

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université de Ghardaïa

N° d'ordre :

N° de série :

Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre

Département de Biologie

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de

**MASTER**

**Domaine** : Sciences de la nature et de la vie

**Filière** : Ecologie et environnement

**Spécialité** : Sciences de l'environnement

**Par** : MOULAYOMAR Rachida

**Thème**

Activités biologiques des extraits aqueux de  
*Rhanterium adpressum* (Asteraceae)

Soutenu publiquement le : .../.../2016

**Devant le jury :**

M.KEMASSI .A

Maître conférence A

Univ. Ghardaïa

**Président**

M .TELLI.A

Maître Assistant A

Univ. Ghardaïa

**Encadreur**

M. BOURAS. N

Maître conférence A

Univ. Ghardaïa

**Examineur**

M.BENBEKHTI. Z

Maître Assistant A

Univ. Ghardaïa

**Examineur**

**Année universitaire 2015/2016**

## *Dédicace*

*Je dédie ce travail à mes parents*

*Qu'ils trouvent ici toute ma gratitude*

*A mes sœurs et mes frères et mes belles sœurs*

*A mes neveux Et mes nièces*

*A mes tantes et mes oncles*

*A mes cousins et mes cousines*

*A ma tante djamaa qui m'aide à la récolte*

*A tous mes amis et tous qui m'a connu de près  
ou de loin*

*Rachida*

# Remerciements

*Avant tout je remercie ALLAH qui nous a donné la santé et la force pour aboutir à nos ambitions et de terminer ce travail.*

*J'aimerais tout d'abord témoigner nos profondes reconnaissances à Melle TELLI ALAI, notre encadreur, pour sa grande patience, sa générosité, son soutien et la facilité, qu'il a apportée afin que ce travail s'achève dans les meilleures conditions possibles.*

*Je remercie aussi Mr. KEMASSI A .d'avoir accepté de présider le jury de ce mémoire, pour ces conseils,*

*De même je remercie Mr BOURAS N et BENBEKHTI Z .d'avoir accepté d'examiner notre humble travail.*

*Je tiens également à remercier Mr MESSITFA N. MERYAME pour leurs apports dans notre formation Dans laboratoire*

*A tous les enseignants du Département Science de la nature et de la vie, qui ont contribué à notre formation.*

*A tous le groupe de Science de l'Environnement 2014-2015*

*Encore Merci.*

## Activités biologiques d'extrait aqueux de *Rhanterium adpressum* (Asteraceae)

### Résumé

*Rhanterium adpressum*(Asteraceae) est une plante endémique du Sahara Algérien, connu sous le nom « Aarfadj », utilisée en médecine traditionnelle comme antidiurétique. L'objectif de cette étude est de quantifier certaines classes des composés phénoliques et d'évaluer les activités biologiques des extraits aqueux obtenus selon les modes traditionnels de préparation (décoction, infusion et macération) de *Rhanterium adpressum*.

Les résultats obtenus ont montré que la décoction présente les meilleures valeurs de rendement, polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés et qui sont respectivement  $(8,4\pm 1,069\%$  ;  $21,75\pm 1,32\text{mgEAG/g}$  ;  $4,74\pm 0,49\text{mgER/g}$  ;  $2,534\pm 0,134\text{mgEC/g}$ ), tandis que la macération a le taux le plus important des acides phénols cependant qui est de l'ordre de  $2,67\pm 0,13\text{mgEAC/g}$ .

L'évaluation de l'activité anti-oxydante a été effectuée par trois méthodes différentes : ABTS, DPPH et FRAP. La macération présente les meilleures activités inhibitrices de radical cation d'ABTS<sup>•+</sup> et de radical DPPH qui sont  $(3370,63\pm 44,79\mu\text{MET/g}$  et  $4600,90\pm 120,59\mu\text{MET/g}$ ) respectivement. Le meilleur pouvoir réducteur de fer est enregistré pour la décoction qui est de l'ordre de  $2885,71\pm 566,63\mu\text{MET/g}$ .

L'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits aqueux de *Rhanterium adpressum* *Escherichia coli* (bacille Gram-), *Proteus mirabilis* (bacille Gram-) et *Micrococcus luteus* (cocci Gram+). Montre que ces extraits ont une faible capacité à l'inhiber la croissance bactérienne.

**MOTS-CLÉS** : *Rhanterium adpressum*, Sahara Algérien, composés phénoliques, activité antioxydant, activité antibactérienne.

## **Biological activities of aqueous extract of *Rhanterium adpressum* (Asteraceae)**

### **Abstract**

*Rhanterium adpressum* (Asteraceae) is an endemic plant of the Algerian Sahara, known as "Aarfadj" used in traditional medicine as antidiuretic. The purpose of my study is the evaluation characterized by the determination of certain phenolic compounds (polyphenols, flavonoids, phenolic acids and condensed tannin) and their antioxidant properties and antibacterial efficiencies. Extracting do this by water decoction three mode; infusion and maceration.

The results showed that the extract by decoction has the best performance value, poly total phenols, flavonoids and condensed tannins which are respectively (8, 4 ± 1.069% ± 21.75 1,32mgEAG / g; 4.74 ± 0,49mgER / g; 2,534 ± 0,134mgEC / g), however, the phenol acid that characterized the maceration extract value 2.67 ± 0,13mgEAC / mg.

Evaluation of the antioxidant activity was determined by the ABTS method, DPPH and FRAP results shows that the maceration extract was the best potential anitradicalaire of (3370.63 ± 44,79µMET / g; 4600, 90 ± 120,59µMET / g) which concerns the ABTS and DPPH respectively, in the present decoction extract the best antioxidant capacity FRAP test with a value of 2885.71 ± 566,63µMET / g.

The test of the antibacterial activity of the extract *Rhanterium adpressum* has an antibacterial activity against *Escherichia coli* (bacillus gram), *Proteus mirabilis* (bacillus gram) and *Micrococcus luteus* (Gram + cocci). Which shows the aqueous extract was little ability to inhibit bacterial growth.

**KEYWORDS:** *Rhanterium adpressum*, Algerian Sahara, phenolic compounds, antioxidant activity, antibacterial activity.

## الأنشطة البيولوجية من المستخلص المائي لـ *Rhanterium adpressum* (Asteraceae)

### ملخص

*Rhanterium adpressum* (Asteraceae) هو نبات مسـتوطن في الصحراء الجزائرية، والمعروفة باسم "العرفج" المستخدمة في الطب التقليدي كمضاد إدرار البول. الهدف من هذه الدراسة هو تحديد مختلف فئات المركبات الفينولية وتقييم النشاط البيولوجي للمستخلص المائي التي تم الحصول عليها وفقا للطرق التقليدية لإعداد (الغلي والنقع بالاضافة لنقع في الماء البارد) من *Rhanterium adpressum*.

أظهرت النتائج المتحصل عليها أن المغلي لديه أفضل قيم المرودية، polyphénols totaux، flavonoïdes et tanins condensées، والتي هي على التوالي ( $8.4 \pm 1.069 \pm 21.75$ ،  $0 \pm 74.4$ ،  $0 \pm 2534$ ،  $0 \pm 134.0$  mgER49 / ز،  $0 \pm 2534$ ،  $0 \pm 134.0$  mgEC134،  $0 \pm 2534$ ،  $0 \pm 134.0$  mgEAG/mg32،  $0 \pm 2534$ ،  $0 \pm 134.0$  mgEAC) ، فـي حين أن النقع لديه أكبر نسبة من acides phénols بقيمة  $0.13 \pm 2.67$  / EAC ز.

و جرى تقييم النشاط المضاد للأوكسدة من خلال ثلاث طرق مختلفة: DPPH، ABTS و FRAP. النقع لديه أفضل الأنشطة المثبطة الموجبة جذري ABTS + • و DPPH راديكالية هي  $44.79 \pm 3370.63$  MICROM و  $120.59 \pm 4600.90$  MICROM و  $566.63 \pm 2885.71$  MICROM. يتم حفظ أفضل قوة المخفض الحديد لمغلي و هو من أجل من  $566.63 \pm 2885.71$  MICROM و  $566.63 \pm 2885.71$  MICROM.

في حين تم تقييم النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلص المائي لـ *Rhanterium adpressum* مع ثلاث انواع من البكتيريا وهي على التوالي :

*Escherichia coli* (bacille Gram-), *Proteus mirabilis* (bacille Gram-), *Micrococcus luteus* (cocci Gram+). أدلت النتائج ان المستخلص المائي لديه قدرة منخفضة على تثبيط نمو البكتيريا .

الكلمات المفتاحية : *Rhanterium adpressum*، الصحراء الجزائرية، المركبات الفينولية، والنشاط المضادة للأوكسدة، والنشاط المضاد للبكتيريا.

## Tables des matières

Dédicaces

Remerciement

Résumé

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction générale

### Chapitre I- Matériel et méthodes

I.1.-Matériel .....	04
I.1.1.- Matériel biologique.....	04
I.1.1.1.- Matériel végétal.....	04
a. choix du matériel végétal.....	04
b. Description botanique.....	04
c-Systématique.....	05
d-Récolte et séchage.....	06
I.1.2.- Souches bactériennes.....	06
I.2.- Méthodes.....	06
I.2.1.- Extraction.....	06
I.2.2.- Déterminations de rendement.....	07
I.2.3.- Dosage des polyphénols totaux.....	07
I.2.4.- Dosage des flavonoïdes.....	07
I.2.5.- Dosage des acides-phénols.....	08
I.2.5.- Dosage des tanins condensés.....	08
I.2.5.- Détermination des activités biologiques .....	08

I.2.5.1.- Evaluation de l'activité antioxydant.....	08
1.2.5.2: évaluation des activités anti microbiennes.....	09
1.2.6:Analyse statistique.....	11

## **Chapitre II Résultats et discussion**

II.1.-Rendement d'extraction.....	13
2.Teneur en polyphénols totaux.....	13
3.Teneur en flavonoïdes.....	15
4.Teneur en acides phénols.....	15
5. Teneur en tanins condensés.....	16
6.Evaluation de l'activité antioxydants .....	17
Test d'ABTS.....	17
Test de DPPH.....	20
T est de FRAP .....	22
7. Evaluation de l'activité antibactérienne.....	24
Conclusion.....	27

Références bibliographiques

Annexe



## Liste des tableaux

**Tableau(1) :** concentration inhibitrice( $IC_{50}$ ) de 50% de radical cation ABTS de différents extraits aqueux de *Rhantherium adpressum*

**Tableau (2):** Concentration inhibitrice ( $IC_{50}$ ) de 50% de radical cation DPPH des différents extraits aqueux de *Rhantherium adpressum*

**Tableau (3):** Concentration inhibitrice ( $IC_{50}$ ) de 50% de radical cation FRAP des différents extraits aqueux de *Rhantherium adpressum*

**Tableau (4) :** les activités antimicrobiennes de différents extraits aqueux de *Rhantherium adpressum*

## Liste des figures

**Figure 1:** *Rhantherium adpressum* (photo original)

**Figure 2:** schémas représente *Rhantherium adpressum*

**Figure (3):** Rendement de différents extraits aqueux de *Rhantherium adpressum*.

**Figure (4):** la teneur en poly phénols totaux de différents extraits de *Rhantherium adpressum*

**Figure (5):** la teneur de flavonoïde de différents extraits aqueux de *Rhantherium adpressum*

**Figure (6):** la teneur en acide phénol de différents extraits aqueux de *Rhantherium adpressum*

**Figure (7):** la teneur en tannins condensés de différents extraits aqueux de *Rhantherium adpressum*

**Figure (8):** l'activité antioxydant évaluée par le test d'ABTS de différents extraits aqueux de *Rhantherium adpressum*.

**Figure(9):** Relation entre l'inhibition de radical cation d'ABTS et la concentration de l'extrait obtenu par infusion de *Rhantherium adpressum*.

**Figure (10):** Relation entre l'inhibition de radical cation d'ABTS et la concentration de l'extrait obtenu par décoction de *Rhantherium adpressum*

**Figure(11):** Relation entre l'inhibition de radical cation d'ABTS et la concentration de l'extrait obtenu par macération de *Rhantherium adpressum*

**Figure (12):** l'activité antioxydant évaluée par le teste de DPPH de différents extraits aqueux de *Rhantherium adpressum*

**Figure(13):** Relation entre l'inhibition de radical cation d'DPPH et la concentration de l'extrait obtenu par infusion de *Rhantherium adpressum*

**Figure(14):** Relation entre l'inhibition de radical cation d'DPPH et la concentration de l'extrait obtenu par décoction de *Rhantherium adpressum*

**Figure(15):** Relation entre l'inhibition de radical cation d'DPPH et la concentration de l'extrait obtenu par macération de *Rhantherium adpressum*

**Figure (16):** l'activité antioxydant évaluée par le teste FRAP de différents extraits aqueux de *Rhantherium adpressum*

**Figure(17):** Relation entre l'inhibition de radical cation de FRAP et la concentration de l'extrait obtenu par macération de *Rhantherium adpressum*

**Figure(18):** Relation entre l'inhibition de radical cation de FRAP et la concentration de l'extrait obtenu par macération de *Rhantherium adpressum*

**Figure(19):** Relation entre l'inhibition de radical cation de FRAP et la concentration de l'extrait obtenu par infusion de *Rhantherium adpressum*

## Liste des abréviations

ABTS ( $\mu$ MET/g):acide 2, 2 azinobis-(3-ethylbenzthiazoline)-6-sulphonique en micro molaireéquivalent de trolox par gramme.

DPPH ( $\mu$ MET/g) : 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl en micro molaireéquivalent de trolox par gramme.

EAC : équivalente acide gallique.

EP : eau physiologie.

ET : écart type.

ER : équivalente ruttin.

FLV (mg ER/g) : les flavonoïdes en mg equivalent de rutine par gramme.

FRAP ( $\mu$ MET/g) : FerricReducingAntioxidant Poweren micro molaireéquivalent de trolox par gramme.

g: gramme

H<sub>3</sub>PMo<sub>12</sub>O<sub>40</sub>: acide phosphore -tungstique

H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>: acide phosphore molybdique

H: heures.

MV : Matériel végétal.

M : moyenne

min : minute.

ml: millilitre

$\mu$ MET/g : micromètre équivalent de torolox par gram.

MGEAG/g : méga équivalente acide gallique.

NaOH : hydroxyde de sodium

PPT (mg EAG/g) : poly phénol totaux en mg équivalent d'acide gallique par gramme.

T.C (mg EC/g) :les tanins condensés en mg équivalent de catéchine par gramme.

IC50: inhibitrice Concentration i à 50%.

mgEAc /g : milligramme équivalent acide caféique par gram.

MgEAG/g : milligramme équivalent acide gallique par gram.

R % : le rendement en pourcentage

# Introduction

# INTRODUCTION

---

Au travers des âges, l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base : nourriture, abris, vêtements et également pour ses besoins médicaux. L'utilisation thérapeutique des extraordinaires vertus des plantes pour le traitement de toutes les maladies de l'homme est très ancienne et évolue avec l'histoire de l'humanité (HAMEURLAINE, 2009).

Les plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments. Elles sont considérées comme source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments (HARRAR, 2012).

Une plante n'est pas une recette magique dotée d'une action unique, mais un ensemble complexe pourvu de principes actifs qui ont une influence sur les différents systèmes de régulation du corps. En associant la recherche scientifique sur les constituants actifs, l'observation clinique et la connaissance traditionnelle des plantes, il est possible de dresser un inventaire de leurs usages thérapeutiques (BOUHEROUM, 2007).

L'utilisation des plantes pour se soigner date de la préhistoire et tous les peuples sur tous les continents ont cette vieille tradition. Malgré les efforts des chimistes synthèse de nouvelles molécules, plus de 25 % des médicaments prescrits dans les pays développés dérivent directement ou indirectement des plantes .Cependant, en tant que sources de médicaments, les plantes restent encore sous exploitées surtout dans le domaine de la microbiologie médicale (KAROU et *al.* 2005)

Les plantes du Sahara algérien par exemple, sont des plantes d'origine terrestre qui au cours de leur évolution se sont adaptées aux écosystèmes arides. Par leur position écologique et évolutive particulière, il est possible que ces plantes aient également sélectionné des métabolites secondaires spécifiques avec des caractéristiques chimiques et biologiques originales (BOUHEROUM .2007)

# INTRODUCTION

---

Cette étude est une contribution à la valorisation de *Rhanterium adpressum*, une espèce endémique du Sahara largement utilisée en médecine traditionnelle pour guérir certaines maladies et pour aromatiser certaines préparations alimentaires.

Ce travail comporte deux chapitres précédés par une introduction. Le premier chapitre est reportés les protocoles et les techniques d'analyses utilisés et quelques caractéristiques principales des activités biologique. Dans cette mémoire, nous présentons une description botanique de *Rhanterium adpressum*.

Dans le deuxième chapitre est consacré eu travail personnel consistant en l'extraction et évaluation des activités antioxydants et antimicrobiennes de *Rhanterium adpressum*.

Enfin une conclusion générale qui résume l'ensemble de résultats obtenus.

# **Chapitre I :**

## **Matériel et méthodes**



## **Chapitre I-Matériel et méthodes**

### **I.1.-Matériel**

#### **I.1.1.- Matériel biologique**

##### **I.1.1.1.- Matériel végétal**

###### **a. choix du matériel végétal**

L'espèce choisie dans cette étude est *Rhantherium adpressum*, qui est une espèce endémique du nord africain, utilisée par la population locale dans le traitement des différents problèmes de santé en particulier le diabète et certaines infections. Comme cette espèce n'est pas ou très peu étudiée, l'objectif de ce travail vise à évaluer certaines activités biologiques des principes actifs extraits par les modes traditionnels de préparation (décoction, infusion et macération).

###### **b. Description botanique**

*Rhantherium adpressum* (Desf) est un arbuste très ramifié, à tiges et feuilles revêtues de poils blanchâtres; les feuilles sont petites, alternées, un peu dentées, très caduques; à capitules hétérogames, multifides; à involucre sphériques formés de plusieurs rangs de bractées, coriaces, lancéolées, achaines étroits, prismatiques, cinq côtés prolongées chacune en une soie qui est dilatée et plumeuse dans sa partie terminale. Cette plante endémique du nord africain a des fleurs jaunes et marginale ligulées (FERREI et al., 2001). Ses capitules de 10 à 15 mm de diamètre, à écailles obtuses étroitement appliquées, réceptacle ne présentant des paillettes que dans sa partie périphérique (Fig. 1).

## c. Systématique

<b>Embranchement</b>	Spermatophyte
<b>Sous Embranchement</b>	Angiosperme
<b>Classe</b>	Dicotylédone
<b>Sous classe</b>	Gamopétale
<b>Ordre</b>	Astérale
<b>Famille</b>	Compositae ( Acteraceae)
<b>Sous famille</b>	Tubuliflore
<b>Tribus</b>	Inulée
<b>Genre</b>	Rhantherium
<b>Espèce</b>	<i>Rhantherium adpressum</i> (BOUHAROM.M2007)



Figure 1: *Rhantherium adpressum* (photo original)



Figure 2: schemas represent *Rhantherium adpressum*

### **d. Récolte et séchage**

La récolte du matériel végétal a été effectuée durant les mois de mars et avril 2015 dans la région de Hassi Lefhal. L'identification botanique de *Rhantherium adpressum* est faite en utilisant : *Flore et végétation du Sahara* (OZENDA, 2004). Le séchage est effectué dans un endroit bien aéré et à l'abri de la lumière directe du soleil pendant 15 jours. Après le séchage, le matériel végétal est broyé et conservé dans des flacons en verre bien fermés.

### **I.1.2.- Souches bactériennes**

Les souches bactériennes utilisées dans cette étude pour évaluer l'activité antibactérienne sont : *Escherichia coli* (bacille Gram-), *Proteus mirabilis* (bacille Gram-) et *Micrococcus luteus* (cocci Gram+).

### **I.2.- Méthodes**

#### **I.2.1.- Extraction**

L'extraction est effectuée selon les modes traditionnels de préparation qui sont : la décoction, l'infusion et la macération.

#### **a. Décoction**

Le matériel végétal est mélangé avec de l'eau distillée à un rapport de (1/20 : p/v) puis bouillit à  $98 \pm 2$  °C pendant 5 min. Le mélange est laissé reposer 15 min ensuite filtré.

#### **b. Infusion**

Le matériel végétal est mélangé avec de l'eau distillée bouillie à un rapport de (1/20 : p/v). Le mélange est bien agité et reposé 15 min ensuite filtré.

#### **c. Macération**

Le matériel végétal est mélangé avec de l'eau distillée à un rapport de (1/20 : p/v). Le mélange est laissé macérer pendant 24 heures à la température ambiante, puis filtré.

## ***CHAPITRE I-MATERIEL ET METHODES***

---

Les filtrats obtenus ont été concentrés par le rotavapor (Heidolph N° :560-0) pendant 2 heures. Les extraits sont conservés à +4 °C jusqu'à leur utilisation.

### **I.2.2.- Déterminations de rendement**

Le rendement de l'extraction est déterminé après évaporation de l'eau à 103±2 °C pendant 24 heures à l'étuve (TRADE RAYPA N° :53485), il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale du matériel végétal soumise à l'extraction.

### **I.2.3.- Dosage des polyphénols totaux**

Le dosage des polyphénols totaux par le réactif de Folin-Ciocalteu a été décrit dès 1965 (SINGLETON et ROSSI, 1965 ; BOIZOT et CHARPENTIER, 2006). Son utilisation s'est largement répandue pour caractériser les extraits végétaux d'origine la plus diverse. Le réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes de tungstène et de molybdène (RIBEREAU-GAYON, 1968). La coloration bleue produite est proportionnelle à la quantité des polyphénols présents dans les extraits végétaux. La mesure de l'absorbance est effectuée à 765 nm par un spectrophotomètre (JENWAY 6315) après une heure de repos à l'obscurité. Une courbe d'étalonnage est effectuée en prenant l'acide gallique comme référence. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique pour 1g de poids sec de *Rhantherium adpressum* (mg EAG/g) (TELLI, 2009).

### **I.2.4.- Dosage des flavonoïdes**

Les flavonoïdes totaux sont déterminés selon le test colorimétrique de KIM, JEONG et LEE (2003) avec quelques modifications. L'absorbance de développement de la couleur rose est déterminée à 510 nm par un spectrophotomètre (JENWAY 6315). La préparation de la courbe d'étalonnage est faite avec la rutine et les résultats

## **CHAPITRE I-MATERIEL ET METHODES**

---

sont exprimés en mg équivalent en rutine par 1 g du poids sec d'échantillon (mg ER/g) (TELLI, 2009).

### **I.2.5.- Dosage des acides-phénols**

L'estimation du taux des acides-phénols est effectuée selon la méthode D'ARNOW (SZAUFER-HAJDRYCH, 2004). 1 ml d'échantillon est mélangé avec 5 ml de l'eau distillée, 1 ml HCl (0,5 M), 1 ml de réactif D'ARNOW et 1 ml de NaOH (1 M) et le volume est accompli à 10 ml par l'eau distillée. L'absorbance est mesurée à 490 nm (JENWAY 6315). La teneur en acides-phénols est exprimée en mg en équivalent d'acide caféique (EAC) par gramme du poids sec.

### **I.2.5.- Dosage des tanins condensés**

La teneur en tannins condensés est effectuée selon la méthode décrite par SUN et al. (1998). A 0,2 ml d'extrait, 1 ml de réactif de vanilline 1% fraîchement préparé est additionné. Après incubation pendant 20 min à 30 °C, l'absorbance est mesurée à 510 nm (JENWAY 6315). Les tannins condensés sont calculés en mg équivalent de (+) catéchine par gramme poids sec.

### **I.2.5.- Détermination des activités biologiques**

#### **I.2.5.1.- Evaluation de l'activité antioxydant**

##### **a. Test d'ABTS**

L'activité anti-oxydante a été mesurée en utilisant une méthode améliorée d'ABTS comme décrit par CAI et al. (2004). La solution de radical cation ( $ABTS^{*+}$ ) est préparée par la réaction d'ABTS (7 mM) et persulfate de potassium (2,45 mM) pendant 16 heures en obscurité et à 23 °C. La solution d' $ABTS^{*+}$  obtenue est diluée avec de l'éthanol (80%) afin d'obtenir une absorbance de  $0,700 \pm 0,02$  à 734 nm. A 3,9 ml de la solution d' $ABTS^{*+}$  ( $0,700 \pm 0,02$ ) est additionné 0,1 ml d'échantillon testé et mélangés vigoureusement. Le mélange réactionnel est laissé reposer à 23 °C pendant 6 min et l'absorbance à 734 nm est immédiatement enregistrée. Une courbe d'étalonnage est préparée en utilisant le Trolox comme standard à différentes

## ***CHAPITRE I-MATERIEL ET METHODES***

---

concentrations (50 à 500  $\mu\text{M}$ ). Les résultats sont exprimés en  $\mu\text{M}$  en équivalent de Trolox par g du poids sec.

### **b. Test de DPPH**

Le test de DPPH est fait selon la méthode de BRAND-WILLIAMS et al. (1995) avec quelques modifications. La solution de DPPH est préparée par dissolution de 25 mg de DPPH avec 100 ml de méthanol (80%). La solution utilisée est diluée par le méthanol afin d'obtenir une absorbance de  $1,700 \pm 0,02$  à 515 nm. Les extraits de *Rhantherium adpressum* (100  $\mu\text{l}$ ) est réagis avec 3900  $\mu\text{l}$  de la solution de DPPH pendant 30 min à l'obscurité, puis l'absorbance de mélange est lu à 515 nm. Le Trolox est utilisé comme standard pour la préparation de la courbe d'étalonnage (50 à 500  $\mu\text{M}$ ). Les résultats sont exprimés en  $\mu\text{M}$  ET/g du poids sec.

### **c. Test de FRAP**

Le test de FRAP est fait selon la méthode de Benzie et Strain (1996) avec des petites modifications. La solution de FRAP est fraîchement préparée par mélange de 10 ml de 300 mM de tampon acétate (pH 3,6), 1 ml d'une solution de 10 mM TPTZ (2, 4, 6-tripyridyl-s-triazine) et 1 ml d'une solution de  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  et après chauffé à 37 °C avant l'utilisation. 150  $\mu\text{l}$  des extraits ont été réagis avec 2850  $\mu\text{l}$  de la solution de FRAP pendant 30 min à l'obscurité. La lecture de produit coloré (le complexe tripyridyltriazine ferreux) a été effectuée à 593 nm. La courbe d'étalonnage de Trolox est linéaire entre 50 et 800  $\mu\text{M}$ . Les résultats ont été exprimés en  $\mu\text{M}$  équivalent de Trolox ET/g du poids sec de matériel végétal.

### **1.2.5.2 : évaluation des activités anti microbiennes**

#### **a- Conservation des souches**

Les souches ont été conservées à 5°C dans des tubes stériles contenant 10 ml de milieu deculture incliné (gélose nutritive).

#### **b- Les milieux de culture**

Selon les méthodes utilisées dans l'essai et selon les souches, je vais utiliser la gélose Mueller Hinton pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux différents extraits.

## ***CHAPITRE I-MATERIEL ET METHODES***

---

### **c- Préparation de pré cultures**

Les souches microbiennes à tester ont été cultivées dans des boîtes de pétrie contenant de l'agrose nutritive. Après 24h d'incubation à 37°C, des suspensions microbiennes d'une densité optique de 0.5 McFarland ont été préparées, pour chaque microorganisme, dans 5 ml d'eau distillée stérile.

### **d-Tests antimicrobiens**

Afin d'évaluer l'activité antimicrobienne des extraits de la plante, j'ai utilisé la méthode de diffusion en milieu gélosé, celle-ci permet de déterminer la concentration minimale inhibitrice à partir d'une gamme de concentrations d'extrait.

### **e-Application:**

Des disques de papier filtre stériles Whatmann de 6 millimètres de diamètre sont imprégnés de différentes solutions des extraits préalablement dissouts dans le diméthylsulfoxyde(DMSO).

À l'aide d'une pince stérile les disques sont déposés à la surface d'un milieu ensemencé (étalé) par une suspension microbienne d'une densité optique de 0.5 McFarland. Après diffusion, les boîtes sont incubées pendant 24 heures à 37 °C. Après l'incubation l'effet des extraits se traduit par l'apparition autour de disque d'une zone circulaire transparente correspondant à l'absence de la croissance. Plus le diamètre de cette zone est grand plus la souche est sensible (Choi et *al.*,2006).

Les tests ont été répétés trois fois

### **f-Expressions des résultats**

Les résultats expérimentaux sont exprimés selon la zone d'inhibition

### **I.2.7.- Analyse statistique**

Les résultats ont été exprimés en moyenne  $\pm$  écart type de trois réplicats analytiques. Le probit a été utilisée comme model afin de déterminer IC<sub>50</sub>. Pour déterminer la corrélation entre les méthodes de l'activité anti-oxydante et la contribution des différents composés phénoliques à la capacité anti-oxydante, le coefficient de corrélation de Person a été calculé. Toutes les analyses ont été réalisées par

XLSTAT

2009





# **Chapitre II :**

## **Résultats et discussions**

## Chapitre II-Résultats et discussions

### 1- Rendement d'extraction

Les résultats de rendement d'extraction des différents extraits de *Rhanterium adpressum* sont présentés dans la figure (03) . Il ressort de ces résultats que l'extrait par décoction a le taux le plus élevé ( $8,4\pm 1,069\%$ ), et que la macération présente le rendement la plus faible ( $2,21\pm 0,34\%$ ). La différence de rendement entre les extraits est due aux techniques des extractions utilisées, qui sont totalement défèrent et à la composition chimique qui diffère d'un extrait à l'autre (HARRAR, 2012 ).

Il a été démontré que pour l'extraction par les solvants à température élevée permettait d'obtenir des rendements plus élevés en extraits secs que lorsqu'ils sont obtenu à température ambiante (Majhenic et al., 2007) .

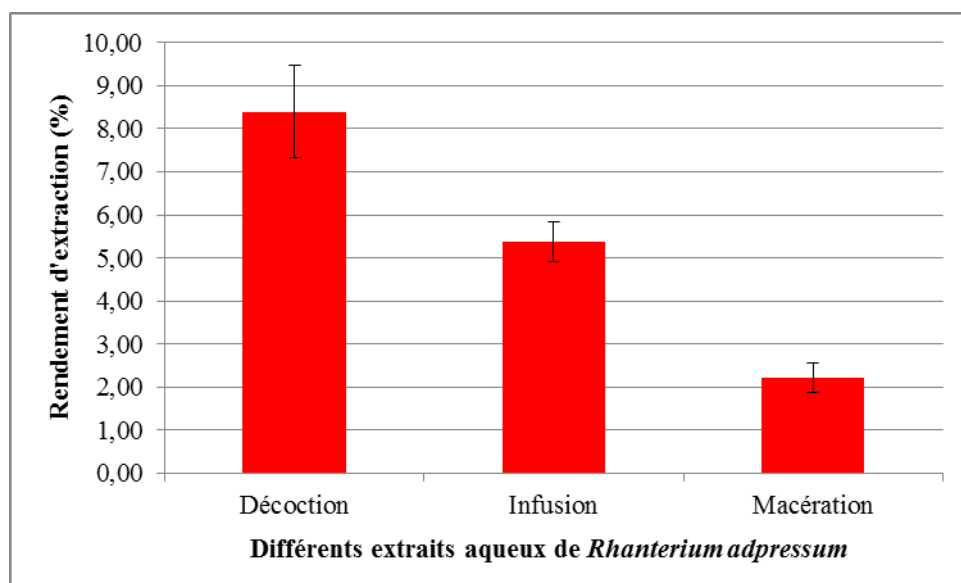


Figure (3): Rendement de différents extraits aqueux de *Rhanterium adpressum*

### 2-Teneur en polyphénols totaux

Les résultats de la tenue en poly phénol totaux de différentes préparations (infusion, macération et décoction) de *Rhanterium adpressum* par l'eau distillé sont présentés dans la figure (4)

Nous constatons que la teneur des poly phénols se défaire selon le mode d'extraction. L'extrait obtenu par le mode décoction présente un teneur de pp élevé ( $21,75 \pm 1,32 \text{mgEAG/g}$ ), suivie par la teneur en infusion ( $13,19 \pm 2,20 \text{mgEAG/g}$ ) et macération ( $4,90 \pm 0,81 \text{mgEAG/g}$ ).

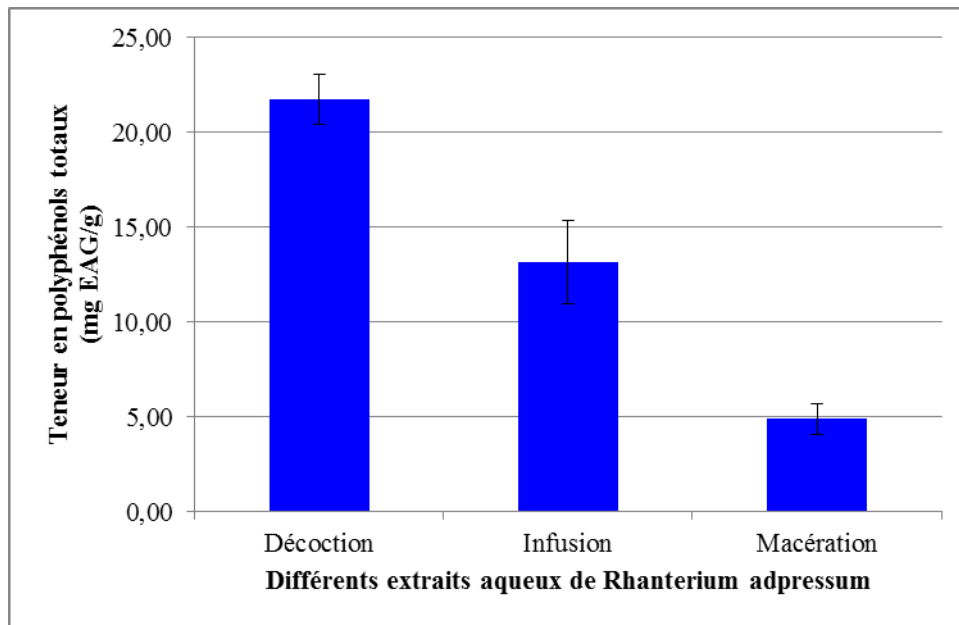


Figure (4): la teneur en poly phénols totaux de différents extraits de *Rhanterium adpressum*

Nos résultats ressemblent à ceux trouvés par (HARRAR.2012) sur la même espèce végétale. En effet, ils ont déterminé  $36 \text{ mg EAG/g}$  de matière fraîche pour un extraits aqueuse.

La faible spécificité du réactif de Folin-Ciocalteu est l'inconvénient principal du dosage colorimétrique. Le réactif est extrêmement sensible à la réduction de tous les groupes d'hydroxyles non seulement celles des composés phénoliques, mais également de certains sucres et de protéines etc. (Gmez-Caravaca et al. 2006 ; Vuorela, 2005).

Le solvant d'extraction élu des substances non phénoliques comme les sucres, les protéines et les colorants qui peuvent interférer pendant toute évaluation phénolique (Djeridane et al. 2007). Le dosage par ce réactif donne donc une évaluation brute de tous les composés phénoliques d'un extrait. Il n'est pas spécifique aux polyphénols, mais beaucoup de

composés peuvent réagir avec le réactif, donnant un taux phénolique apparent élevé (Tawaha et al, 2007).

### 3-teneur de flavonoïde

Les résultats de la teneur en flavonoïde de différents d'extraction par infusion et décoction (*Rhanterium adpressum*) par eau distillé sont dans la figure (5)

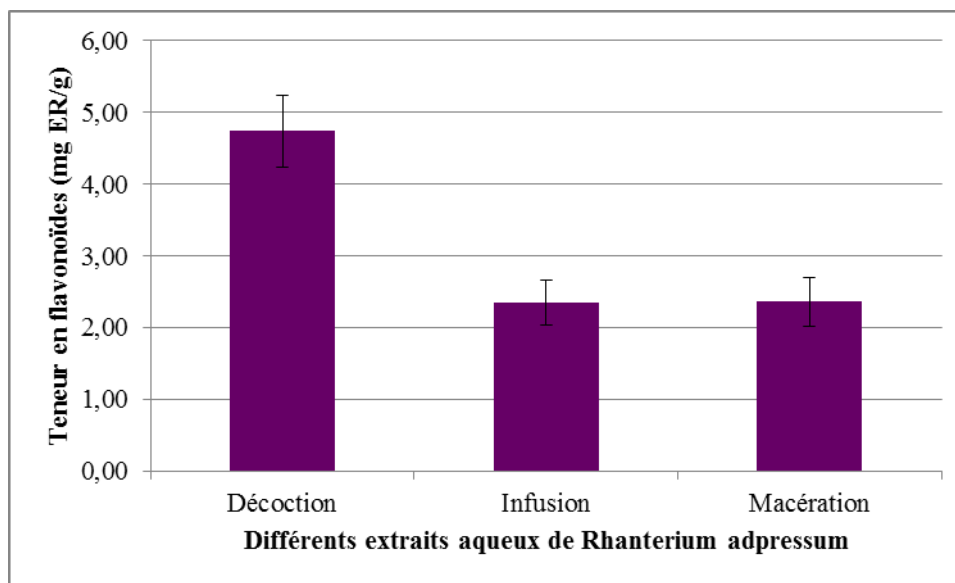


Figure (5): la teneur de flavonoïde de différent extraits aqueux de *Rhanterium adpressum*

On constate que les extraits de *Rhanterium adpressum* sont varies ; l'extrait en décoction est élevé ( $4,74 \pm 0,49$  mg ER/g) par rapport l'extrait d'infusion et de macération qui sont identiques.

Ces résultats ne sont pas corroborés avec ceux obtenus (HARRAR ,2012) sur la même espèce végétale, teneurs en flavonoïdes sont de 18 mg EQ /g de l'extrait aqueuse de la matière fraîche.

### 4-la teneur de l'acide phénol

Les résultats de la teneur de l'acide phénol de différentes extraction de *Rhanterium adpressum* par l'eau distillé sont présentent dans la figure (06)

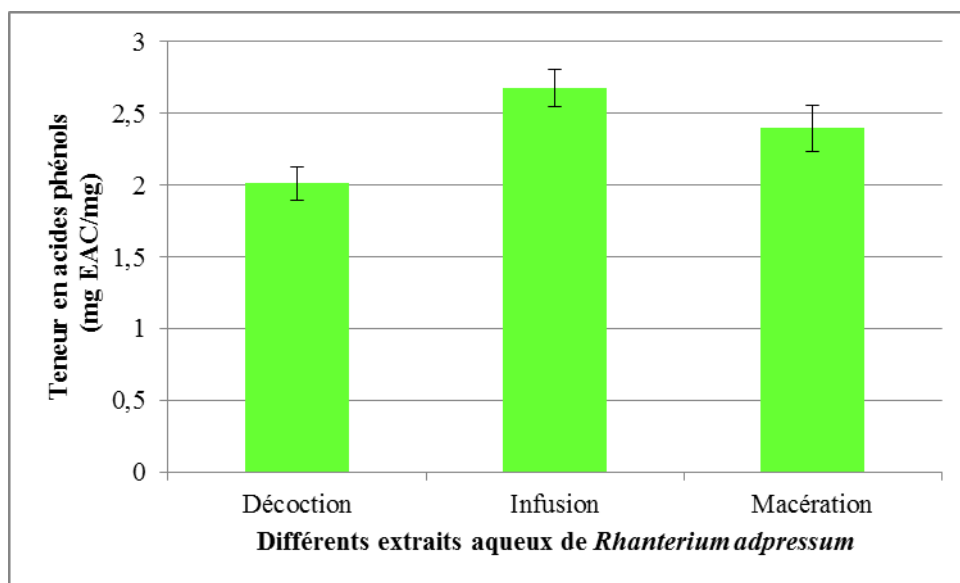


Figure (6): la teneur en acide phénol de différents extraits aqueux de *Rhanterium adpressum*

Nous constatons que les extraits de *Rhanterium adpressum* est déférence selon le mode d'extraction que l'extrait à l'infusion est élevé (2,67±0,13mgEAC/mg), le suit par macération (2,39±0,16mg EAC/mg) et l'extrait en décoction (2,010±0,12mg EAC/mg) classes le dernier.

Cette différenciation justifie que le différent type d'extraction aqueux et le composant chimique qui influencé par la température

On constat que la concentration de l'acide phénol a été variée entre déférente extraction.

En remarque que la teneur est élevé à l'extrait queue en l'infusion (2,67mg EAC/mg) ; suivi par macération (2,39mg EAC/mg) ; et l'extrait en décoction est vient suspendue par concentration (2mg EAC/mg).

Cette variation entre la concentration d'acide phénol est due à la défrancisation des modes d'extraction et la température, Par exemple à l'extrait en décoction la concentration de l'acide phénol est basse ou la température est élevé ; par contre à la l'extrait en macération et infusion : c'est-à-dire le facteur de température est influence sur

Il paraît clairement que l'eau chaude est le solvant qui permet d'avoir un rendement en acide phénol plus élevé, ce qui peut être expliqué par la lise des cellules dans l'eau chaude et la libération d'un maximum de molécule d'acide phénol (HARRAR 2012)

### 5-la teneur de tannins condensés

La figure (07) représente les résultats de la teneur de tannins condensés de différents extraits aqueux de l'espèce *Rhanterium adpressum*

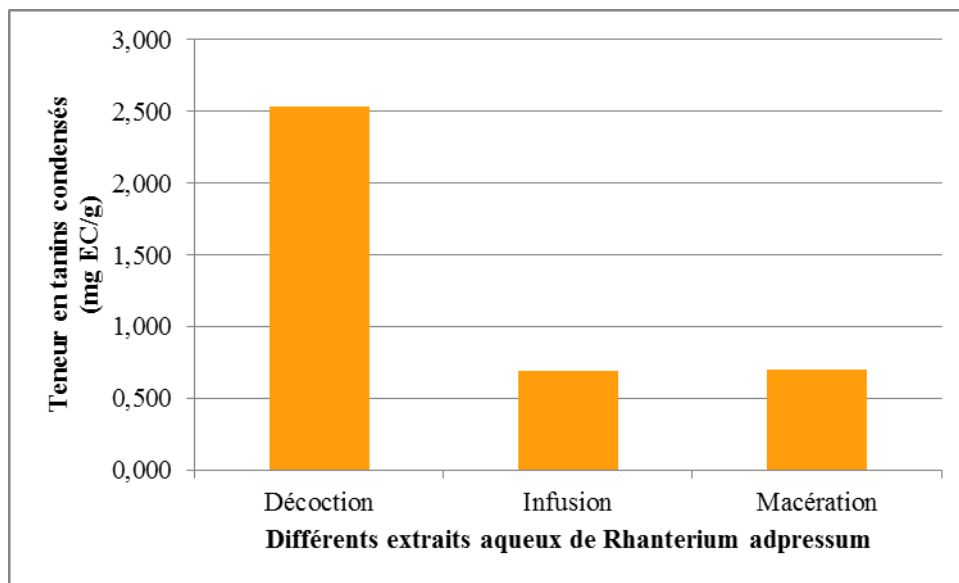


Figure (07): la teneur en tannins condensés de différents extraits aqueux de *Rhanterium adpressum*

Nous observons que la teneur de tannins condensés à l'extrait en décoction est très élevée ( $2,534 \pm 0,134 \text{ mg EC/g}$ ) par rapport aux autres extractions (infusion, macération) respectivement.

Cette augmentation de la teneur de tannins condensés à l'extraction en décoction peut être due au contenu chimique et au mode d'extraction. Ceci est clair dans les résultats obtenus par (BOUSSOUSSA et al. 2014). L'effet de la température est évident dans la détermination de la teneur de tannins condensés, ce qui explique la teneur élevée dans l'extrait de décoction.

Ces résultats confirment que le *Rhanterium adpressum* contient le pigment et sont en accord avec ceux obtenus par (Earp et al.2004)

## 6- Evaluation activité antioxydant

L'activité anti-oxydante des extraits a été évaluée in vitro par trois méthodes différentes : l'ABTS, DPPH et FRAP.

### 6-1-l'activité anti oxydante évalué par le radical ABTS

Les résultats qui reprisant l'évaluation de l'activité antioxydant par le radical ABTS de déférant extraction aqueux de l'espèce *Rhanterium adpressum* matérialiser dans la figure (08)

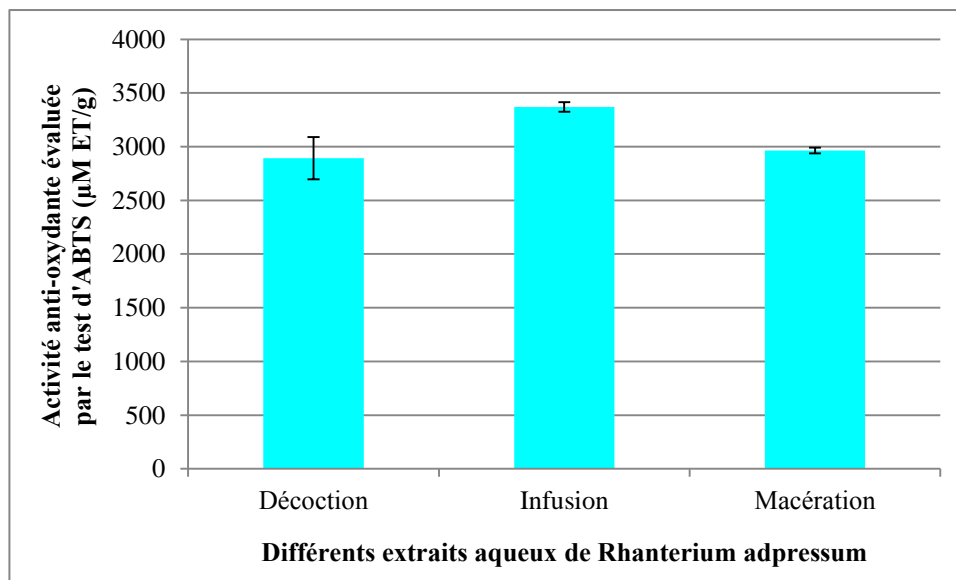


Figure (08):l'activité antioxydant évaluée par le test d'ABTS de différent extraits aqueux de *Rhanterium adpressum*.

Nous constatons que les résultats de l'évaluation l'ABTS sont variables de l'extraction à l'autre. L'extrait à l'infusion est très elvé (3370,63±44 ; 79µMET/g), suit par le en macération, et décoctons. (2893,72±27,07µMET/g) et (2965,43±27,07µMET/g) respectivement.

La méthode ABTS<sup>+</sup> amélioré a été utilisé pour déterminer l'activité antioxydant des extraits *Rhanterium adpressum* examinés dans ce travail.



Ce dernier est largement utilisé pour évaluer la totale quantité de radicaux qui peut être balayé par un antioxydant, à savoir la capacité antioxydant.

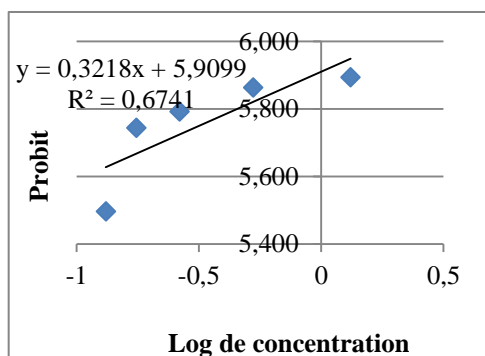
Des facteurs comme la solubilité des radicaux de l'extrait dans différents systèmes d'essai ont été signalé à affecter la capacité des extraits de réagir (BOUSSAADA et *al.*, 2008).

Cela a également montré la capacité de l'extrait de *Rhanterium adpressum* à piéger les différents radicaux libres, ce qui indique qu'ils peuvent être des agents thérapeutiques utiles pour le traitement radical pathologique liée dégâts (SHARIF et *al.* 2008).

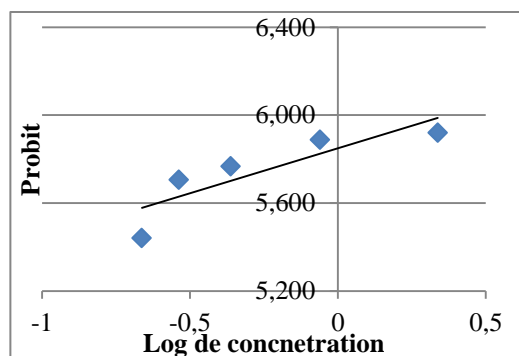
### Détermination d'IC<sub>50</sub> de radical ABTS

Pour déterminer la concentration inhibitrice de 50% de radical cation d'ABTS<sup>•+</sup>, on a utilisé le probit comme moyen statistique. Pour cela, les pourcentages d'inhibition de radical ont été transformés en probit et les concentrations en logarithme décimale, ce qui permet d'établir l'équation des régressions entre le probit et Log<sub>10</sub> (concentration).

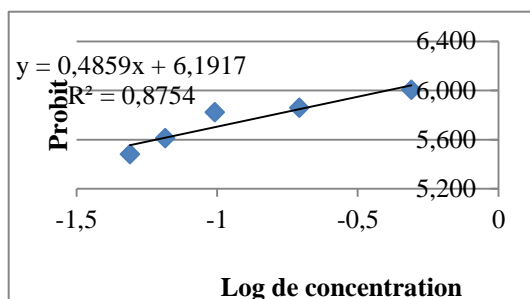
Les résultats obtenus, présentés dans les figures (09), (10) et (11) et le tableau (01), montrent que la macération aqueuse de *Rhanterium adpressum* présente la valeur la plus faible d'IC<sub>50</sub> (1,19 µg/ml) en comparaison avec les autres extraits et en comparaison avec l'IC<sub>50</sub> de Standards utilisés (Trolox et acide gallique) qui ont les valeurs suivantes 2,16µg/ml et 7,16 µg/ml respectivement. Ces résultats prouvent l'efficacité des différents extraits aqueux de *Rhanterium adpressum* dans l'inhibition de l'ABTS<sup>•+</sup>. En effet, (BELYAGOUBI .2011) a montré que plus l'IC<sub>50</sub> est petite plus l'extrait est efficace à inhiber les radicaux libres, et par conséquent sa richesse en molécules ayant la capacité de réduire l'effet nocif les agents aoxydats.



**Figure(9) :** Relation entre l'inhibition de radical cation d'ABTS et la concentration de l'extrait obtenu par infusion de *Rhantherium adpressum*



**Figure (10) :** Relation entre l'inhibition de radical cation d'ABTS et la concentration de l'extrait obtenu par décoction de *Rhantherium adpressum*



**Figure(11):** Relation entre l'inhibition de radical cation d'ABTS et la concentration de l'extrait obtenu par macération de *Rhantherium adpressum*

Tableau(01) : concentration inhibitrice(IC<sub>50</sub>) de 50% de radical cation ABTS de différents extraits aqueux de *Rhantherium adpressum*

Extrait	Equation de régressions	Coefficient de régressions	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
Décoction	y = 0,409x + 5,849	R <sup>2</sup> = 0,741	<b>7,16</b>
Infusion	y = 0,3218x + 5,9099	R <sup>2</sup> = 0,6741	<b>2,16</b>
Macération	y = 0,485x + 6,191	R <sup>2</sup> = 0,875	<b>1,19</b>

**6-2-Activité anti oxydante évalué par le teste DPPH**

Les résultats de l'évaluation de l'activité antioxydants avec le teste DPPH de différents extraits aqueux de *Rhantherium adpressum* ce représenté dans la figure (12).

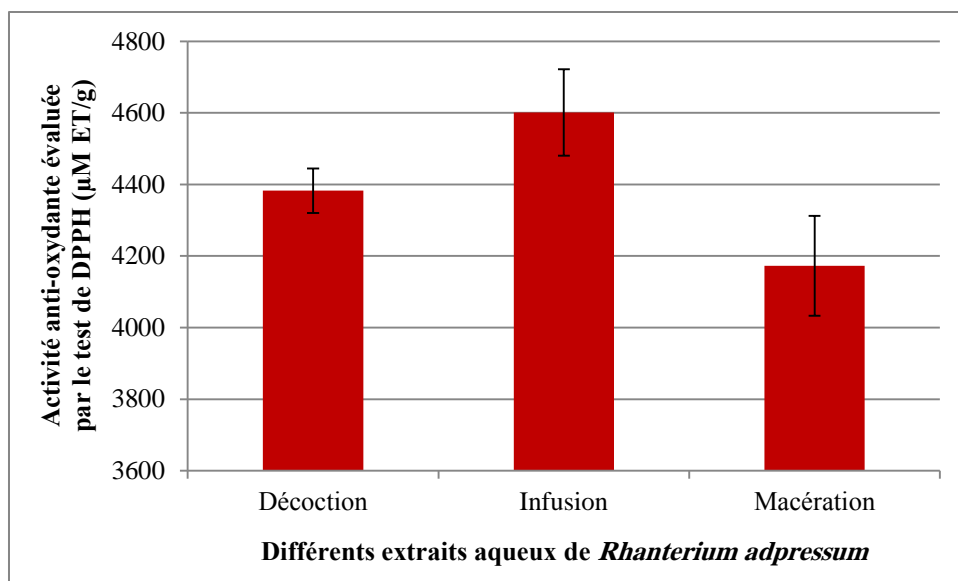


Figure (12): l'activité antioxydant évaluée par le teste de DPPH de différents extraits aqueux de *Rhanterium adpressum*

Nous constatons que les résultats d'évaluation les activités antioxydants testé par le DPPH de différents extraits aqueux de *Rhanterium adpressum* représentent que l'extrait à l'infusion ( $4600,90 \pm 120,59 \mu\text{MET/g}$ ), suit par décoction ( $4382,58 \pm 61,98 \mu\text{MET/g}$ ), et macération ( $4172,46 \pm 139,49 \mu\text{MET/g}$ ).

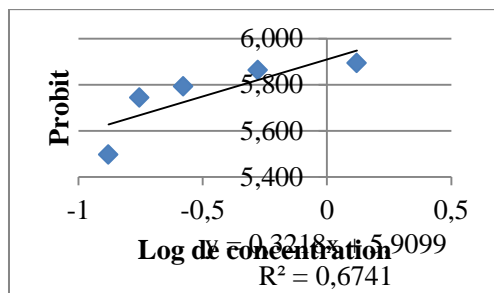
Radical DPPH a été utilisé comme un radical libre stable à déterminer activité antioxydant des composés naturels. la méthode est basée sur la réduction de la solution de DPPH alcoolique dans la présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène (STANISAVLJEVI et al.2009)

#### **.Détermination d'IC<sub>50</sub> de radical DPPH**

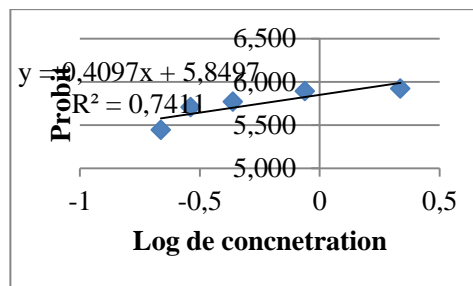
Pour déterminer la concentration inhibitrice de 50% de radical cation d'DPPH<sup>+</sup>, on a utilisé le probit comme moyen statistique. Pour cela, les pourcentages d'inhibition de radical ont été transformés en probit et les concentrations en logarithme décimale, ce qui permet d'établir l'équation des régressions entre le probit et Log<sub>10</sub> (concentration).

Les résultats obtenus, présentés dans les figures (13), (14) et (15) et le tableau (02), montrent que l'infusion aqueuse de *Rhanterium adpressum* présente la valeur la plus faible d'IC<sub>50</sub> (1,49 µg/ml) en comparaison avec les autres extraits et en comparaison avec l'IC<sub>50</sub> de

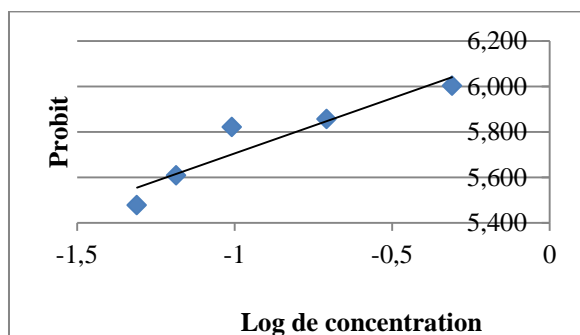
Standards utilisés (Trolox et acide gallique) qui ont les valeurs suivantes 8,43 µg/ml et 3,53 µg/ml respectivement. Ces résultats prouvent l'efficacité des différents extraits aqueux de *Rhantherium adpressum* dans l'inhibition de l'DPPH<sup>+</sup>. En effet, BELYAGOUBI (2011) a montré que plus l'IC<sub>50</sub> est petite plus l'extrait est efficace à inhiber les radicaux libres, et par conséquent sa richesse en molécules ayant la capacité de réduire l'effet nocif les agents aoxydats.



**Figure(13):** Relation entre l'inhibition de radical cation d'DPPH et la concentration de l'extrait obtenu par infusion de *Rhantherium adpressum*



**Figure(14):** Relation entre l'inhibition de radical cation d'DPPH et la concentration de l'extrait obtenu par décoction de *Rhantherium adpressum*



**Figure(15):** Relation entre l'inhibition de radicalcation d'DPPH et la concentration de l'extraitobtenu par macération de *Rhantherium adpressum*

**Tableau (02):** Concentration inhibitrice (IC<sub>50</sub>) de 50% de radical cation DPPH des différents extraits aqueux de *Rhantherium adpressum* .

Extrait	Equation de régressions	Coefficient de régressions	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
Décoction	y = 0,409x + 5,849	R <sup>2</sup> = 0,741	<b>8.43</b>
Infusion	y = 0,3218x + 5,9099	R <sup>2</sup> = 0,674	<b>1.49</b>
Macération	y = 0,485x + 6,191	R <sup>2</sup> = 0,875	<b>3.53</b>

### 6-3-l'activité anti oxydante évalué par le teste FRAP

Les résultats de l'évaluation de l'activité antioxydants avec le teste FRAP de différents extraits aqueux de *Rhanterium adpressum* ce représenté dans la figure (16)

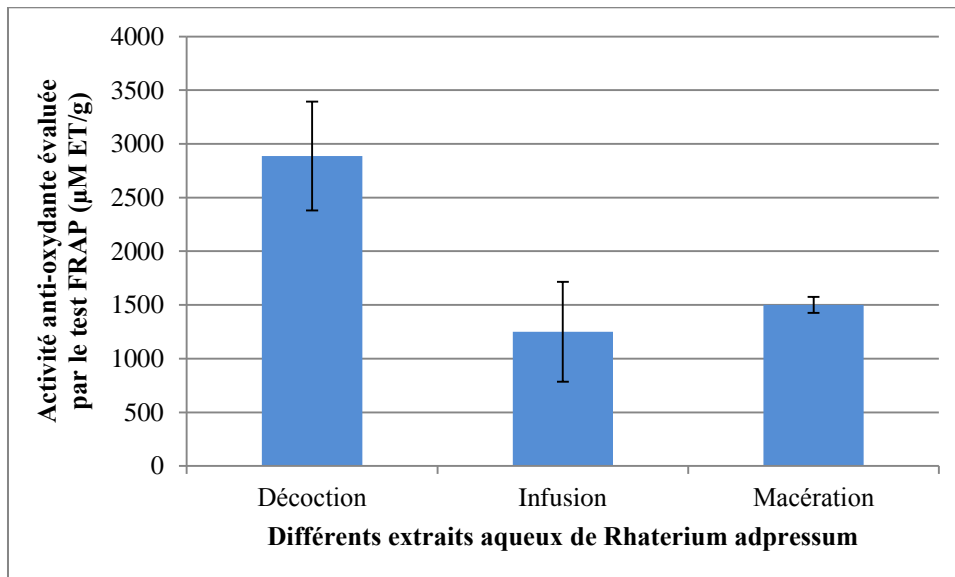


Figure (16): l'activité antioxydant évaluée par le teste FRAP de différents extraits aqueux de *Rhanterium adpressum*

Réduction du fer : FRAP (Ferric reducing antioxidant power) : C'est une analyse de l'activité antioxydante qui est rapide, reproductible, et facile à exécuter. Cette méthode est basée sur la capacité des polyphénols à réduire le fer ferrique  $Fe^{3+}$  en fer ferreux  $Fe^{2+}$ . La puissance de réduction est l'un des mécanismes antioxydants (Karagozler et al, 2008)

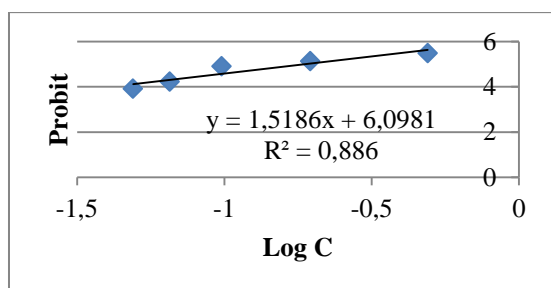
Nous constatons que les résultats de l'expérience de l'activité antioxydant évaluée par le teste FRAP de différents extraits aqueux de *Rhanterium adpressum* montre que l'activité anti-oxydante dans la décoction est élevée presque ( $2885,71 \pm 506,63 \mu MET/g$ ), par contre dans la macération et l'infusion.

#### .Détermination d'IC50 de radical FRAP

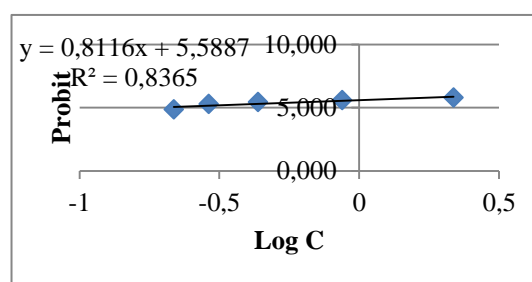
Pour déterminer la concentration inhibitrice de 50% de radical cation de FRAP, on a utilisé le probit comme moyen statistique. Pour cela, les pourcentages d'inhibition de radical ont été transformés en probit et les

concentrations en logarithme décimale, ce qui permet d'établir l'équation des régressions entre le probit et  $\text{Log}_{10}$  (concentration).

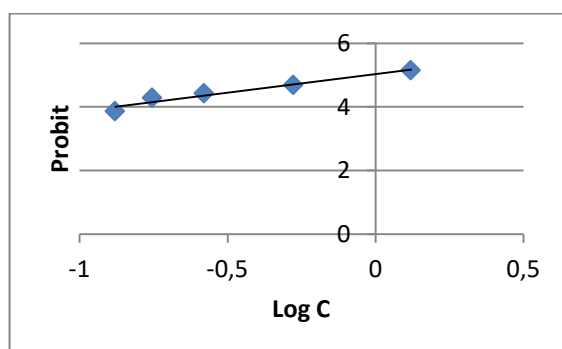
Les résultats obtenus, présentés dans les figures (17), (18) et (19) et le tableau (03), montrent que la macération aqueuse de *Rhantherium adpressum* présente la valeur la plus faible d' $\text{IC}_{50}$  (49,60  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) en comparaison avec les autres extraits et en comparaison avec l' $\text{IC}_{50}$  de Standards utilisés (Trolox et acide gallique) qui ont les valeurs suivantes 188,21  $\mu\text{g}/\text{ml}$  et 946,22  $\mu\text{g}/\text{ml}$  respectivement. Ces résultats prouvent l'efficacité des différents extraits aqueux de *Rhantherium adpressum* dans l'inhibition de l'FRAP. En effet, BELYAGOUBI (2011) a montré que plus l' $\text{IC}_{50}$  est petite plus l'extrait est efficace à inhiber les radicaux libres, et par conséquent sa richesse en molécules ayant la capacité de réduire l'effet nocif des agents oxydants.



**Figure(17):** Relation entre l'inhibition de radical cation de FRAP et la concentration de l'extrait obtenu par macération de *Rhantherium adpressum*.



**Figure(18):** Relation entre l'inhibition de radical cation de FRAP et la concentration de l'extrait obtenu par macération de *Rhantherium adpressum*



**Figure(19):** Relation entre l'inhibition de radicalcation de FRAP et la concentration de l'extrait obtenu par infusion de *Rhantherium adpressum*

**Tableau (03):** Concentration inhibitrice (IC<sub>50</sub>) de 50% de radical cation FRAP des différents extraits aqueux de *Rhanterium adpressum*.

Extrait	Equation de régressions	Coefficient de régressions	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
Décoction	$y = 1.518x + 6.098$	$R^2 = 0,886$	<b>49.60</b>
Infusion	$y = 1.162x + 5,9099$	$R^2 = 0,954$	<b>946.22</b>
Macération	$y = 0,811x + 5.588$	$R^2 = 0,836$	<b>188.21</b>

### 7-Activités antimicrobienne

L'**antimicrobienne** consiste à chercher la sensibilité des souches, le tableau ci-dessous rapporte les valeurs en mm des zones d'inhibitions manifestées sur les différentes souches étudiées.

Les résultats de l'activité antimicrobienne de différents extraits aqueux de *Rhanterium adpressum* représenté dans le tableau suivant (04)

**Tableau (04) :** les activités antimicrobiennes de différents extraits aqueux de *Rhanterium adpressum*

	E.coli			<i>Proteus mirabilis</i>			Micrococcus luteus		
	Infusion	décoction	macération	infusion	décoction	macération	infusion	décoction	macération
0%	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI
10%	NI	9mm	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI
25%	NI	8mm	NI	NI	7mm	NI	NI	8mm	NI
50%	NI	NI	NI	NI	7mm	NI	NI	NI	NI
75%	NI	7mm	NI	NI	11mm	NI	NI	10mm	NI
100%	NI	9mm	NI	NI	7mm	NI	NI	NI	NI

NI : no inhibition

Nous avons étudié le pouvoir antimicrobien des extraits aqueux du plant *Rhanterium adpressum* par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosés solides, Mueller-Hinton pour les bactéries.

L'activité antimicrobienne des extraits a été estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les extraits à tester vis-à-vis de trois souches bactériennes Gram + et Gram – sont les (*E. coli* ; *Proteus mirabilis* ; *Micrococcus luteus*).

La méthode de disque a permis de déterminer l'action des extraits de la plante dissouts dans le milieu de culture sur les différentes souches, celle-ci se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier préalablement imprégné de l'extrait comme témoin de l'absence de la croissance bactérienne dans cette zone.

Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre et d'un extrait à un autre. La variation de l'activité antimicrobienne des extraits explique les variations de leurs compositions chimiques.

La concentration minimale inhibitrice est définie comme étant la concentration la plus basse rapportée pour donner une inhibition complète des bactéries testées après 48 heures d'incubation (BOUDJERF, 2011).

Les plantes contiennent de nombreux composés doués d'une action antimicrobienne, ces constituants comprennent les composés phénoliques, les flavonoïdes, le pouvoir antimicrobien des extraits de plantes est tributaire de leurs compositions chimiques.

Dans les trois testes de l'extrait on macération avec les trois bactéries (*E. coli*, *Proteus mirabilis* ; *Micrococcus luteus*) ce caractériser pas l'absence des zones d'inhibitions .même si le l'extraits on infusion, mais à l'extrait en décoction en remarque des zone d'inhibition

Cette différenciation peut être due à la mode d'extraction et la température élevée .Nos résultats est corroboré avec l'étude de (BENBRINS 2012) qui fait sur la même espèce ; L'extrait aqueux n'a, cependant, produit aucun effet vis-à-vis de toutes les souches testées.





# Conclusion

# CONCLUSION

---

## Conclusion

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Le but principal de notre travail est d'étudier les activités biologiques de plante *Rhantherium adpressum* récolté dans région de Ghardaïa (Hassi lefhal).

La détermination de l'activité biologique d'extrait aqueuse utilise des différentes méthodes d'extraction, telles que la macération, l'infusion et décoction. Le dosage de certain composé phénoliques montre la variation de la richesse des différents extraits selon le mode de préparation .en effet, la décoction est riche en poly phénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés (21,75±1,32mgEAG/g ;4,74±0,49mgER/g ;2,534±0,134mgER/g) respectivement, alors que la macération est riche en acides phénols(2,67±0,13mgEAC/mg).

Le potentiel anti radicalaire des extraits aqueux a été déterminé par les méthodes d'évolution de l'activité anti oxydante a été effectuée par l'ABTS, DPPH, FRAP. Par ailleurs, la macération présente la meilleure capacité anti oxydante dans l'inhibition de l'ABTS<sup>++</sup>avec 3370,63±44,79µMET/g et le DPPH avec 4600,90±120,59µMET/g, la décoction présente la plus activité anti-radicalaire et réductrice de fer qui concerne le FRAP avec 2885,71±566,63µMET/g. les différents extraits aqueux de *Rhantherium adpressum* ont les meilleures pouvoirs antioxydants a partir la détermination d'IC<sub>50</sub> pour l'ABTS, DPPH et le FRAP en comparaison avec les standards (Torolox et acide galique ).

Au cours de cette étude nous avons réalisé également un test antimicrobienne vis-à-vis 3 bactéries *Escherichia coli* (bacille Gram-), *Proteus mirabilis* (bacille Gram-) et *Micrococcus luteus* (cocci Gram+).les résultats obtenus montré que l'extrait aqueuse de *Rhantherium adpressum* on a une faible capacité d'inhibition malgré trouvé une zone d'inhibition qui caractérisé l'extrait en décoction.

## CONCLUSION

---

Ce travail nécessite d'autres études approfondies afin d'évaluer les activités biologiques des extraits aqueux parce que chaque plante se caractérise par un réservoir assez important de métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques particulières qui demandent d'être exploitées par les recherches.

# Références bibliographiques

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- ◆ **Djeridane A ., Yousfi M ., Najemi B ., Vidal N ., Lesgards JF ., and Stocker P .** (2007). Screening of some Algerian medicinal plants for the phenolic Compounds and their antioxidant activity.
- ◆ **Choi Y.M., Noh D.O., Cho S.Y., Suh H.J., Kim K.M., and Kim J.M.** (2006). Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea.
- ◆ **Earp C.F., McDonough C.A. & Rooney L.W.,** 2004. Microscopy of pericarp development in the caryopsis of *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *J. Cereal Sci*
- ◆ **Dykes L. & Rooney L.W.,** 2006. Sorghum and millet phenols and antioxidants. *J. Cereal Sci*
- ◆ **TELLIA.2009.** Extraction, identification et activité biologique des polyphénols des dates (*Phoenix dactylifera*) au cours de différents stades phénologiques (Variété Ghars). Thèse de magistère. Kasdi merbah- ouagla.
- ◆ **OZANDA P.,** 2004. Flore et végétation du Sahara. 3<sup>ème</sup> édition. Ed. C.N.R.S
- ◆ **BELYAGOUBI, N.** 2012. Activité antioxydant des extraits des composés phénolique de dix plantes médicinales de l'Ouest. Thèse de doctorat en biologie. Université Aboubakr Belkaid-Tlemcen.
- ◆ **BENBRINIS, S.** 2012. Evaluation des l'activité antioxydant et antibactérienne des extraits des *Santolina chamaecyparissus*. Thèse de magister en biochimie. Université FERHAT Abbas-SETIF
- ◆ **BOUDJOURF, M.** 2011. Etude de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'*Artemisia campestris* L. Magister. Université Ferhat Abbas, Sétif.
- ◆ **HARRAR, A.** 2012. Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. Thèse de magister en Biochimie et physiologie expérimentale. Université FERHAT Abbas-SETIF.
- ◆ **BOUHAROUM, M.** 2007. Etude phytochimique des plantes médicinales Algériennes : *Rhantherium adpressum* et *Ononis angustissima*. Thèse de Doctorat d'Etat En Chimie Organique Option : Phytochimie. Université Mentouri de Constantine.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- ◆ **Boussoussa ,H. Hamia,C. Djeridane,A. Boudjeniba,M. and Yousfi,M.2014.** Effect of different Solvent Polarity on Extraction of Phenolic Compounds from Algerian *Rhanterium adpressum* Flowers and their Antimicrobial and Antioxidant Activities. Laboratoire Des Sciences Fondamentales, Équipe Chimie Organique Appliquée, Université Amar Telidji, Laghouat.
  
- ◆ **Boizit N., Charpentier J.P. (2006).** Méthodes rapides d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Le cahier des Techniques de l'INRA pp79-82.
  
- ◆ **Quzel P ., Santa S. (1962-1963).** Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales (Tome 1, Tome 2). Ed du centre national de la Recherche Scientifique.
- ◆ Quezel P., Santa S. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales,Tome II. Editions du centre national de la recherche scientifique, Paris, 1963.
  
- ◆ **Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales – 3ème Ed
- ◆ Techniques et documentations. Paris.
  
  
- ◆ **Ribéreau-Gayon J, Peynaud m, Ribéreau-Gayon P and Sudraud P.** Sciences et techniques du vin. Tome 1, analyse et controle des vins. Ed. Dunod, Paris, 1972, p. 671.
- ◆ **Tawaha K., Alali F. Q., Gharaibeh M., Mohammad M. and El-Elimat T.** Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food Chem.* 2007;
  
- ◆ **Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Vidal N., Lesgards J. F. and Stocker P.** Screening of some Algerian medicinal plants for the phenolic compounds and their antioxidant activity. *Eur. Food Res. Technol.* 2007;
  
- ◆ **Cai Y, Luo Q, Sun M, Corke H (2004)** Antioxidant activity phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- ◆ **Boizot N., and Charpentier .J.P.** (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en
- ◆ composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. *Le cahier des techniques de l'Inra*. Pp 79-82. (cited in DjemaiZoueglache S, 2008).
  
- ◆ **Brand-Williams W., Cuvelier M.E., and BersetC.** (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm.Wiss. Technol.* **28**: 25-30.
  
- ◆ **Lee K. W., Kim Y. J., Lee H. J. and Lee C. Y.** (2003). Cocoa Has More Phenolic
- ◆ Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. *J. Agric. Food Chem.* **51**: 7292-7295.
  
- ◆ **Singleton, V.L. and Rossi, J.A. Jr.** (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents, *American Journal of Enology and Viticulture*. 16:144-158.
  
- ◆ **I.F.F. Benzie, S J.J. Tain;** (1996), the ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power, *ehe FRAP essay Anal Biochen . 239, 70-76*
  
- ◆ **Sharif Ali S., Kasoju N., Luthra A., Singh A., Sharanabasava H., Sahuand A., Bora U.** Indian medicinal herbs as source of antioxidants. *Food Res Int* 2008,
  
- ◆ **46. RIBEREAU.GAYON.** (1968).
  
- ◆ **CHEVALLIER, A.** (2001)-**Encyclopédique** des plantes .identification, préparation, sans. édition Larousse, partie,
  
- ◆ **I.F.F. Benzie, S J.J. Tain;** (1996), the ferric reducing ability of plasma (FRAP)
- ◆ as a measure of antioxidant power, *ehe FRAP essay Anal Biochen . 239, 70-76*



## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- ◆ **Zafar, R., & Ali, S. (1998).** Anti-hepatotoxic effects of root and root callus extracts of *Cichorium intybus* L. *Journal of Ethnopharmacology*,
- ◆ Karou, D. ; Dicko, M.H. ; Sanon, S. ; Simpore, J. et Traore, A.S. J. *Ethnopharmacol.* 89 (2003) 291-294.
- ◆

# **Annexes**

