
- **Schofield, P., Mbugua, D. M., & Pell, A. N. (2001).** Analysis of condensed tannins: a review. Animal feed science and technology, 91(1-2), 21-40.
- **Sebai Mohammed, Boudali Mohammed. (2009/2012).** La phytothérapie entre la confiance et méfiance, mémoire professionnelle Institut de formation paramédical CHETTIA. Alger. P 11.

- **Seidel V. (2005).** Initial and Bulk Extraction. In: Sarker S D, Latif Z and Gray A I. Natural products isolation. Edition: Humana Press (Totowa). pp.27-37
- **Semple J.C. & Watanabe K. (2009).** A Review of Chromosome Numbers in Asteraceae with Hypotheses on Chromosomal Base Number Evolution. Chapter 4 Pp.61-72 in Funk V.A., Susanna A., Stuessy T.F., Bayer R.J. (editors). Systematics, Evolution, and Biogeography of Compositae. International Association for Plant Taxonomy, Vienna.
- **Shtayeh A., Yaghmour R., Faidi Y., Salem K., Al Nuri M. (1998).** Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Pal E'stinian area. Journal of Ethnopharmacology, 60: 265-271.
- **Silwowski, J, Dziewanowska K, Kasprzyk Z. (1973).** Ursadiol: A new triterpenediol from *Calendula officinalis* flowers. Phytochemistry. 12, 157–1.
- **Singh G. (2004).** Plant Systematics: An Integrated Approach. Science Publishers.
- **Spigno, G., Tramelli, L., & De Faveri, D. M. (2007).** Effects of extraction time, Temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. Journal of food engineering, 81(1), 200-208.
- **Suzanne, A. (2002).** Seed to Seed: Seed Saving and Growing Techniques for Vegetable Gardeners.

T

- **Talbi, H., Boumaza, A., El-Mostafa, K., Talbi, J., & Hilali, A. (2015).** Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L. Journal of Materials and Environmental Science, 6(4), 1111-1117.
- **Tapiero, H., Tew, K. D., Ba, G. N., & Mathe, G. (2002).** Polyphenols: do they play a role in the prevention of human pathologies? Biomedicine & pharmacotherapy, 56(4), 200-207.
- **Tawaha, K., Alali, F. Q., Gharaibeh, M., Mohammad, M., & El-Elimat, T. (2007).** Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. Food chemistry, 104(4), 1372-1378.
- **Teixeira B., Marques A., Ramos C. (2013).** Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. Industrial Crops and Products, 43: 587– 595.
- **Tela Botanica, (2020).** Fiche flore des *Asteraceae*. (En ligne) (Version : 27 avril 2020. <https://www.tela-botanica.org/projets/phytosociologie>.

- **Touati N., Casas L., Martinez de la ossa E., Bejou F., (2014).** Green extraction methods of antioxydants from *Pulicaria odora*.
- **Touati, N., Saidani, K., Boudries, H., Hammiche, H., Ouazene, N., & Bedjou, F. (2018).** Antibacterial activity of phenolic compound of *Pulicaria odora*, wild plant in northern Algeria. *International Food Research Journal*, 25(5), 2021-2030.
- **Trombetta, D., Castelli, F., Sarpietro, M. G., Venuti, V., Cristani, M., Daniele, C. ... & Bisignano, G. (2005).** Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 49(6), 2474-2478.

U

- **Ukiya M, Akihisa T, Yasukawa K, Tokuda H, Suzuki T, Kimura Y. (2006).** Anti-inflammatory, anti-tumorpromoting, and cytotoxic activities of constituents of marigold (*Calendula officinalis*) flowers. *J. Nat. Prod.* 69,1692-1696.
- **Usher, G. (1966).** A dictionary of botany, including terms used in biochemistry, soil science and statistics constable & Co Ltd, London.

V

- **Valnet J. (1984).** Aromathérapie. Traitement des maladies par les essences des plantes. Maloine S.A. éditeur. Paris. 544p.

W

- **Wallace R.J. (2004).** Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. *Proceedings of Nutrition Society.* (63): 621-629.
- **Wichtel M. And Anton R. (1999).** Plantes thérapeutiques: tradition, pratiques officinales, science et thérapeutiques. Ed. Tec ET Doc. Sciences. Two: 25-32
- **Wichtl M., Anton R. (2003).** Plantes thérapeutiques – Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique, 2ème édition, Ed. TEC & DOC.
- **Wichtl M., Anton R. (2009).** Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Édition LAVOISIR, Paris: 38, 41
- **Wilkomirski B, Kasprzyk Z. (1979).** Free and ester bound triterpene alcohols and sterols in cellular subfractions of *Calendula officinalis* flowers. *Phytochemistry.* 18, 253-255.
- **Willem J.P. (2009).** 60 maux soignés par les huiles essentielles : l'aromathérapie au quotidien pour toute la famille, Les mini pockets de santé. P: 7-17.
- **Williams CA, Harborne JF, GreenhamRJ, Grayer RJ, Kite GC and Eagles J. (2003).** Variations in lipophilic and vacuolar flavonoids among European *Pulicaria*

species. *Phytochemistry*. 64, 275-283.

- **Wojdyło, A., Oszmiański, J., & Czemerys, R. (2007).** Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food chemistry*, 105(3), 940-949.
- **Wong, C. C., Li, H. B., Cheng, K. W., & Chen, F. (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.

Y

- **Yan, D., Jin, C., Xiao, X.-H., & Dong, X.-P. (2008).** Antimicrobial properties of berbérines alkaloid in *Coptis chinensis* Franch by microcalorimetry. *Journal of biochemical and Biophysical methods*, 70(6), 845-849.
- **Yoshikawa M, Murakami T, Kishi A, Kageura T, Matsuda H. (2001).** Medicinal flowers. III. Marigold. (1):Hypoglycemic, gastric emptying inhibitory, and gastro protective principles and new oleanane-type triterpeneoligoglycosides, calendasaponins A, B, C, and D, from Egyptian *Calendula officinalis*. *Chem. Pharm. Bull.* 49, 863-870.

Annexe

Annexe 1 : Les espèces connues du genre *Calendula* (Abudunia, 2018).

<i>Espèces</i>	<i>Synonymes</i>
<i>C. aegyptiaca</i>	<i>C. subinermis</i>
	<i>C. gracilis</i>
	<i>C. ristalgalli</i>
	<i>C. malvaecarpa</i>
	<i>C. echinata</i>
	<i>C. platycarpa</i>
	<i>C. malveacarpa</i>
<i>C. arvensis</i>	<i>C. parvijlora</i>
	<i>C. stellata</i>
	<i>C. siculla</i>
<i>C. monardi</i>	<i>C. undulata</i>
	<i>C. officinalis</i>
<i>C. tomentosa</i>	<i>C. incana</i>
<i>C. suffruticosa</i>	<i>C. stellata</i>

Annexe 2 : Matériels utilisés en laboratoire.

Appareils	Verreries et matériels plastiques	Solvants, réactifs et milieux de culture
<ul style="list-style-type: none"> • Spectrophotomètre • Rota vapeur • Etuve • Autoclave • Bec bunsen • Réfrigérateur • Haute • Balance 	<ul style="list-style-type: none"> • Becher • Erlenmayer • Fioles • Tubes à essai • Ependorffs • Pilulier • Lames et lamelles • Cuvette • Ecouvillon • Pince • Anse de platine • Boîtes de pétri • Papier filtre • Embouts • Micropipette 	<ul style="list-style-type: none"> • Solvants et acides : Ethanol, Chloroforme, acétate de sodium, KI, ammoniac, Iode, hydroxyde de potassium, acide sulfurique, chlorure de fer, carbonate de sodium, trichlorure d'aluminium, acide gallique, quercitine. • Réactifs : Folin-Ciocalteu. • Milieu de culture : Gélose nutritive Gélose Mueller Hinton.Pda

Annexe 3 : Composition des milieux de culture utilisés, préparation pour 1L d'eau distillée (Sodium Igor, 2002).

Gélose nutritive	Gélose Mueller Hinton	Gélose PDA
- 1g d'extrait de viande.	- 300 ml d'infusé de bœuf.	-Filtrat de pomme de
- 2g d'extrait de levure.	- 17.5g peptone de caséine.	terre250 g
- 5g de chlorure desodium.	- 17g d'agar.	-Glucose 20 g
- 20g d'agar.	- Eau distillé. (1L pour 38gdu mélange).	-Agar 20 g
- Eau distillé. (1L pour 28gdu mélange).	- PH 7,4.	
- PH 7,4.		

Annexe 4 : Préparation des solutions.

- **Solution de chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 2%**

Dissoudre 2 g d'AlCl₃ dans100ml d'éthanol.

- **Préparation de réactif Folin-Ciocalteu**

10 ml de réactif Folin-Ciocalteu dans100ml d'eau distillé.

- **Solution de carbonate de sodium**

g de carbonate de sodium dans 100ml d'eau distillé.

- **Solution de l'acide gallique**

de l'acide gallique dans 50 ml d'éthanol.

- **Dilution à partir de la solution mère**

On applique la règle Avec :

$$(C_1V_1= C_2V_2)$$

C₂ : la concentration de la solution diluée que l'on veut préparer

V₂ : le volume connu de la solution diluée

C₁ : concentration de la solution mère

V₁ : le volume inconnu de la solution mère qu'il faut prélever

Annexe 5 : Mode opératoire de l'acide gallique.

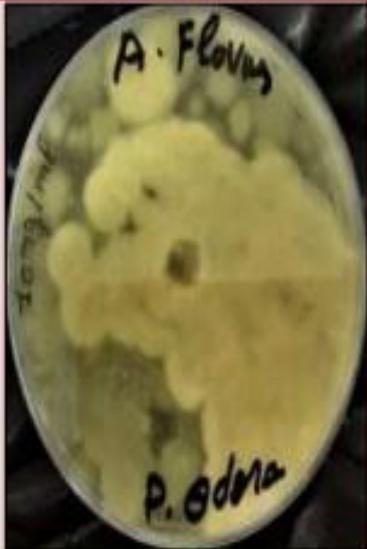
- Solution mère contient 1mg d'acide gallique/ml d'éthanol.
- 1ml de chaque solution a été introduit dans des tubes contient 1ml d'éthanol.
- 0,5 ml acide gallique dilué avec un volume de 5,5 ml du réactif de Folin-Ciocalteu (10 fois dilué dans l'eau).

- Après 3min, 0,5 ml de carbonate de sodium Na_2CO_3 ont été ajoutés.
- Les solutions sont maintenues à l'obscurité pendant 1h 30min à température ambiante.
- La lecture de l'absorbance de chaque solution a été effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 765 nm contre un blanc qui contient de l'éthanol à la place d'acide gallique.

Annexe 6 : Mode opératoire de quercitine

- Solution mère contient mg quercitine/ml d'éthanol 1ml de chaque solution a été introduit dans des tubes contient 1ml d'éthanol
- Un volume de 1ml de trichlorure d'aluminium a été additionné dans chaque tube contient 0.5ml de chaque solution diluée.
- Les solutions sont maintenues à l'obscurité pendant 1h à température ambiante.∞
- La lecture de l'absorbance de chaque solution a été effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 430 nm contre un blanc qui contient de l'éthanol à la place de quercitine

Annex 07 : Aspect des champignons en présence de témoin éthanol par la méthode de contact direct.

Souches des moisissures	Extraits C mg/ ml	0.375mg/ml	0.625mg/ml	1mg/ml
		<p><i>Aspergillus flavus</i></p>		
<i>Pulicaria odora</i> L.				
	<i>Calendula arvensis</i> L.			
Témoin (Ethanol)				

Aspergillus Niger I

Pulicaria odora L.



Calendula arvensis L.



Témoin (éthanol)



Fusarium verticillium

Témoïn (éthanol)



Calendula arvensis L.



Pulicaria odora L.



Résumé

Pulicaria odora L et *Calendula arvensis* L sont deux plantes largement utilisées en médecine traditionnelle en Algérie. Ce qui nous a incités à la réalisation de ce présent travail qui porte sur l'étude de la teneur en polyphénols totaux, la teneur en flavonoïdes, les activités antioxydante et antimicrobienne de leur extrait éthanolique. Les rendements d'extractions des polyphénols des deux plantes *Pulicaria odora* L et *Calendula arvensis* L. Sont respectivement de 4,96% et 12,93%. Le dosage des polyphénols a montré des teneurs respectives de $72 \pm 0,0002$ mg EAG/g et $200 \pm 0,0005$ mg EAG/g. Le dosage des flavonoïdes a montré des teneurs respectives de $52 \pm 0,009$ mg Eq/g MS et $44 \pm 0,002$ mg Eq /g MS. En outre l'activité antioxydante a révélé des IC₅₀ de l'ordre de 65µg/ml, 80 µg/ml, contre 50µg/ml pour l'acide ascorbique. L'activité antimicrobienne a été déterminée sur cinq souches ; *Pseudomonas*, *klebsiella pneumoniae*, *Bacillus cereus*, *staphylococcus aureus*, *Entérococcus faecalis* et trois souches fongiques. Les résultats indiquent que les extraits des deux plantes possèdent une activité antibactérienne sur des bactéries Gram+ et bactéries Gram-, avec des diamètres plus au moins différents. Concernant les résultats de l'activité antifongique les extraits de deux plantes ont été prometteurs.

Mots clés : *Pulicaria odora* L, *Calendula arvensis* L, polyphénols, flavonoïdes, extraction, activité antioxydante, activité antimicrobienne.

Abstract

Pulicaria odora L and *Calendula arvensis* L are two plants widely used in traditional medicine in Algeria. This prompted us to carry out this work, which deals with the study of the total polyphenols content, the flavonoids content, the antioxidant and antimicrobial activities of the different extractions of two regions bouira and Tizi ouzo. The extraction yields of polyphenols of the two plants *Pulicaria odora* L and *Calendula arvensis* L. Are respectively 4.96% and 12.93%. Polyphenols were measured at 72 ± 0.0002 mg EAG/g and 200 ± 0.0005 mg EAG/g respectively. Flavonoids were measured at 52 ± 0.009 mg Eq/g MS and 44 ± 0.002 mg Eq/g MS respectively. In addition, the antioxidant activity was carried out using the DPPH method, characterized by IC₅₀ values of 65µg/ml, 80µg/ml, compared with 50 µg/ml for ascorbic acid. The antimicrobial activity was determined on five pathogenic microbial strains namely two Gram negative bacterial strains *Pseudomonas*, *klebsiella pneumoniae* and three Gram positive bacterial strains *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* and three fungal strains *Aspergillus Flavus*, *Aspergillus niger* 1, *Fusarium verticilium*. The results indicate that the extracts of both plants have antibacterial activity on Gram+ and Gram-bacteria, with at least different diameters. Concerning the results of the antifungal activity, the extracts of two plants possess an antifungal activity.

Keywords: *Pulicaria odora* L, *Calendula arvensis* L, phytochemical, polyphenols, flavonoids, extraction, antioxidant activity, antimicrobial activity.

ملخص

Pulicaria odora L و *Calendula arvensis* L هما نباتان يستخدمان على نطاق واسع في الطب التقليدي في الجزائر. وقد دفعنا هذا إلى القيام بهذا العمل الذي يتناول دراسة المحتوى الكلي للبوليفينول، ومحتوى الفلافونويد، ومضادات الأكسدة ومضادات الميكروبات من عمليات الاستخراج المختلفة لمنطقتين البويرة وتيزي أوزو. كانت حصيلته استخلاص البوليفينول للنباتين *Pulicaria odora* L و *Calendula arvensis* L. على التوالي 4.96% و 12.93% على التوالي. تم قياس البوليفينول عند 72 ± 0.0002 مجم EAG / جم و 200 ± 0.0005 مجم EAG / جم على التوالي. تم قياس مركبات الفلافونويد عند 52 ± 0.009 مجم مكافئ / جرام MS و 44 ± 0.002 مجم Eq / g MS على التوالي. بالإضافة إلى ذلك، تم إجراء الفعالية المضادة للأكسدة باستخدام طريقة DPPH، والتي تتميز بقيمة IC₅₀ البالغة 65 ميكروجرام / مل، 80 ميكروجرام / مل، مقارنة بـ 50 ميكروجرام / مل لحمض الأسكوربيك. تم تحديد النشاط المضاد للميكروبات على خمس سلالات جرثومية ممرضة وهي سلالتين من البكتيريا سالبة الجرام *Pseudomonas* و *klebsiella pneumoniae* وثلاث سلالات بكتيرية موجبة الجرام *Bacillus cereus* و *Staphylococcus aureus* و *Enterococcus faecalis* وثلاث سلالات فطرية *Aspergillus Flavus* و 1. تشير النتائج إلى أن مستخلصات كلا النباتين لها نشاط مضاد للجراثيم على البكتيريا الجرام + والجرام، بأقطار مختلفة على الأقل. فيما يتعلق بنتائج النشاط المضاد للفطريات، تمتلك مستخلصات نباتين نشاطاً مضاداً للفطريات.

تاملكلا آيسينرلا

Pulicaria odora L ، *Calendula arvensis* L ، البوليفينول ، الفلافونويد ، الاستخراج ، النشاط مضادات الأكسدة، نشاط مضاد للميكروبات.

