

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA



FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE & BIOCHIMIE

N°:

DOMAINE : SCINCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

FILIERE : SCIENCES BIOLOGIQUES

OPTION : MICROBIOLOGIE APPLIQUÉE

**Mémoire présenté pour l'obtention
Du diplôme de Master Académique**

Par :

Messelmi Chaima
Zegaâr Saliha
Laidani Mouloud
Hassan Khalil

Intitulé

**Les activités biologiques d'une plante médicinale de la région de
Boussaâda**

Soutenu devant le jury composé de :

Dr. BISSET Seghira	MCA	Université Mohamed Boudiaf M'sila	Président
Dr. BENSEMANE Latifa	MCB	Université Mohamed Boudiaf M'sila	Rapporteur
Dr. RABAH Nora	MAA	Université Mohamed Boudiaf M'sila	Examineur

Année universitaire : 2023 /2024

إهداء :

الحمدُ لله حمداً كثيراً طيباً مباركاً فيه غيرَ مكفٍ ولا مودّعٍ ولا مستغنى عنه، أما بعد :

إلى الصوت الحنون الذي يعيد إليّ الأمل ويخترق وحشة قلبي: أمي.

إلى اليد الدافئة التي احتضنت يدي لأخطّ أول مرة اسمي، ومعلمي الأول: أبي.

إلى الذين شدّ الله بهم عضدي: إسماعيل، مُجَّد، فاطمة الزهراء.

إلى صديقتي الصدوقة، رفيقة غرفتي، مؤنستي، وأختي: إيمان بن عبد الكريم.

إلى اللواتي جعلن من الإقامة مكاناً محضراً مزهراً، كل واحدة باسمها، وإلى اللواتي لم تكتحل عيني برؤيتهن بعد.

إلى أساتذتي ومعلمي، والذين أنقذوني من جهلي في ديني ودنياي أصدقائي الكتب.

إلى رفيقة الدرب، الطريق، الليالي الطويلة، والدراسة، الأحبّ إلى قلبي: صليحة زق عار.

إلى الذين هم العز يوم ذلنا، إخوتنا في فلسطين وشهدائهم.

إلى كل من شدّ أزرنا في هذا العمل، أساتذة، أصدقاء، وزملاء.

وأخيراً:

إلى التي كانت صغيرة جداً في عيني واليوم قد كبرت قليلاً: نفسي.

أهديكم عملي وشكري.

شيماء مسلمي

إهداء :

في مطلع هذا العمل، أحمد الله الذي باركنا ومنحنا القوة والشجاعة لتحقيق هذه المذكرة. أتشرف بإهداء هذا العمل:

إلى من قرن اسمي باسمه، فخري الغالي والدي عيش، وإلى الأميرة التي أنجبتني، أمي العزيزة زينب، شكراً لكم على

التضحية والحنان والدعم الذي لم ينقطع. كنتم دائماً القدوة والمصدر الأول لقوتي.

إلى إخوتي وأخواتي وأزواجهم وكتايب العائلة، كل فرد باسمه، شكراً لكم على التواصل والتشجيع المستمر. كنتم دائماً

جزءاً لا يتجزأ من نجاحي وسعادتي.

إلى أساتذتي، شكراً لكم على توجيهكم ونقل المعرفة بحب وإخلاص. كنتم دائماً نجوماً تهديني في ظلمات الجهل

وتفتحون لي أبواب العلم.

إلى أصدقائي: شكراً لكم على وجودكم بجانبني، على كل لحظة قضيتها معي في المذاكرة، وعلى التشجيع الذي كنتم

تقدمونه لي باستمرار. كنتم ولا زلتُم رفاق الدرب وسند الأيام الصعبة.

لصديقتي في الدراسة، شيماء مسلمي: "شكراً لك، شيماء، على كونك دائماً معي في كل مرحلة من مراحل الدراسة.

لقد كنت لي قوة دافعة ودعماً لا يُضاهى. أنا ممتنة لوجودك في حياتي وأقدر كل لحظة قضيتها معك."

لصديقتي في السكن، حنان ويسى: "حنان، لقد كانت فترة السكن معك تجربة رائعة ومليئة بالذكريات الجميلة. شكراً

لك على الصداقة والتعاون والأجواء الرائعة التي خلقتها دائماً في المنزل. لن أنسى أيامنا معاً بسرعة."

إهدائي لكم هذا العمل المتواضع تعبيراً عن امتناني العميق. شكراً لكم جميعاً.

-صليحة-

إهداء :

الحمد لله والصلاة والسلام على رسوله الكريم،

إلى الأكرم منا جميعاً: شهداؤنا الأبرار،

إلى قارعي الغزاة،

إلى المنافحين المدافعين عن النفس والعرض في غزة،

إلى المجاهدين في أرض الرباط غزة العزة، وإلى كل ساكنيها فرّج الله عنهم،

أهدي هذا العمل المتواضع.

- مولود العيداني -

إهداء

الحمد لله وكفى والصلاة على الحبيب المصطفى، أما بعد:

الحمد لله الذي وفقنا لتثمين هذه الخطوة في مسيرتنا الدراسية بمذكرتنا هذه ثمرة الجهد والنجاح، والمهداة

إلى:

والدينا الكريمين، حفظهما الله وأدامهما نوراً لدربي.

سندي وزوجتي الغالية، بارك الله لي فيها

. قرة عيني وفرحة قلبي، صغيرتي شام، رعاها الله ورزقني برها .

رفقاء دربي، إخوتي وأخواتي، رزقهم الله الصحة والعافية ودوام النجاح.

كما لا أنسى زملائي وزميلاتي في هذه المذكرة، ولكل من أعطاني يد العون من قريب أو بعيد وساعدني

على إنجازها.

جزاكم الله خير الجزاء.

-حسان خليل-

Remerciements

Tout d'abord, nos remerciements les plus sincères et chaleureux s'adressent à ALLAH, le Tout-Puissant, qui nous a permis de devenir ce que nous sommes aujourd'hui et qui nous a donné le courage et la santé pour achever ce travail.

Ensuite, nos remerciements vont à notre promotrice, Dr. Bensemmane Latifa. Nous tenons à exprimer notre gratitude pour ses conseils et orientations, qui ont été d'une grande aide dans l'aboutissement de ce travail. Qu'elle trouve ici l'expression de notre reconnaissance et de notre sincère gratitude. À travers sa personne honorable, nous lui rendons un bel hommage.

Nous remercions chaleureusement les membres du jury, Dr. Rabah Nora et Dr. Bisset Seghira, qui ont accepté de juger notre travail.

Nous exprimons également notre gratitude à tous les membres des laboratoires de Microbiologie et Biochimie de l'Université de M'Sila.

À tous nos professeurs tout au long de notre parcours universitaire, ainsi qu'à nos collègues et camarades du département de Microbiologie et Biochimie de l'Université de M'Sila, pour leur soutien et leurs encouragements, nous élevons cet effort par amour et reconnaissance.

Sommaire

Résumé	i
Liste des abréviations	ii
Liste des figures	iv
Liste des tableaux	v
Introduction	1
Chapitre I : Synthèse bibliographique	5
I.1. Plantes médicinales et importance des métabolites secondaires	5
I.2. Intérêt et efficacité des plantes médicinales	5
I.3. Modes d'utilisation des plantes médicinales :	6
I.3.1. Infusion	6
I.3.2. Décoction	6
I.3.3. Macération	6
I.4. Les métabolites secondaires	7
I.4.1. Différents types de métabolites secondaires	7
I.4.1.1. Les composés phénoliques	7
I.4.1.1.1. Les acides phénoliques	8
I.4.1.1.2. Les flavonoïdes	8
I.4.1.1.3. Les tanins	9
I.4.1.2. Les terpénoïdes	9
I.4.1.3. Les alcaloïdes	9
I.4.1.4. Les saponines	9
I.5. Plante <i>Rubia tinctorum</i> L.	10
I.5.1. Historique :	10
I.5.2. Caractéristique de la plante Garance	10
I.5.2.1. Classification botanique:	10

I.5.2.2. Noms Vernaculaires :.....	10
I.5.2.3. Description :.....	11
I.5.2.4. Distribution systématique :	11
I.5.2.5. Utilisations de l'espèce <i>Rubia tinctorum</i> L :.....	12
I.5.2.5.1. Domaine de teinture :.....	12
I.5.2.5.2. Domaine de la médecine:.....	12
ChapitreII. Matériel et Méthodes	12
II.1. Matériel.....	12
II.1.2. Matériel végétal	12
II.1.3. Souches microbiennes utilisées	13
II.2. Préparation et extraction des principes actifs (extraction solide-liquide).....	14
II.2.1. L'extrait aqueux (eau distillée)	14
II.2.2. L'extrait méthanolique	14
II.3. Etude phytochimique	15
II.3.1. Screening phytochimique	15
II.3.1.1. Test de présence des tanins :.....	15
II.3.1.2. Test de présence des quinones :.....	16
II.3.1.3. Test de présence des terpénoïdes :.....	16
II.3.1.4. Test de présence des saponines :	16
II.3.1.5. Test de présence des polyphénols :.....	16
II.4. Analyse quantitative (dosages biochimiques)	16
II.4.1. Dosage des polyphénols totaux	16
II.4.2. Détermination des flavonoïdes totaux	17
II.5. Etude de l'activité anti-oxydante	18
II.5.1. Test de DPPH	18
II.6. Evaluation de l'activité antibactérienne des quatre extraits	19
II.6.1. Préparation de l'inoculum	19

II.6.2. Méthode des puits de diffusion :.....	20
II.6.3. Etude quantitative de l'effet antibactérien.....	21
II.6.3.1. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	21
II.6.3.2. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)	21
II.7. Analyses statistiques.....	22
ChapitreIII. Résultats et discussion.....	23
III.1. Extraction	23
III.2. Etude phytochimique.....	24
III.2.1.1. Screening phytochimique.....	24
III.3. Dosage des composés phénoliques	26
III.3.1. Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes	26
III.4. Etude de l'activité antioxydante.....	27
III.4.1. Test de DPPH.....	27
III.5. Activité antibactérienne.....	29
III.5.1. Résultats de la Détermination CMI et CMB	30
Conclusion.....	35
Références bibliographiques	36
Annexes	

ملخص

النبات الطبي *Rubia tinctorum* L.، المعروف أيضًا باسم الفوة، ينتمي إلى عائلة Rubiaceae ويشتهر بخصائصه الطبية والصبغية. تهدف هذه الدراسة إلى تقييم محصول الاستخلاص والتركيب الكيميائي النباتي وكذلك الخصائص المضادة للأوكسدة والمضادة للبكتيريا للمستخلصات التي تم الحصول عليها من الأجزاء الهوائية والجذرية. أظهرت النتائج أن استخلاص النقع المائي أنتج إنتاجية أعلى قليلاً من الأجزاء الهوائية مقارنة بالجذور، في حين أعطى استخلاص الميثانول إنتاجية مكافئة لكلا أعضاء النبات. أظهر التحليل الكيميائي النباتي وجود مركبات مختلفة مثل العفص، الكينونات، التربينويدات، والبوليفينول في المستخلصات المختلفة (المائية والميثانولية) من الأجزاء الهوائية والجذرية.

أظهرت المستخلصات الميثانولية من الأجزاء المختلفة تركيزات مكافئة من البوليفينول والفلافونويد. وفيما يتعلق بنشاط مضادات الأوكسدة، أظهرت المستخلصات الميثانولية من الأجزاء الهوائية أعلى نشاط في FM، تليها المستخلصات المائية من الأجزاء الهوائية. أظهرت المستخلصات الجذرية لنبات *Rubia tinctorum* L. نشاطاً مضاداً للأوكسدة أقل وضوحاً. فيما يتعلق بالنشاط المضاد للبكتيريا، تم تقييم أربع سلالات بكتيرية، بما في ذلك +Gram و -Gram. أظهرت تقنية آبار الانتشار أن جميع السلالات البكتيرية كانت حساسة لجميع المستخلصات المختبرة، وكانت البكتيريا *staphylococcus aureus*، *Bacillus cereus*، و *Escherichia coli* هي الأكثر حساسية.

الكلمات المفتاحية:

Rubia tinctorum، الفحص الكيميائي النباتي، البوليفينولات، الفلافونويدات، النشاط المضاد للأوكسدة، النشاط المضاد للبكتيريا.

Abstract

The medicinal plant *Rubia tinctorum* L., also known as Madder, belongs to the Rubiaceae family and is renowned for its medicinal and dyeing properties. This study aims to evaluate the extraction yields, phytochemical composition, as well as the antioxidant and antibacterial properties of extracts obtained from its aerial and root parts.

The results showed that aqueous maceration extraction produced slightly higher yields from the aerial parts compared to the roots, while methanol extraction gave equivalent yields for both plant organs. Phytochemical analysis revealed the presence of various compounds such as tannins, quinones, terpenoids, and polyphenols in the different extracts (aqueous and methanolic) from the aerial and root parts.

The methanolic extracts from the different parts showed equivalent concentrations of polyphenols and flavonoids. Regarding antioxidant activity, the methanolic extracts from the aerial parts showed the highest activity in FM, followed by the aqueous extracts from the aerial parts. The root extracts of *Rubia tinctorum* L. exhibited less pronounced antioxidant activity. Concerning antibacterial activity, four bacterial strains, including Gram⁺ and Gram⁻, were evaluated. The well diffusion technique revealed that all bacterial strains were sensitive to all tested extracts, with *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, and *Escherichia coli* being the most sensitive bacteria.

Keys words: *Rubia tinctorum*, phytochemical screening, polyphenols, flavonoids, antioxidant activity, antibacterial activity.

Résumé

La plante médicinale *Rubia tinctorum* L., aussi appelée Foua, appartenant à la famille des Rubiacées et est renommée pour ses vertus médicinales et tinctoriales. Cette étude vise à évaluer les rendements d'extraction, la composition phytochimique, ainsi que les propriétés antioxydantes et antibactériennes des extraits obtenus à partir de ses parties aériennes et racinaires.

Les résultats ont montré que l'extraction par macération aqueuse a produit des rendements des parties aériennes légèrement supérieurs par rapport à ceux des racines, tandis que l'extraction au méthanol a donné des rendements équivalents pour les deux organes de la plante. L'analyse phytochimique a révélé la présence de divers composés comme les tannins, quinones, terpénoïdes et polyphénols dans les différents extraits (aqueux et méthanolique) des parties aériennes et des racinaires.

Les extraits méthanoliques, des différentes parties, ont montré des concentrations équivalentes en polyphénols et en flavonoïdes. En ce qui concerne l'activité antioxydante, les extraits méthanoliques des parties aériennes ont présenté la plus forte activité pour FM, suivi par les extraits aqueux des parties aériennes.

Les extraits des racines de *Rubia tinctorum* L. ont montré une activité antioxydante moins prononcée. En ce qui concerne l'activité antibactérienne, quatre souches bactériennes, comprenant des Gram⁺ et des Gram⁻, ont été évaluées. La technique de diffusion en puits a révélé que toutes les souches bactériennes étaient sensibles à tous les extraits testés. *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* et *Escherichia coli* se sont révélés être les bactéries les plus sensibles.

Les mots clés : *Rubia tinctorum*, Screening phytochimique, polyphénols, flavonoïdes, Activité antioxydante, Activité antibactérienne.

Liste des abréviations

%	Pourcentage
ABS	Absorbance
AlCl ₃	chlorure d'aluminium
C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoïdes
C ₆ H ₅ OH	phénol
CMB	concentrations minimales bactéricides
CMI	concentrations minimales inhibitrices
CO	Carbonyl Group
DMSO	Dimethyl Sulfoxide
DPPH	2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl
E	Est
EA	Extrait aqueux
EAG	Èquivalents d'acide gallique
EM	Extrait Mèthanolique
EQ	Equivalents de quercétine
FA	les extraits aqueux des parties aériennes
Fe	Fer
H ₂ SO ₄	acide sulfurique
FeCl ₃	chlorure ferrique
FM	extraits méthanoliques des parties aériennes
g	gramme
GN	gélose nutritive
IC ₅₀	concentration inhibitrice à 50%
MoO ₄ ²⁻	phosphomolybdène
MS	Matière sèche
N	Nord

Na ₂ CO ₃	Carbonate de Sodium
OH	hydroxyle
RA	extraits aqueux des racines
RM	extraits méthanoliques des racines
T	Température
TFC	Composés flavonoïdes totaux.
TPC	Composés phénoliques totaux
UFC	Unité formant colonie
UV	rayonnement ultraviolet
WO ₄ ²⁻	phosphotungstène
ZI	Zone d'inhibition

Liste des figures

Figure 1: Répartition géographique des différentes espèces de garance	12
Figure 2: Zone de récolte de la plante <i>Rubia tinctorum</i> L.	12
Figure 3: Les différentes parties de <i>Rubia tinctorum</i> L. à gauche les racines et à droite les Parties aériennes.....	13
Figure 4: Les poudres des parties de <i>Rubia tinctorum</i> L.	13
Figure 5: Protocole d'extraction aqueux.	14
Figure 6: Protocole d'extraction méthanolique.	15
Figure 7: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	17
Figure 8: Courbe d'étalonnage de la quercétine.....	18
Figure 9: Mécanismes de récupération du DPPH par un antioxydant	18
Figure 10: Activation bactérienne.	19
Figure 11: Le développement des colonies dans GN après 18 h.	20
Figure 12: Rendements des extraits bruts de <i>Rubia tinctorum</i> L..	23
Figure 13 : Résultats du Screening phytochimique.....	25
Figure 14: Microplaque de test DPPH.	28
Figure 15: Les concentrations des extraits de <i>Rubia Tinctorum</i> L. inhibitrices de 50 % du radical DPPH (IC50)	28
Figure 16: Zones d'inhibition illustrant l'activité antibactérienne.....	Erreur ! Signet non défini.

Liste des tableaux

Tableau 1: Les souches bactériennes et leurs références.	14
Tableau 2: Rendements des différents extraits des deux organes de <i>Rubia tinctorum</i> L.	23
Tableau 3: Criblage phytochimique des différents extraits de <i>Rubia tinctorum</i> L.	24
Tableau 4: Teneur en polyphénols totaux et flavonoïdes.	Erreur ! Signet non défini.
Tableau 5: Diamètres des Zones d'inhibition illustrant l'activité antibactérienne des extraits EM, EA et (400mg/ml).	Erreur ! Signet non défini.
Tableau 6: Détermination de CMI et CMB des 4 extraits de <i>R. tinctorum</i> L.	Erreur ! Signet non défini.
Tableau 7: L'effet bactériostatique/bactéricide des 4 extraits sur les 4 souches bactériennes.	Erreur ! Signet non défini.

Introduction

Introduction

Depuis des temps immémoriaux, l'humanité a recouru aux plantes pour se soigner, utilisant celles qui étaient à sa portée. Quel facteur a guidé ce choix entre les différentes plantes disponibles ? Peut-être le hasard, la religion, ou même la superstition, mais certainement aussi l'expérience, comme le souligne (Zeghad, 2009).

De nos jours, les principes actifs issus des plantes jouent un rôle crucial dans de nombreux médicaments et produits de soins, comme le souligne (Hans,2007). Parmi les quelque 300 000 espèces végétales répertoriées sur la planète, plus de 200 000, en majorité dans les pays tropicaux d'Afrique, possèdent des propriétés médicinales, comme l'ont relevé (Millogo *et al.*, 2005).

Pour évaluer ces propriétés phytothérapeutiques, ainsi que leurs aspects nutritionnels et économiques, des tests biologiques et des criblages phytochimiques sont réalisés sur ces plantes, comme l'ont observé (Lehout et Laib, 2015).

Dans ce contexte, de nombreuses études ont été menées, en cours ou achevées, pour valoriser les plantes médicinales, qu'elles soient déjà connues, inconnues, ou nouvellement découvertes, suscitant un intérêt à l'échelle mondiale, continentale, ou nationale.

L'évaluation du potentiel antibactérien et antioxydant revêt une grande importance, particulièrement pour les plantes largement utilisées en médecine traditionnelle, comme le souligne (Abdel Hakim, 2009).

(Ghabrier, 2010) souligne également l'utilisation des plantes pour leurs propriétés antibactériennes, bien qu'elles restent largement sous-utilisées, notamment dans le domaine de la microbiologie médicale.

L'Algérie bénéficie d'une riche diversité végétale comprenant de nombreuses espèces présentant un intérêt varié, constituant ainsi des axes de recherche scientifique, en particulier dans le domaine des substances naturelles, comme l'ont noté (Haraoui *et al.*, 2019). Certaines de ces espèces font l'objet de recherches intensives depuis des décennies, tandis que d'autres sont encore peu étudiées, voire limitées à une partie de leur potentiel. C'est le cas de *Rubia tinctorum L.*, appartenant à la vaste famille des Rubiacées, échantillonnée dans la région de Boussaâda.

Notre recherche vise à mener une étude comparative portant sur la composition chimique ainsi que les effets biologiques de divers extraits provenant à la fois de la partie aérienne et de la partie racinaire de cette plante.

Le travail réalisé est organisé en trois chapitres, comprenant une introduction générale suivie des sections suivantes :

- **Chapitre 1** : Synthèse bibliographique.
- **Chapitre 2** : Présentation des matériaux et des méthodes utilisés dans l'étude.
- **Chapitre 3** : Présentation des résultats et discussion, et enfin une conclusion générale.

Chapitre I :

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Synthèse bibliographique

L'Algérie possède une des flores les plus diversifiées (méditerranéenne, saharienne et paléo tropicale) (Arab *et al.*, 2014) et les plus originales du bassin méditerranéen où elle compte 3139 espèces répartis dans près de 150 familles parmi lesquelles 653 espèces sont endémiques, soit un taux de 12.6 % (Bouchenak *et al.*, 2020). Les plantes se caractérisent par deux types de métabolismes : le métabolisme primaire procure les constituants de base et le métabolisme secondaire fournit des métabolites en faibles quantités, mais dont les applications dans différents domaines sont de la plus grande importance ; les alcaloïdes, les terpènes et les composés phénoliques (Farah et Abdelhafid, 2008).

I.1. Plantes médicinales et importance des métabolites secondaires

Les plantes médicinales sont, en fait, un trésor de la nature qui offrent une vaste gamme de composés bioactifs lesquels sont utilisés depuis des siècles pour traiter diverses affections. Leur utilisation remonte à l'Antiquité, et même aujourd'hui, avec l'avènement de la médecine moderne, elles continuent à jouer un rôle important dans de nombreuses cultures à travers le monde. Les recherches modernes, sur les plantes médicinales, ont confirmé l'efficacité de nombreuses espèces dans le traitement de diverses maladies.

Les métabolites secondaires présents dans les plantes, tels que les composés phénoliques, sont particulièrement intéressants en raison de leurs propriétés thérapeutiques potentielles. Les études *in vivo* et *in vitro* ont contribué à comprendre les mécanismes d'action de ces composés et leur impact sur la santé humaine.

L'utilisation des plantes médicinales ne se limite pas seulement à la médecine, elles peuvent également servir d'aliments, d'assaisonnements ou même à des fins hygiéniques. Leur polyvalence les rend d'autant plus précieuses pour les communautés qui les utilisent.

I.2. Intérêt et efficacité des plantes médicinales

La phytothérapie a un impact sur le corps en fonction de la composition de la plante. Les plantes et leurs effets étaient comme leurs ingrédients actifs depuis le XVIII^e siècle, quand les scientifiques ont commencé à extraire et à séparer les produits chimiques qu'elles en contenaient. C'est le cas de cette encyclopédie. Il donne une description précise des principaux composés actifs présents dans les plantes médicinales et explique la nature de leurs effets. Il est crucial de trouver des composés actifs provenant de plantes, car cela encourage la création de médicaments indispensables (Boumediene, 2017).

De nos jours, l'industrie pharmaceutique utilise de plus en plus les plantes. Sans la quinine (du genre *Cinchona*), qui est utilisée contre la malaria, sans la digoxine (du genre *Digitalis*), qui

guérit le cœur, sans l'éphédrine (du genre Ephedra), que l'on retrouve dans de nombreuses prescriptions contre les rhumes, on ne peut imaginer le monde. La médecine traditionnelle utilise largement ces trois plantes ainsi que de nombreuses autres (Boumediene, 2017).

À travers diverses recherches, les plantes médicinales ont démontré des activités biologiques très intéressantes, telles que l'anti-ulcère (De Bruyne *et al.*, 1999), l'anti-inflammatoire (Elion Itou *et al.*, 2017), l'anticancéreux (Kanase et Mane, 2018), l'antiparasitaire (Olounladé *et al.*, 2017), l'antiviral (Lopez *et al.*, 2001), l'antioxydante (Bettaieb Rebey *et al.*, 2017), l'antifongique (Dabé *et al.*, 2017) et l'antibactérienne (Etobo *et al.*, 2017).

I.3. Modes d'utilisation des plantes médicinales :

Les composés chimiques présents dans les plantes varient : certains sont solubles dans l'eau, d'autres dans l'alcool éthylique, d'autres encore dans l'huile. Différentes méthodes de préparation peuvent être utilisées à partir des plantes médicinales : infusions, décoctions, macération dans l'alcool (teinture) ou dans l'huile (extraction huileuse, plus rare), etc. On peut également consommer les plantes entières, fraîches ou sèches, en les probables en débris plus ou moins fins. Dans certains cas, les sèves et les sécrétions sont également employées. Enfin, il est envisageable d'en extraire chimiquement des composés actifs pour leur usage thérapeutique. (Benarus, 2009).

I.3.1. Infusion

La méthode de préparation la plus facile et la plus répandue est l'infusion. La plupart des plantes ont une valeur médicinale dans les huiles essentielles qu'elles s'évaporent. Pour réaliser une infusion, il est nécessaire de verser de l'eau chaude sur la drogue réduite en poudre ou de la casserole dans un récipient avec un couvercle. Ensuite, laissez-la tremper pendant 5 à 10 minutes, puis passez le filtre. Les médicaments présents dans les feuilles, les fleurs et les tiges peuvent être utilisés dans l'infusion. (Nogaret, 2003).

I.3.2. Décoction

En général, il est nécessaire de traiter les racines, l'écorce, les tiges et les baies avec un traitement plus énergétique qu'aux feuilles ou aux fleurs. Une décoction implique de faire bouillir des plantes séchées ou fraîches, préalablement coupées en petits morceaux, dans de l'eau, puis de filtrer le liquide obtenu (le décocté).

Elle peut être dégustée chaude ou froide. (Chevallier, 2001).

I.3.3. Macération

Les parties souterraines des plantes et des écorces sont principalement utilisées pour ces préparations, et il est difficile de libérer leurs composants actifs lors du trempage. C'est en

infusant les plantes dans l'eau, en les faisant bouillir, en les refroidissant et en les filtrant que l'on extrait les caractéristiques des plantes. (Delille, 2007).

I.4. Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires jouent un rôle essentiel dans la croissance des plantes, comprenant principalement les alcaloïdes, les terpénoïdes, les stéroïdes et les composés phénoliques, qui ont une grande valeur économique, en particulier pour l'industrie pharmaceutique et cosmétique. (Peeking *et al.*, 1987).

Ces composés chimiques semblent avoir un rôle essentiel dans la nature en diminuant l'appétence des plantes qui les renferment, voire en les rendant répulsifs pour les animaux (Hopkins, 2003). Il existe des controverses quant à leurs fonctions physiologiques précises, mais elles sont généralement liées aux fonctions d'attraction des pollinisateurs, de protection contre les agents pathogènes, les prédateurs et différentes contraintes environnementales telles que les rayonnements UV et les fluctuations de température (Bell, 1980).

Selon (Guignard ,2000) et (Bruneto ,2009) les métabolites secondaires participent dans diverses actions à l'intérieur et à l'extérieur de la plante. On cite à titre d'exemple l'attraction des agents chargés de la pollinisation ou de la dissémination des fruits, la protection et la défense de la plante contre l'attaque des pathogènes ou des herbivores. Ils participent aussi aux réponses allélopathiques, la compétition entre les plantes pour la germination et la croissance. Ainsi, il faut noter qu'ils sont considérés comme molécules très utiles pour l'Homme, utilisées comme colorants, arômes, épices, antibiotiques, diurétiques, anti-inflammatoires, herbicides, drogues, etc...

I.4.1. Différents types de métabolites secondaires

Chez les plantes, on distingue trois grandes catégories de métabolites secondaires : les phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes. (Raven *et al.*, 2003).

I.4.1.1. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques forment un ensemble très diversifié de substances organiques cycliques dérivées du phénol C₆H₅OH, un monohydroxybenzène. Présents de manière étendue dans le règne végétal, on les trouve dans diverses parties des plantes telles que les racines, les feuilles, les fruits et l'écorce. La couleur, l'arôme et l'astringence des plantes dépendent de la concentration et de la transformation de ces phénols. Dans leur forme naturelle, ces composés sont généralement liés sous forme d'esters ou plus généralement d'hétérosides (Walton et Broun, 1999).

Les composés phénoliques sont caractérisés, comme leur nom l'indique, par la présence de multiples groupements phénoliques associés en structures plus ou moins complexes (Benslama, 2016). Certains existent également sous forme de polymères naturels, notamment les tanins. Parmi les composés phénoliques les plus importants et répandus, on retrouve les flavonoïdes (Walton et Broun, 1999).

I.4.1.1.1. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques, quant à eux, constituent une catégorie de composés phénoliques qui contiennent un seul groupe d'acide carboxylique. Présents principalement sous forme liée, tels que les amides, les esters ou les glycosides, ils sont rarement trouvés sous forme libre (Nidhi et Naresh, 2019). La différenciation entre les acides phénoliques réside dans le nombre et la position des groupes hydroxyle sur le cycle aromatique, et ils sont principalement divisés en deux sous-groupes : les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques.

La variation entre les acides phénoliques est déterminée par le nombre et l'emplacement des groupes hydroxyle sur le cycle aromatique. Ces acides sont principalement classés en deux sous-groupes : les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques (Khoddami *et al.*, 2013).

I.4.1.1.2. Les flavonoïdes

Le flavonoïde provient du latin flavus, qui signifie jaune. À l'origine appelées vitamine P en 1936 pour leur capacité à contrôler la perméabilité des vaisseaux sanguins, ce nom a été supprimé plus tard car les flavonoïdes ne répondaient pas aux critères d'une vitamine. (Harrar, 2012).

Les flavonoïdes englobent une vaste gamme de composés polyphénoliques, comprenant une structure commune en C6-C3-C6 et composés de base à 15 atomes de carbone (Derbel et Ghedira, 2005). Principalement, ils jouent le rôle de pigments, donnant des couleurs jaunes, oranges et rouges à différents organes végétaux (Derbel et Ghedira, 2005), et contribuent aux mécanismes de protection contre les rayons UV, les herbivores et les attaques microbiennes (Crozier, 2003).

Les flavonoïdes sont présents dans une variété de sources alimentaires telles que les fruits (notamment les agrumes où ils peuvent représenter jusqu'à 1% du fruit frais), les légumes, le thé et le café, qui en contiennent également en quantités significatives. En tant que composés naturels, les flavonoïdes se retrouvent également dans de nombreuses plantes médicinales (Derbel et Ghedira, 2005).

I.4.1.1.3. Les tanins

Les tanins sont des substances hydrosolubles polyphénoliques, dont la masse moléculaire varie entre 500 et 3000 kDa pour les polymères, et qui ont la capacité de tanner la peau, la rendant ainsi imputrescible. Cette caractéristique résulte de leur aptitude à se fixer sur des macromolécules comme les protéines, ce qui provoque la précipitation des alcaloïdes et de la gélatine (Harrar, 2012).

On distingue deux types de tanins : les tanins hydrolysables et les tanins condensés.

I.4.1.2. Les terpénoïdes

Les terpénoïdes, aussi appelés isoprénoides, forment un ensemble de molécules très variées, tant sur le plan structurel que fonctionnel. Lorsqu'ils se dégradent, ils produisent un gaz, l'isoprène. (Guillaume, 2015).

I.4.1.3. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances organiques naturelles, hétérocycliques, qui contiennent une base azotée, plus ou moins basique, et qui possèdent une structure moléculaire complexe et des propriétés pharmacologiques évidentes même à faible dose. La majorité sont extrêmement dangereuses à des doses élevées. (Donatien, 2009).

Même s'ils proviennent essentiellement des plantes fleurissantes, ils sont également présents chez certains animaux comme les fourmis, les grenouilles et les coccinelles (Mauro, 2006). Les alcaloïdes sont employés dans différents secteurs médicaux tels que les traitements contre le cancer, les antipaludéens et les antiarythmiques. (Vincenzo et Pierre, 2001).

Environ 12 000 alcaloïdes sont différents produits par les plantes, et ils peuvent être regroupés en plusieurs groupes. (Jörg et Peter, 2008).

I.4.1.4. Les saponines

Les saponines sont dérivées du latin *sapo*, savon, car ces substances moussent lorsqu'elles sont agitées avec de l'eau. Ces composés sont constitués d'aglycones non polaires associés à un ou plusieurs sucres. Les saponosides sont essentiellement des substances très polaires et se trouvent fréquemment dans les plantes sous forme de mélanges complexes. Ils présentent de nombreuses caractéristiques biologiques et pharmacologiques, telles que des effets immunomodulateurs, immunoadjuvants, cytotoxiques, antitumoraux et hypocholestérolémiant. (Kissoum et Khalfaoui, 2015).

I.5. Plante *Rubia tinctorum* L.

I.5.1. Historique :

La garance est l'une des plantes tinctoriales dont les utilisations comptent parmi les plus anciennes, que ce soit sur des étoffes de coton retrouvées à Mohenjo-Daro, en Inde (3250 à 2750 av. J.-C.), ou sur du lin dans des tombes de la vallée du Nil (1350 av. J.-C.).

Elle est également évoquée dans la Bible et dans les premiers textes sumériens (Cardon, 2003). Sa culture était très répandue en Syrie et en Mésopotamie, mais principalement exportée vers l'Arménie et l'Asie centrale. Jusqu'au début du 18^{ème} siècle, la teinture du coton est dominée par l'Inde.

Depuis toujours, les plantes tinctoriales ont joué un rôle essentiel dans les échanges commerciaux internationaux ; c'est l'une des principales motivations pour les voyages et les explorations. Depuis l'Antiquité, elles ont servi de matière première pour la production de pigments et la teinture des textiles.

I.5.2. Caractéristique de la plante Garance.

I.5.2.1. Classification botanique:

La situation botanique de l'espèce *Rubia tinctorum* Linné est la suivante (Derksen, 2001) :

Règne végétal : Plantae

Sous règne : Trachéophytes

Embranchement : Spermaphytes

Ss embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Ss classe : Astérides

Famille : Rubiaceae

Genre : *Rubia*

Espèce : *Rubia tinctorum* Linné

I.5.2.2. Noms Vernaculaires :

Arabe et berbère : El foua, Tarubia, Tigmit, Lhamri (Bellakhder, 1997)

Français : Garance des teintures (Debuigne, 1974).

Anglais: Dyer's Madder, Madder (Gilbert and Cooke, 2001)

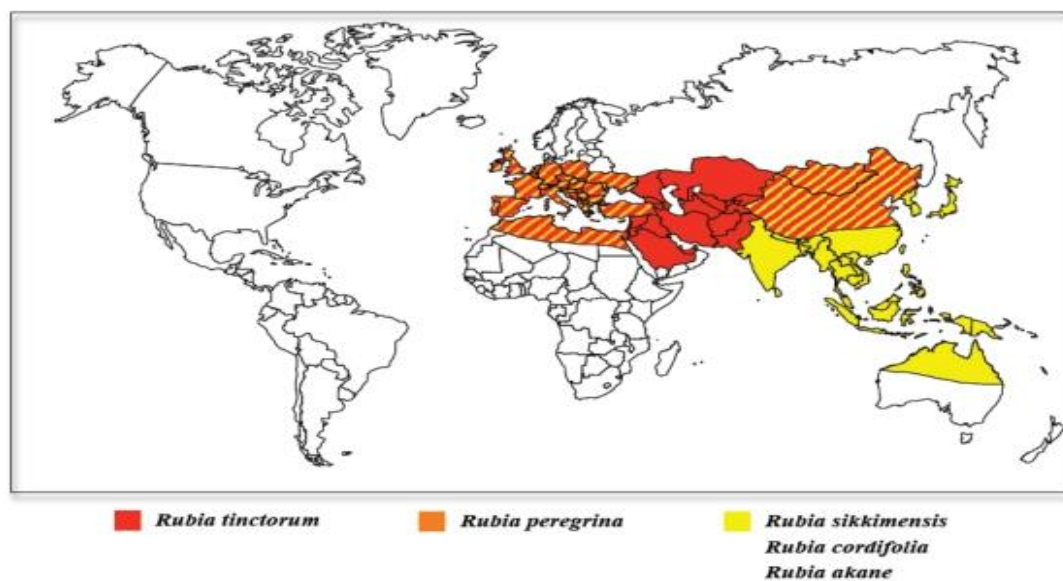
Allemand : Färber-Krapp, Färberröte (Prince, 2014).

Espagnol : Granza, Rubia de tintoreros, Rojatintòria (Molas, 1994).

I.5.2.3. Description :

D'après (Guillaume Cuoco,2009), la garance nommée *Rubia tinctorum* L. est une plante :

- Herbacée vert-clair, vivace et glabre ;
- À tige d'environ 1 m à section carrée, couchées ou grimpantes, munies sur les angles d'aiguillons crochus et possède une longue tige souterraine ainsi que des racines ramifiées ;
- À feuilles assez grandes lancéolées, opposées, simples et entières, avec des stipules assez



eux
et la
; en
l'est
ées,

Les Rubiacées s'adaptent à tous les milieux, y compris les déserts. Elles sont abondantes dans les forêts tropicales, humides et sèches, où elles se trouvent principalement dans le sous-bois. Il y a moins de Rubiacées dans les savanes et ce sont principalement les formes herbacées qui y sont présentes. (Cardon, 2003).

Les espèces de garance sont réparties en trois zones principales. Pour les garances des teinturiers (*R. tinctorum* L.) et des voyageurs (*R. peregrina* L.), l'Europe occidentale, le bassin méditerranéen et une grande partie de l'Asie. Les garances indiennes se développent principalement sur les pentes de l'Himalaya, notamment la garance du Munjeet (*R. cordifolia* L.) et la garance du Sikkim (*R. sikkimensis* K.). Finalement, une espèce est originaire du Japon (*R. akane* N.), (Cardon, 2003) (Figure 1).

Figure 1: Répartition géographique des différentes espèces de garance (Hovaneissian, 2005).

I.5.2.5. Utilisations de l'espèce *Rubia tinctorum* L :

I.5.2.5.1. Domaine de teinture :

Les colorants anthraquinones de la garance, ainsi que de nombreuses molécules colorantes provenant de matières végétales et animales, ont été utilisés depuis longtemps en teinture, notamment pour le coton, la laine et la soie. (Trojanowicz *et al.*, 2004).

I.5.2.5.2. Domaine de la médecine:

Selon Lémery, ces racines ont une action apéritive sur les urines et sont légèrement astringentes dans le ventre. Elles sont utilisées pour la jaunisse, tandis que pour la pierre, elles sont résistantes au vénéin. (Lémery). (Bonnemain Bruno, 2018)

Sur l'employée dans le traitement de l'ictère, de l'obstruction de la rate, de la mélancolie, de la paralysie, des hémorroïdes, de la sciatique et des ecchymoses. (HC et Jain, 1982).

En outre, ses feuilles possèdent des vertus purifiantes et cholérétiques. En herboristerie, la garance est réputée pour ses vertus cholagogues, antilithiasiques, astringentes et laxatives. Traditionnellement, on utilise la décoction de racine pour soigner les infections de l'arbre urinaire, les diarrhées et la stérilité. (König, 2008).

Partie pratique

Chapitre II : Matériel et

Méthodes

Chapitre II. Matériel et Méthodes

L'étude a été menée au niveau des laboratoires pédagogiques du département de Biochimie et Microbiologie de l'université Mohamed Boudiaf M'sila.

Nous avons entrepris une étude de Screening phytochimique sur quatre extraits de *Rubia tinctorum* L. (Foua). Cette étude comprend la détermination des teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes, ainsi que la mise en évidence de certaines activités biologiques.

II.1. Matériel

II.1.1. Zone de récolte:

La zone de récolte des échantillons se trouve dans la commune de Bou Saada (Figure 2) située à 250 km au Sud-Est d'Alger (33°48'N, 02°53'E). Celle-ci est bordée au Nord, par la commune d'Ouled Sidi Brahim, au Nord-Est par celle d'El Maarif, à l'Est par la commune d'El Haouamed, au Sud par la commune d'Oultem, au Sud-Ouest par la commune d'El Hamel et à l'Ouest par la commune de Tamsa. Bou Saada est l'Oasis la plus proche de la capitale. C'est un carrefour stratégique entre la Méditerranée et le Sahara, mais aussi entre la chaîne des Zibans et le littoral algérois, ainsi qu'entre le M'zab et le Constantinois.



Figure 2: Zone de récolte de la plante *Rubia tinctorum* L.

II.1.2. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé, récolté manuellement en février 2024, dans la région de Bousaada Wilaya de M'sila, est constitué des parties aériennes (tiges, feuilles et fleurs) et de la partie souterraine (racines) de la plante *Rubia tinctorum* L (Figure 3). La plante a été authentifiée par un agriculteur de la région. Les différents organes récoltés de la plante ont été immédiatement nettoyés et débarrassés de tout corps étranger et mis à sécher dans un endroit sec, aéré et à l'abri

de la lumière durant 7 jours pour préserver, au maximum, l'intégrité des substances bioactives naturelles existants dans le matériel végétal.



Figure 3: Les différentes parties de *Rubia tinctorum* L. à gauche les racines et à droite les Parties aériennes.

Chaque partie de la plante a été broyée, séparément, en poudre fine (Figure 4), à l'aide d'un broyeur électrique et conservée dans un bocal hermétique à T° ambiante avant leur utilisation dans la préparation des différents extraits.

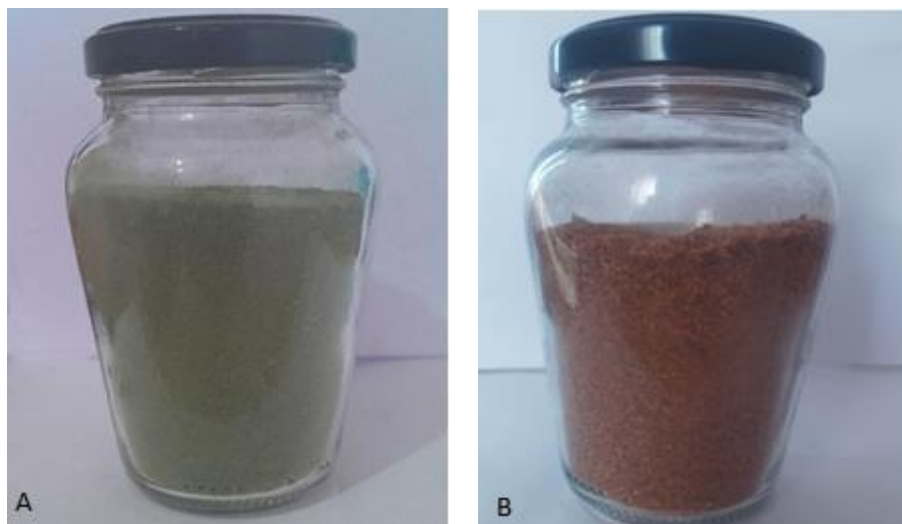


Figure 4: Les poudres des parties de *Rubia tinctorum* L. A : partie arienne ; B : les racines.

II.1.3. Souches microbiennes utilisées

Les souches bactériennes utilisées dans cette étude, fournies par le laboratoire de microbiologie du département de Microbiologie et Biochimie de l'Université de M'Sila, sont référencées pour leur faculté de pathogénicité et leur multi-résistance aux antibiotiques. (Tableau ci-dessous)

Tableau 1: Les souches bactériennes et leurs références.

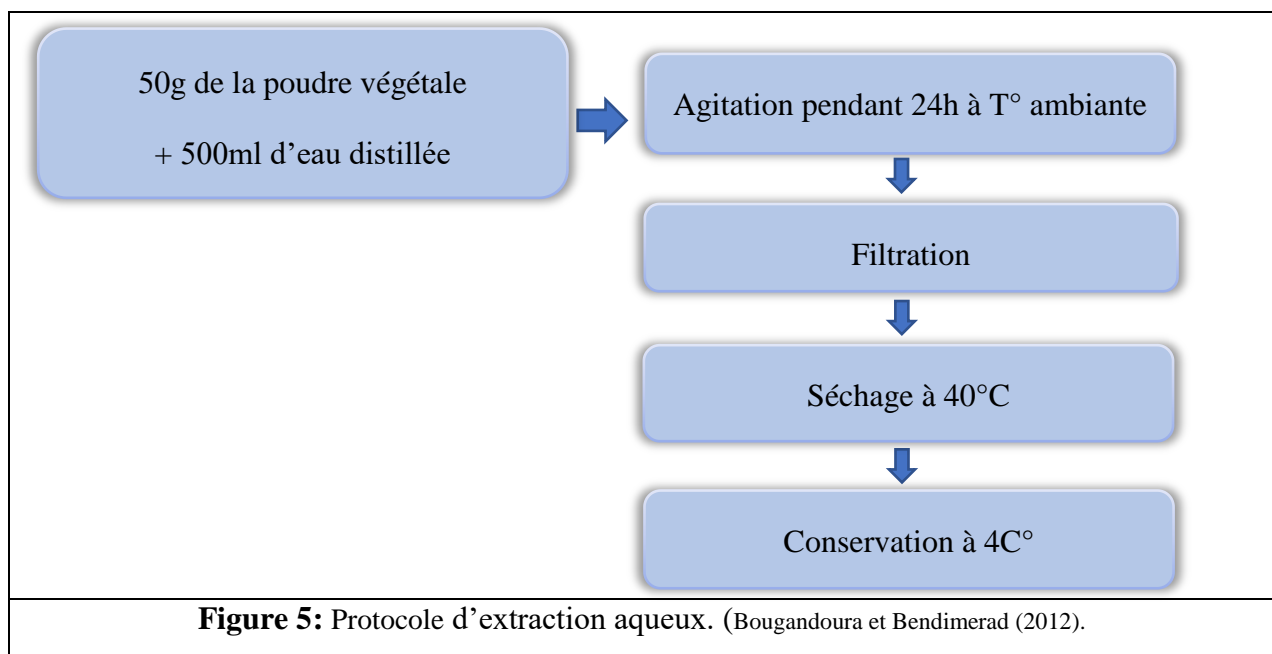
Les souches bactériennes	Références	Gram
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	-
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 10876	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	+

II.2. Préparation et extraction des principes actifs (extraction solide-liquide)

Différents extraits ont été obtenus, par macération, à partir de la poudre des parties aériennes et des racines de la plante *Rubia tinctorum* L. en utilisant deux solvants de polarités différentes : l'eau distillée et le méthanol.

II.2.1. L'extrait aqueux (eau distillée)

L'extrait aqueux de *Rubia tinctorum* L, est préparé selon la méthode de (Bougandoura et Bendimerad, 2012) avec de légère modification. 50g de la poudre végétale soumise à une extraction par macération avec 500ml d'eau distillée, pendant 24H à température ambiante. L'ensemble est filtré sur du papier filtre afin de séparer le marc du filtrat. L'extrait aqueux a été sécher pour le réduire en poudre (Figure 5).

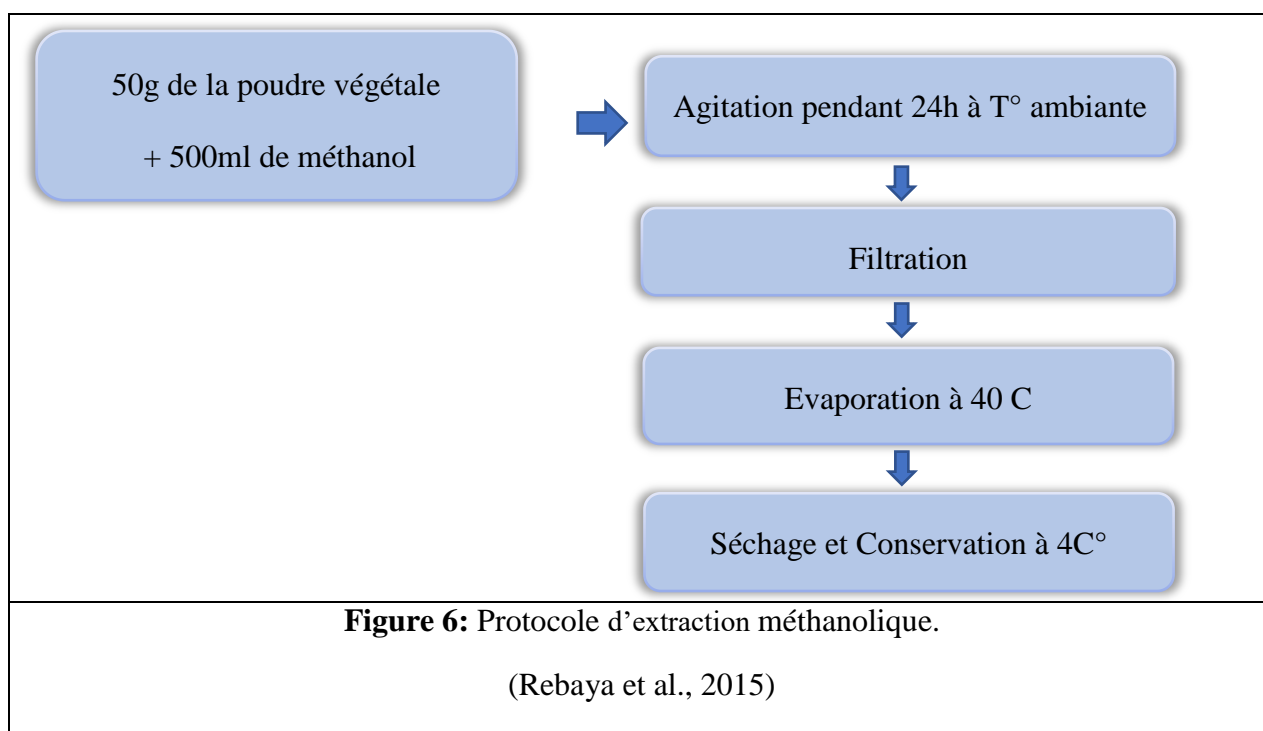


II.2.2. L'extrait méthanolique

La méthode utilisée est celle de (Rebaya *et al.*, 2015) avec de légères modifications. Ils notent que l'extrait méthanolique, des parties aériennes et la partie souterraine de la plante *Rubia*

tinctorum L, préparé en laissant macérer, à température ambiante, 50g de poudre du végétal avec 500ml de méthanol, pendant 24 heures sous agitation douce continue.

Ensuite, une filtration est réalisée sur coton puis sur papier filtre. Le solvant a été récupéré du filtrat par un évaporateur (Rotavapor type Buchi R 200) à une température de 40°C. Récupérer l'extrait du ballon du rotavapeur, sécher dans une étuve à 40°C pendant 24 heures et conserver, dans des flacons en verre fumé au réfrigérateur à 4C°, jusqu'à utilisation (Figure 6).



II.3. Etude phytochimique

Les tests phytochimiques comportent l'identification des différentes principales familles des métabolites secondaires contenues dans les parties aériennes et souterraines de la plante *Rubia tinctorum* L. par une détermination qualitative simple.

II.3.1. Screening phytochimique

La présence ou l'absence des principales familles des composés chimiques existants dans les extraits étudiés, est basée sur des réactions de précipitation, ou de coloration, selon la méthode décrite par (Sunil et al., 2012).

II.3.1.1. Test de présence des tanins :

Il est mélangé, dans un tube à essai, 1 ml d'extrait (concentration 4 mg/ml) avec quelques gouttes de chlorure ferrique (FeCl_3) à 0.1%. La formation d'un précipité noir bleuâtre ou noir verdâtre indique la présence de tanins.

II.3.1.2. Test de présence des quinones :

Dans un tube à essai, il est ajouté 500 µl d'extrait de concentration 4 mg/ml avec 500 µl d'acide sulfurique concentré (H₂SO₄) et l'apparition d'une coloration rouge indique la présence de quinones.

II.3.1.3. Test de présence des terpénoïdes :

Le mélange de 1 ml de chaque extrait (4 mg/ml) avec 0.5 ml de chloroforme, auquel il est ajouté lentement 0,75 ml d'acide sulfurique (H₂SO₄) donne, s'il y a présence de terpénoïdes, la formation à l'interface d'un anneau brun rougeâtre.

II.3.1.4. Test de présence des saponines :

Dans un tube à essai, 500 µl d'extrait (4 mg/ml) ajouté à 3 ml d'eau distillée et Agités vigoureusement pendant 15 minutes, la formation d'une couche stable de mousse indique la présence de saponines.

II.3.1.5. Test de présence des polyphénols :

En combinant 2 ml d'extraits (à une concentration de 4 mg/ml) avec une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique à 2 %, l'observation d'une coloration bleu-noirâtre ou verte, avec une intensité variable, indique la présence des polyphénols (Tuo, 2015).

II.4. Analyse quantitative (dosages biochimiques)

Des déterminations quantitatives des principaux groupes de métabolites secondaires : particulièrement les polyphénols totaux et les flavonoïdes ont été effectuées sur les quatre extraits de *Rubia tinctorum* L.

II.4.1. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en phénols totaux des extraits de la plante est déterminée par la méthode colorimétrique de Folin–Ciocalteu (Bouyahya *et al.*, 2017). La méthode repose sur la réduction en milieu alcalin d'un mélange de phosphotungstène (WO₄²⁻) et de phosphomolybdène (MoO₄²⁻) du réactif de Folin par les groupements oxydables des composés phénoliques. Cela entraîne la formation d'un produit de réduction de couleur bleue.

Brièvement, les extraits sont dilués à une concentration de 1 mg/ml. Ensuite, 100 µl d'extrait ou de solution standard d'acide gallique à différentes concentrations (20, 40, 60, 80 et 100 µg/ml) sont mélangés avec 500 µl de réactif de Folin (dilué dix fois dans de l'eau distillée) et 400 µl de Na₂CO₃ (7 %).

Après 40 minutes d'incubation, à température ambiante ($23 \pm 2^\circ\text{C}$), l'absorbance est mesurée à 760 nm. La quantification des polyphénols est effectuée en utilisant une courbe standard d'acide gallique (Figure 7). Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalents d'acide gallique (EAG) par gramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait).

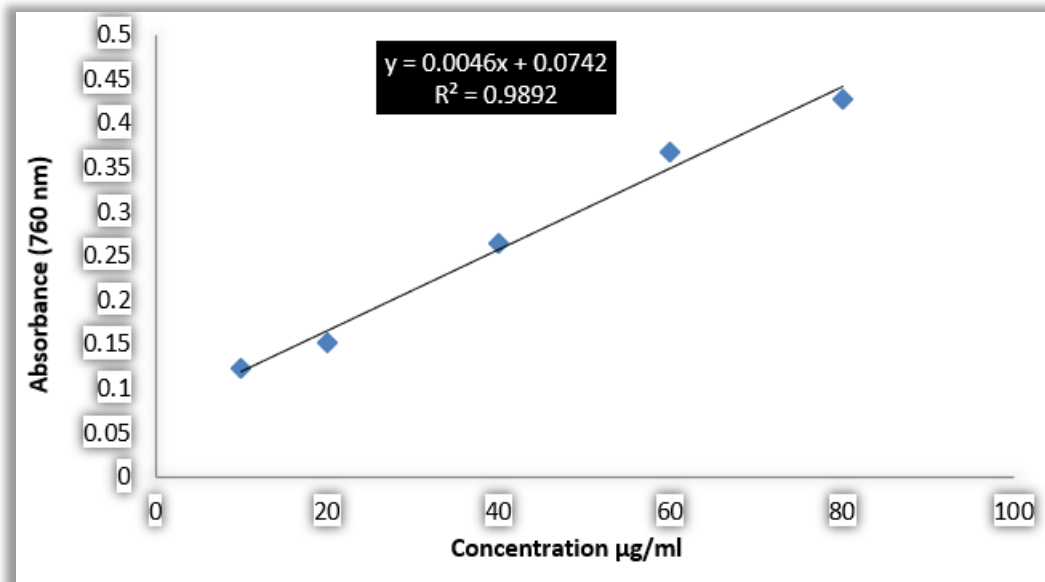


Figure 7: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

II.4.2. Détermination des flavonoïdes totaux

Le contenu total en flavonoïdes a été déterminé en utilisant la méthode colorimétrique du chlorure d'aluminium décrite par (Bouyahya *et al.*, 2017). Le principe repose sur l'oxydation des flavonoïdes qui contiennent un groupe hydroxyle (OH) libre par le réactif (AlCl_3), susceptible de former un complexe coloré avec le groupement CO. Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres en se liant aux métaux (fer et aluminium) par chélation.

1 ml d'extrait (à une concentration de 1 mg/ml dans le méthanol) ou de solution standard de quercétine à différentes concentrations (10, 20, 40, 60, 80 et 100 µg/ml) sont mélangés avec 1 ml d' AlCl_3 (2 %) dans le méthanol. Après 40 minutes d'incubation à température ambiante ($23 \pm 2^\circ\text{C}$), l'absorbance est mesurée à 430 nm. Les concentrations de flavonoïdes sont déterminées à partir de la courbe d'étalonnage établie avec la quercétine (Figure 8). Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalents de quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g d'extrait).

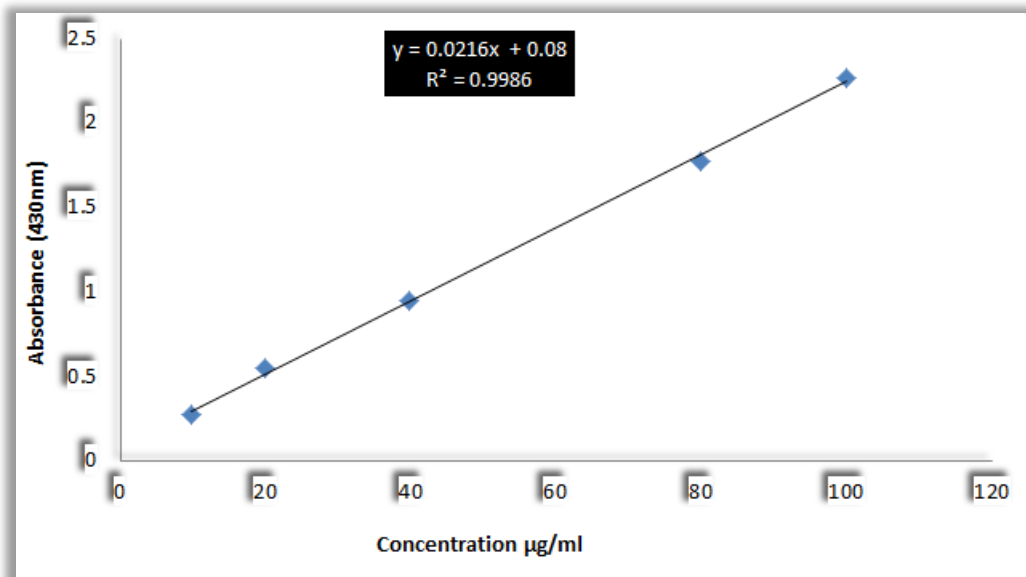


Figure 8: Courbe d'étalonnage de la quercétine.

II.5. Etude de l'activité anti-oxydante

II.5.1. Test de DPPH

Le dosage du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) est une méthode simple et hautement sensible qui repose sur la réduction d'une solution alcoolique de DPPH en présence d'un antioxydant, produisant ainsi DPPH-H non radicalaire. Cette réaction entraîne un changement de couleur de violet à jaune, indiquant la formation de DPPH suite à l'absorption de l'hydrogène antioxydant (Moon, 2009).

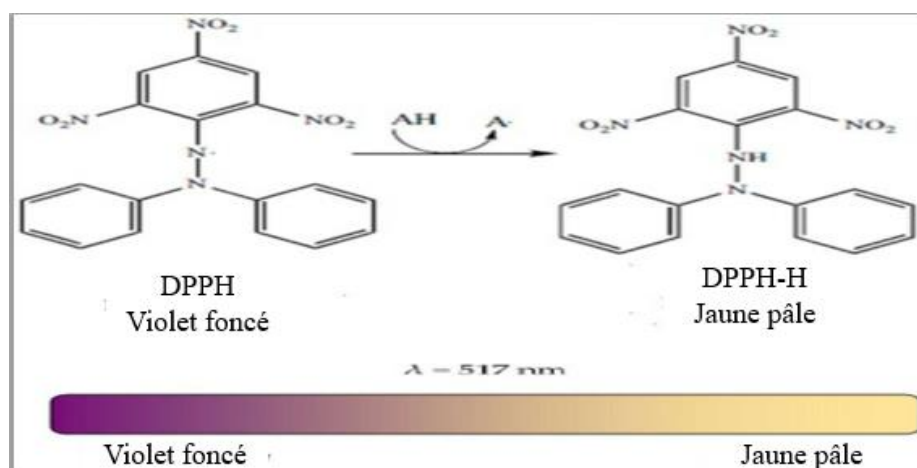


Figure 9: Mécanismes de récupération du DPPH par un antioxydant (Munteanu et Apetrei, 2021).

La capacité de piégeage des radicaux libres des extraits a été évaluée en utilisant le test au DPPH comme décrit par (Blois, 1958). Environ 40 µl de chaque concentration d'extrait (1, 0.5, 0.25, 0.125, 0.0625, 0.0312 mg/ml) ont été ajoutés à 160 µl d'une solution de DPPH (6 mg de DPPH dissous dans 100 ml de méthanol). Le mélange a été vigoureusement agité et laissé à

température ambiante dans l'obscurité pendant 30 minutes. L'expérience a été réalisée en triplicat et l'absorbance a été déterminée à 517 nm en utilisant un lecteur de microplaques à 96 puits. L'acide ascorbique a été utilisé comme standard et la capacité de chaque concentration d'extrait à piéger le radical DPPH a été calculée en utilisant l'équation suivante :

$$I\% = [(Ac - A_E) / Ac] \times 100$$

I% : pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH

AC : Absorbance du contrôle

AE : Absorbance de l'échantillon

II.6. Evaluation de l'activité antibactérienne des quatre extraits

Les essais antimicrobiens des différents extraits ont été réalisés sur quatre souches bactériennes (Tableau I).

Le test de susceptibilité a été effectué selon la méthode des puits de diffusion.

II.6.1. Préparation de l'inoculum

Des suspensions ont été préparées pour chaque souche bactérienne en les activant dans un bouillon nutritif à 37°C pendant 24 heures (figure 10).



Figure 10: Activation bactérienne.

Ensuite, elles ont été ensemencées, en stries, sur une boîte de Pétri contenant de la gélose nutritive (GN) et incubées pendant 18 heures à 37°C (figure 11). Ensuite prélever, à l'aide d'une anse de platine stérile, une colonie de chaque bactérie activée et la mettre dans 9 ml d'eau physiologique stérile. Après homogénéisation au vortex, l'inoculum a été ajusté à une turbidité standard de 0,5 McFarland, correspondant à une densité optique de 0,08-0,12, pour atteindre une concentration de 10⁷ à 10⁸ UFC/ml (Khrich *et al.*, 2018).

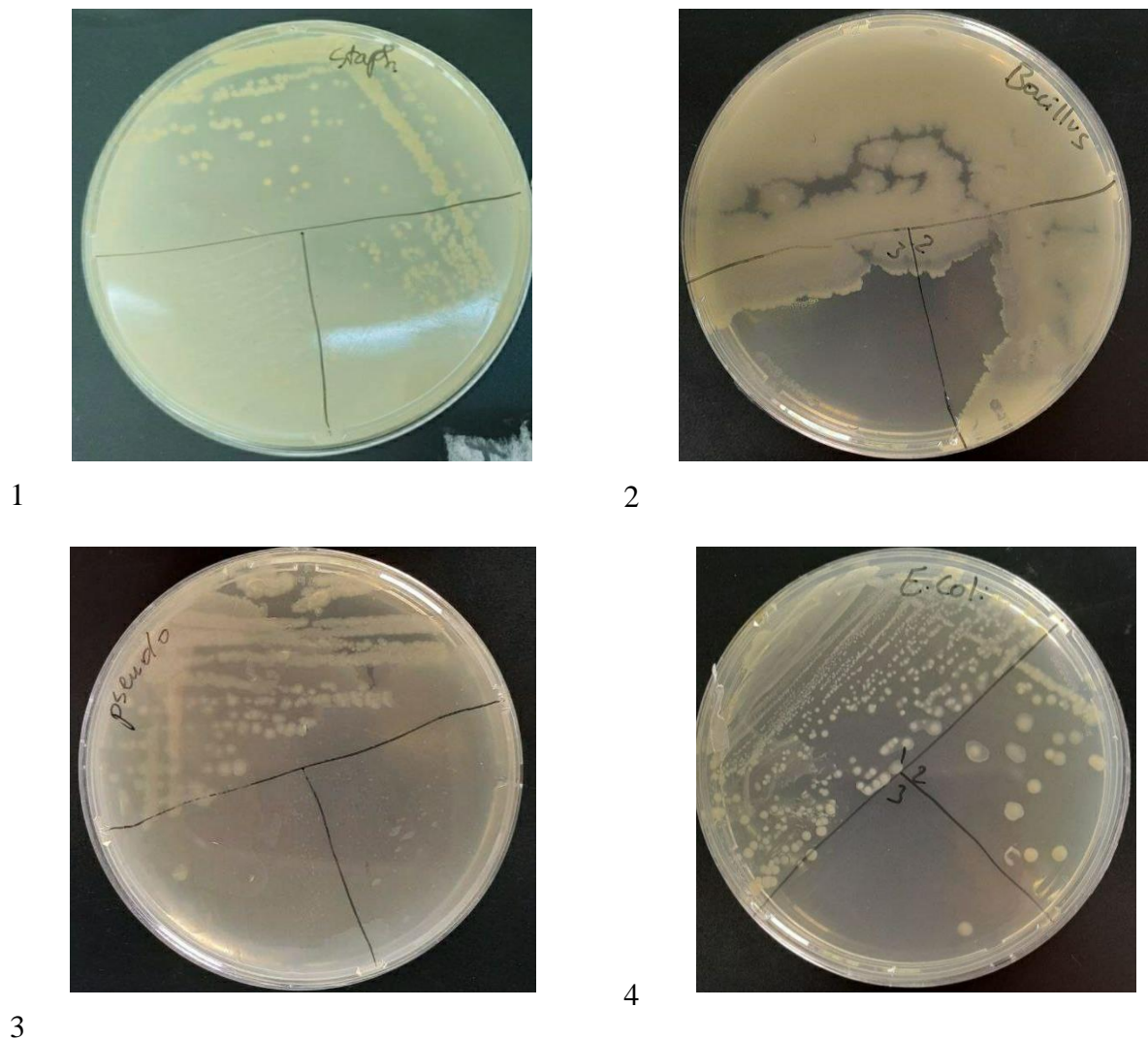


Figure 11: Le développement des colonies dans GN après 18 h.

1 : *S. aureus*, 2 : *B. cereus*, 3 : *P. aeruginosa*, 4 : *E. coli*

II.6.2. Méthode des puits de diffusion :

Les boîtes de Pétri contenant de la gélose Mueller Hinton sont ensemencées de manière aseptique avec les suspensions bactériennes préalablement préparées. L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage, puis la gélose est perforée pour former des puits de 7 mm de diamètre. Les cavités ainsi créées sont remplies de l'extrait à des concentrations de 400 mg/ml, avec du DMSO comme contrôle négatif et de la gentamicine comme contrôle positif. Les boîtes sont ensuite placées à 4°C pendant 2 heures pour permettre la diffusion des extraits testés dans le milieu ensemencé, puis incubées à 37°C pendant 24 heures dans une étuve. Après l'incubation, les résultats sont lus en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque puits ; plus ce diamètre est grand, plus la souche est sensible (Bouyahya *et al.*, 2017).

La lecture est effectuée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition (ZI) autour de chaque puits ou de l'antibiotique. La réponse de la bactérie à l'extrait est qualifiée comme suit : non

sensible (-) pour les diamètres de 8 mm (pas d'inhibition autour du disque) ; sensible (+) pour les diamètres de 9 à 14 mm ; très sensible (++) pour les diamètres de 15 à 19 mm ; extrêmement sensible (+++) pour les diamètres supérieurs à 20 mm (Ponce *et al.*, 2003).

II.6.3. Etude quantitative de l'effet antibactérien

Le but de cette étude est la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et les concentrations minimales bactéricides (CMB) des souches les plus sensibles aux extraits testés.

II.6.3.1. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La technique consiste à préparer séparément les extraits aux concentrations définies, puis à les introduire dans le milieu de culture dans des microplaques de 96 puits. Les extraits ont d'abord été dissous dans le bouillon nutritif avec du DMSO. Les suspensions bactériennes ont été préparées à partir des cultures jeunes de 18 heures sur gélose nutritive et ajustées à une turbidité standard de 0,5 sur l'échelle de McFarland.

Les valeurs de la concentration minimale inhibitrice (CMI) des extraits contre les souches bactériennes ont été déterminées par la méthode de microdilution sur microplaque. En bref, les microplaques de 96 puits ont été préparées en distribuant dans chaque puits 95 µl de bouillon nutritif et 5 µl d'inoculum. Ensuite, 100 µl de la solution mère des extraits initialement préparés ont été ajoutés dans les premiers puits. Puis, 100 µl des dilutions successives ont été transférés dans dix puits consécutifs. Le dernier puits, contenant 195 µl de bouillon nutritif sans extrait et 5 µl d'inoculum, a été utilisé comme contrôle négatif. Le volume final dans chaque puits était de 200 µl, avec des concentrations finales dans le bouillon variant de 400 à 0,78125 mg/ml pour l'extrait. Les microplaques ont ensuite été incubées à 37 °C pendant 24 heures. Les concentrations dans les puits où aucune croissance n'est observée à l'œil nu sont considérées comme des CMI (Sokmen *et al.*, 2004).

II.6.3.2. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

La concentration minimale bactéricide (CMB) correspond à la plus faible concentration en extrait capable de tuer plus de 99,9 % de l'inoculum bactérien initial (soit moins de 0,01 % de survivants). Pour déterminer cette concentration, 0,1 ml de chaque puits dans lequel aucune croissance n'est observée est ensemencé sur gélose nutritive puis incubé à 37 °C pendant 24 heures. Les concentrations dans les boîtes qui ne présentent aucune croissance sont considérées comme CMB (Sokmen *et al.*, 2004).

II.7. Analyses statistiques

Toutes les manipulations du présent travail sont réalisées en triplicata. Les résultats obtenus ont fait l'objet d'une analyse statistique. ANOVA à l'aide du logiciel GraphPad prism 8., dans le but de trouver la signification statistique des résultats obtenus. Les valeurs de IC50 (concentration inhibitrice à 50%) sont déduites par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe [% inhibition=f (concentrations)].

Chapitre III :

Résultats et Discussion

Chapitre III. Résultats et discussion

III.1. Extraction

L'étape d'extraction constitue la première étape cruciale avant l'analyse des composants phytochimiques des plantes. Dans cette étude, une méthode d'extraction par macération à froid a été réalisée. Les effets des solvants ont été étudiés en termes de rendement d'extraction. La préparation des différents extraits de la partie aérienne et de la racine de *Rubia tinctorum* L. a été réalisée à l'aide de deux solvants de polarités différentes : l'eau et le méthanol. Le rendement obtenu par les différents extraits, la couleur et l'aspect sont indiqués ci-dessous (Tableau 2). Le calcul du rendement a été fait à partir de la quantité de poudre végétale utilisée.

Tableau 2: Caractéristiques des extraits aqueux et méthanolique des deux organes de *Rubia tinctorum* L.

	Solvant	Couleur	Aspect de l'extrait
Partie aérienne (EF)	Méthanol	Vert foncé	Visqueux
	Eau	Vert-noir	Visqueux
Racines (ER)	Méthanol	Marron	Visqueux
	Eau	Rouge brunâtre	Visqueux

D'après les résultats obtenus, on constate que les rendements des extraits méthanoliques et aqueux sont très proches. Pour les parties aériennes et racinaires, les rendements méthanoliques. Mais, on remarque que l'eau comme solvant donne de meilleurs rendements que le méthanol, pour les deux organes de la plante étudiée. Globalement, les parties aériennes ont donné des rendements légèrement plus élevés que les racines, particulièrement avec l'extrait aqueux (figure 12).

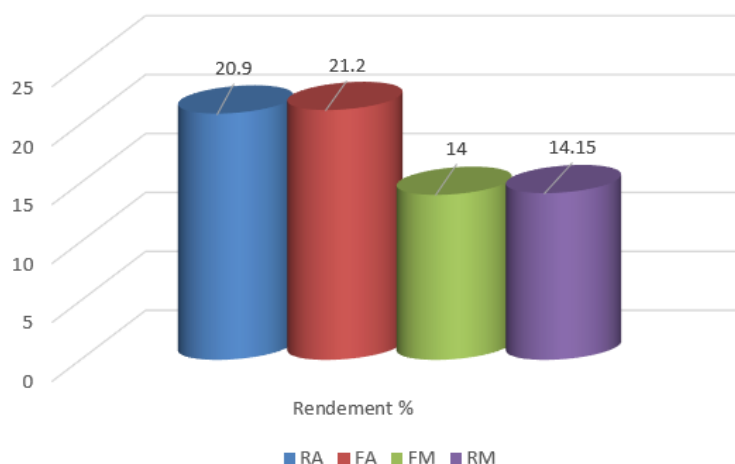


Figure 12: Rendements des extraits bruts de *Rubia tinctorum* L.

Ces résultats sont en accord avec ceux de (Houari, 2022) qui a montré que l'eau est le solvant le plus approprié pour l'extraction des composés phénoliques de la même plante. Toutefois, nos résultats concernant les extraits aqueux sont supérieurs à ceux de Houari (parties aériennes 16,7 %, racines 18,8 %), par contre, ses résultats concernant les rendements des extraits méthanoliques (parties aériennes 16,1 %, racines 17,3 %) sont légèrement supérieurs aux nôtres.

Ces différences peuvent être attribuées à la capacité de l'eau à dissoudre une gamme plus large de composés polaires présents dans la plante. Comme l'ont souligné (Galvez et al., 2005), l'extraction des polyphénols à partir de matières végétales dépend de leur solubilité dans le solvant utilisé, du type de solvant employé, ainsi que de l'interaction des polyphénols avec d'autres constituants de la plante.

III.2. Etude phytochimique

III.2.1.1. Screening phytochimique

Les composés phytochimiques des plantes jouent un rôle crucial en tant que composés biologiquement actifs, responsables d'une gamme d'activités telles que les antioxydants, les antimicrobiens et les anticancéreux.

Le criblage phytochimique a été réalisé, sur les extraits aqueux et méthanoliques des organes de la plante étudiée, suivant les méthodes standards de caractérisation.

Les différentes familles chimiques mises en évidence dans les extraits aqueux et méthanoliques des différents organes sont présentés dans le Tableau 3.

Tableau 3: Criblage phytochimique des différents extraits de *Rubia tinctorum* L.

Extrait \ Test	FA	FM	RA	RM
Tanins	+	-	+	+
Quinones	+	+++	+++	+++
Terpénoïdes	++	+++	++	+++
Saponines	-	-	-	-
Polyphénols	+	+	+	++

- : absence ; + : présence en faible quantité ; ++ : présence en moyenne quantité ; +++ : présence en abondance ; AR : Extrait aqueux de la racine ; AF : Extrait aqueux de la partie aérienne ; MR : Extrait Méthanolique de la racine ; MF : Extrait Méthanolique de la partie aérienne.

Il ressort de l'analyse de ce tableau que l'analyse phytochimique des extraits de *Rubia tinctorum* L. montre des différences significatives en fonction du solvant utilisé. Des tannins, des quinones, des terpènes et des polyphénols ont été caractérisés dans les extraits aqueux des parties aériennes (FA) mais pas de saponines. Les extraits méthanoliques des parties aériennes (FM)

révèlent des niveaux élevés de quinones et de terpènes, avec des polyphénols présents, mais pas de tannins ni de saponines. Les extraits aqueux des racines (RA) contiennent des tannins, des quinones, des terpènes et des polyphénols, tandis que les extraits méthanoliques des racines (RM) montrent des concentrations élevées de ces composés avec une présence accrue de polyphénols (Figure 13).

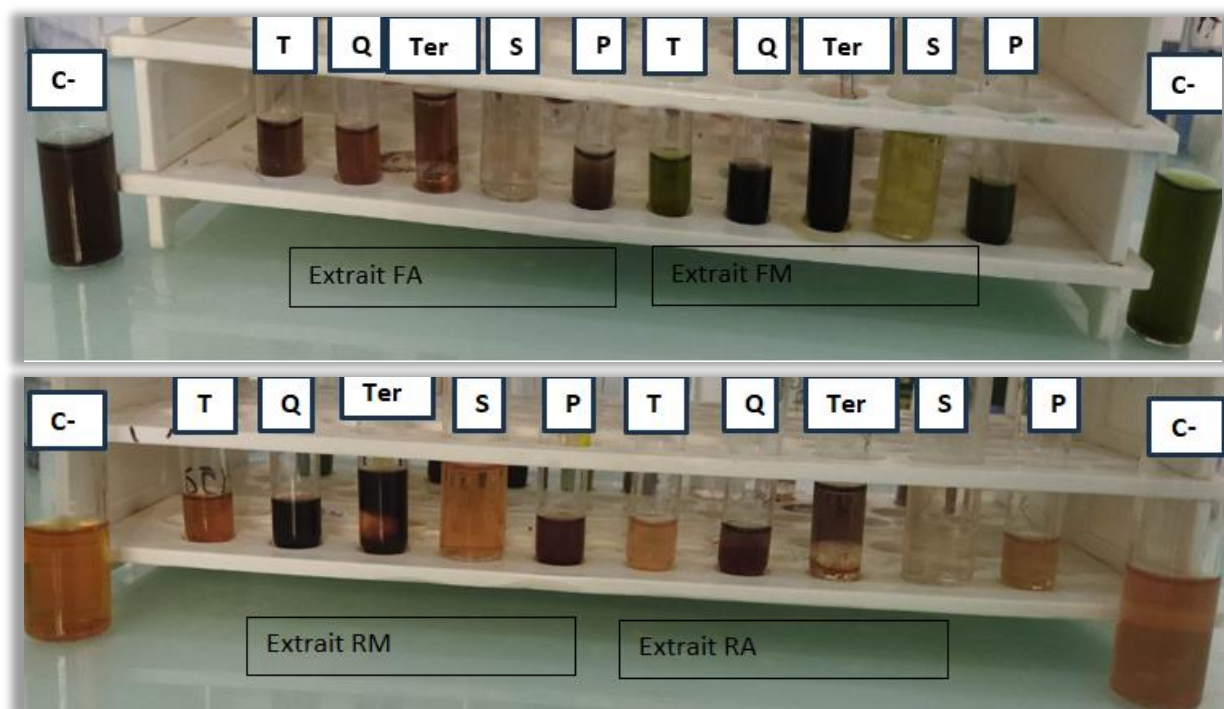


Figure 13 : Résultats du Screening phytochimique.

T : Tanins, Q : Quinone, Ter : Terpénoïdes, S : Saponines, P : Polyphénol, C- : Control Négatif.

AR : Extrait aqueux de la partie racine ; AF : Extrait aqueux de la partie aérienne ; MR : Extrait Méthanolique de la partie racine. MF : Extrait Méthanolique de la partie aérienne.

En comparant nos résultats avec les études antérieures, comme celles de (Marhoume, 2021) et (Houari, 2022), nous trouvons des concordances pour les tannins dans les différents extraits. Cependant, nos résultats diffèrent en ce qui concerne les quinones, car notre étude montre leur présence dans tous les extraits, tandis que l'étude de Houari indique leur absence dans les extraits des parties aériennes. Pour les saponines, nos résultats concordent avec ceux de Marhoume pour les extraits aqueux des racines, mais divergent de ceux de Houari qui montrent leur présence dans les extraits aqueux des parties aériennes.

Ces différences peuvent être attribuées à des variations dans les conditions environnementales et géographiques, ainsi qu'à des différences dans les méthodes d'extraction et d'analyse utilisées. Comme le mentionnent (Falleh *et al.*, 2008), "la teneur en composés phénoliques d'une plante dépend de plusieurs facteurs intrinsèques (génétiques) et extrinsèques (conditions climatiques, pratiques culturelles, maturité à la récolte et conditions de stockage). De

plus, la distribution des métabolites secondaires peut varier au cours du développement de la plante. Cela peut être dû à des conditions climatiques défavorables (température élevée, exposition au soleil, sécheresse, salinité) qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires comme les polyphénols" (Falleh *et al.*, 2008). Ces résultats soulignent l'importance de standardiser les protocoles d'extraction et d'analyse pour une meilleure compréhension des profils phytochimiques de *Rubia tinctorum* L, ce qui est crucial pour optimiser ses applications thérapeutiques et industrielles.

III.3. Dosage des composés phénoliques

L'étude quantitative effectuée, en termes de polyphénols et flavonoïdes, dans la partie aérienne et racinaire de la plante *Rubia tinctorum* L. en utilisant deux solvants différents (eau, méthanol).

III.3.1. Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes

Les résultats de la détermination du contenu phénolique total et flavonoïque des quatre extraits de la partie aérienne et racinaire de *R. tinctorum*, obtenus.

Pour la partie aérienne (FM) ainsi que racinaire (RM) l'extrait méthanolique a montré la plus grande quantité de phénols totaux. La valeur de la partie aérienne (FM) est légèrement supérieure à RM.

En ce qui concerne l'extrait aqueux, on remarque que la partie aérienne représente environ trois fois le taux des phénols des racines. On note la valeur la plus élevée se trouve toujours dans la partie aérienne.

Les mêmes observations en ce qui concerne les taux des flavonoïdes, l'extrait méthanolique a montré les valeurs les plus élevées pour FM et RM idem, la valeur de FM est légèrement supérieure à RM. Pour ce qui est de l'extrait aqueux la partie aérienne renferme un taux qui est de deux fois celui des racines

La différence des taux des polyphénols et des flavonoïdes est remarquable entre les deux extraits et les différentes parties étudiées de la plante *Rubia tinctorum* L. On observe une richesse en polyphénols et en flavonoïdes dans la partie aérienne que la partie racinaire pour les deux extraits.

Comparativement, aux travaux de thèse de Houari (2022), nos résultats corroborent les siens, le méthanol est le solvant qui a montré la meilleure extraction des polyphénols et des flavonoïdes et que la partie aérienne est la plus riche en ces derniers. Mais, les valeurs en teneurs de ces deux composés diffèrent très significativement. Elle a noté que la partie racinaire MR possède la plus

grande quantité de phénols totaux 118.38 ± 0.07 mg EAG/g MS et les taux des flavonoïdes variaient entre 4.21 ± 0.006 et 30.30 ± 0.009 mg EAG /g MS, pour MR et MF respectivement.

Houari (2022) a rapporté dans sa thèse que des études de Essaidi et *al.*, 2017 sur les racines de *R. tinctorum* L. ont montré une teneur plus élevée en composés phénoliques et flavonoïdes totaux (78.26 mg GAE/g et 25.36 mg GAE/g, respectivement) dans l'extrait hydrolysé de *R. tinctorum*. Mais tous les travaux effectués sur cette plante ont confirmé que les phénols présentent la plus haute teneur que les flavonoïdes.

En comparaison avec les travaux de Marhoume et *al.*, (2019), sur l'extrait butanolique de racine de *R. tinctorum* L., on constate que la teneur totale en polyphénols et en flavonoïdes des racines (1.1 ± 0.041 mg GAE/100 g de MS et 0.7 ± 0.0055 mg CAE/100 g de MS respectivement) sont au deçà de nos résultats.

Il semble que ces différences observées dans la quantité de composés phénoliques peuvent être dues à la maturité de la plante, aux étapes de la croissance de la plante, aux processus biochimiques et structurels du tissu végétal, à l'altitude, à l'éclairage, à l'humidité et à la saison de récolte (Cezarotto et *al.*, 2017).

Et autres facteurs peuvent influencer sur les quantités des différents composés entre autres:

- climatiques et environnementaux : la zone géographique, sécheresse, type de sol (aride ou semi-aride), agressions, maladies, altitude, température, précipitation et exposition solaire.

(Marhoume, 2021)

- patrimoine génétique, la période de la récolte et le stade de développement de la plante

(Miliauskas et *al.*, 2004)

- méthode de quantification peut également influencer l'estimation de la teneur en composés phytochimiques (Lee et *al.*, 2003).

III.4. Etude de l'activité antioxydante

III.4.1. Test de DPPH

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de *Rubia tinctorum* L. a été réalisée par la méthode DPPH. Ce radical libre peut être réduit par les antioxydants présents dans les extraits végétaux, provoquant ainsi un changement de couleur du violet au jaune (Figure 14) et une diminution de l'absorbance à 517 nm (Yaici et *al.*, 2019).

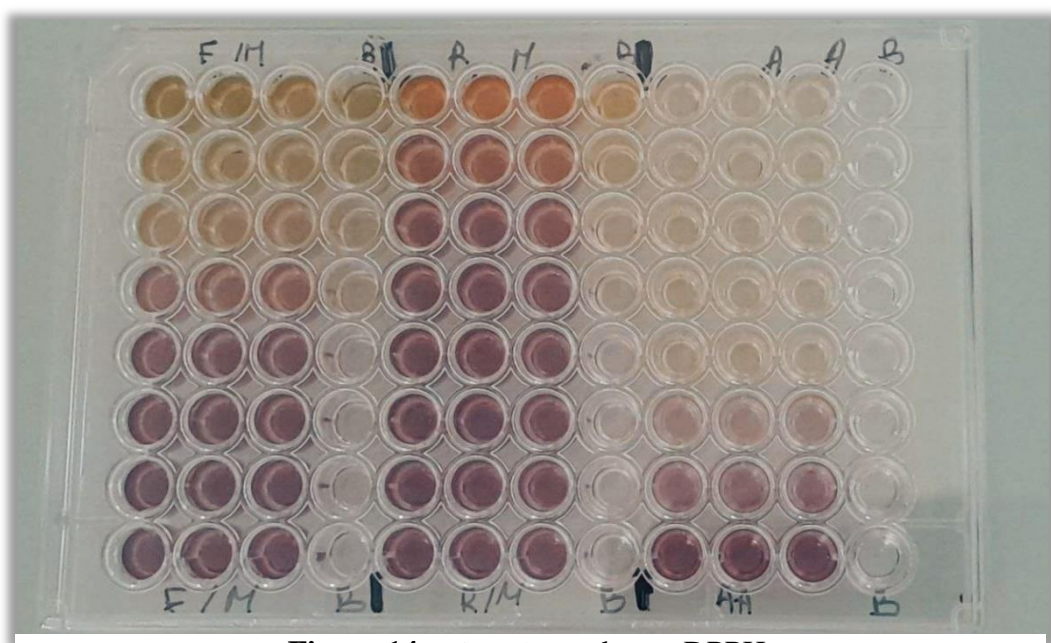


Figure 14: Microplaques de test DPPH.

L'activité antioxydante de nos extraits est exprimée en IC₅₀, correspondant à la concentration d'extrait nécessaire pour inhiber ou réduire 50 % de la concentration initiale de DPPH•. Les résultats obtenus sont illustrés dans la figure 15.

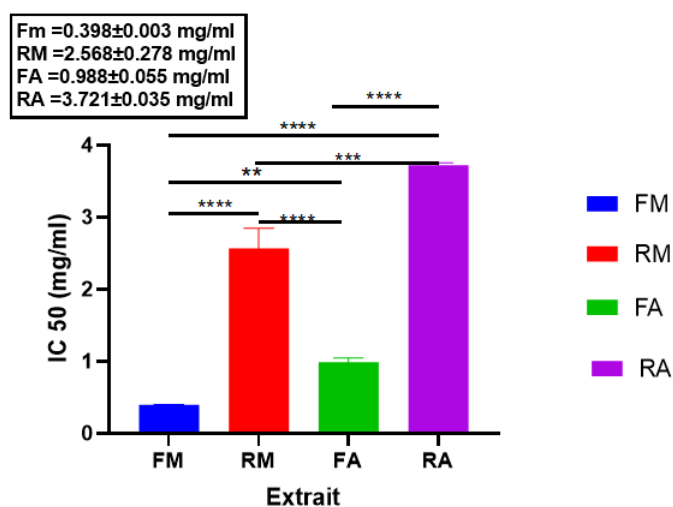


Figure 15: Les concentrations des extraits de *Rubia Tinctorum* L. inhibitrices de 50 % du radical DPPH.

Les valeurs de IC₅₀, des extraits méthanoliques et aqueux de *Rubia tinctorum* L. de l'activité antioxydante, les classant ainsi comme suit : FM > FA > RM > RA. Les extraits méthanoliques et aqueux des parties aériennes (FM et FA) possèdent une activité antioxydante nettement significative que celle des extraits des racines (RM et RA), ceci peut être dû à leur richesse en polyphénols ou en flavonoïdes. Les extraits FM et FA se distinguent par leurs performances. En ce qui concerne les parties aériennes, l'extrait méthanolique (FM) présente une meilleure performance, quand aux racines, c'est aussi l'extrait méthanolique (RM) qui montre une activité plus élevée.

Il est à noter que les travaux de recherche sont rares en ce qui concerne des études sur les activités biologiques de la plante *Rubia tinctorum* L, le seul travail est celui de Houari (2022).

En comparaison, les résultats de Houari (2022) qui ont montré des valeurs IC₅₀ généralement basses, que les nôtres, pour tous les extraits MR : 0.6824 mg/ml ; MF : 0.6034 mg/ml ; AR : 0.5326 mg/ml ; FA : 0.5491 mg/ml, suggérant une activité antioxydante forte dans son étude. Mais, nos valeurs ne sont pas très élevées par rapport à l'acide ascorbique 0.0736 mg /ml. Ces faibles variations peuvent être attribuées à divers facteurs tels que les méthodes de test antioxydant, les conditions d'extraction, la période de récolte, le stade de développement de la plante et les influences environnementales et génétiques.

Il est important de souligner que le choix des solvants, ainsi que les conditions dans lesquelles l'extraction est effectuée (à chaud ou à froid), ont un impact direct sur la teneur des composés phénoliques et par conséquent sur leurs activités biologiques (Lee *et al.*, 2003).

Effectivement, une explication possible de la divergence dans l'activité antioxydante entre les extraits pourrait résider dans une concentration plus élevée de composés phénoliques et flavonoïdes dans les extraits de la partie aérienne, reconnus pour leur puissant potentiel antioxydant. Par ailleurs, les conditions climatiques et les pratiques agricoles peuvent influencer sur la teneur en antioxydants des plantes, comme souligné par Falleh *et al.*, 2008. Ainsi, des conditions environnementales favorables peuvent favoriser une production accrue de composés antioxydants dans les plantes, se reflétant dans les résultats des tests antioxydants.

Il y a une relation entre l'effet antioxydant et la quantité et la qualité des métabolites secondaires, car ils sont caractérisés par un nombre élevé de groupements hydroxyles. Ces groupements donnent des atomes d'hydrogène pour stabiliser les radicaux libres (De Pinedo *et al.*, 2007).

III.5. Activité antibactérienne

La santé publique est inquiétante dans plusieurs pays à cause de la résistance des bactéries pathogènes aux différents antibiotiques. La recherche de sources naturelles d'antimicrobiens a fait l'objet de plusieurs travaux et beaucoup d'efforts ont été montrés pour découvrir de nouveaux composés antimicrobiens adéquats pour remplacer ces antibiotiques.

L'Objectif de ce test est de déterminer parmi les extraits préparés, de la plante étudiée, celui qui possède un meilleur pouvoir inhibiteur des bactéries à Gram-positif et à Gram-négatif.

Le pouvoir antimicrobien, des extraits aqueux et méthanolique de *Rubia tinctorum*, L. a été étudié, *in vitro*, par la méthode des puits de diffusion en milieu GN. L'activité antibactérienne des extraits a été estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des puits

contenant les extraits à tester vis-à-vis de 04 souches bactériennes. Plus la zone est importante plus les bactéries sont sensibles.

Les témoins utilisés sont des antibiotiques utilisés comme contrôle positif et le DMSO utilisé comme contrôle négatif pour l'évaluation de l'activité antibactérienne.

D'après les résultats obtenus, les quatre extraits de *Rubia tinctorum* L. ont présenté un effet antibactérien diversifié selon le type d'extrait, d'une part, et la souche bactérienne d'autre part. Les bactéries testées, dans l'ensemble, peuvent être qualifiées de sensibles à l'un ou à l'autre extrait.

Selon le nombre de bactéries sensibles, les extraits FM et RA sont les plus efficaces, parce qu'ils ont montré un effet antimicrobien sur 3 souches parmi 4 testées en plus les mêmes bactéries, suivi de RM sur deux et enfin FA, le moins efficace, sur une seule bactérie. L'extrait FM et RA ont montré un effet antibactérien, contre les souches *E.coli*, *S.aureus*

et *B. cereus*, mais pas d'effet sur *P aeruginosa*. L'extrait RM montre une activité plus remarquable, contre les souches *S. aureus* et *B.cereus*. Ces deux dernières peuvent être qualifiées de très sensibles à l'extrait RM. L'extrait FA n'a exercé son effet antibactérien que contre la souche *P. aeruginosa*.

L'extrait RM a montré la zone d'inhibition la plus importante contre *B.cereus* et FM a l'effet le plus faible sur *E.coli*.

On remarque que l'extrait méthanolique de la partie racinaire a un effet plus important sur les bactéries à Gram positif que sur les Gram négatif. Par contre les extraits FM et RA ont des effets sur les G+ et G- mais plus accentués sur les G+. L'extrait aqueux de la partie aérienne a un effet sur une seule souche à G-.

III.5.1. Résultats de la Détermination CMI et CMB

La CMI correspond à la concentration minimale dans une série de concentrations où l'on n'observe pas de croissance visuelle de bactéries. La CMB est la concentration minimale qui empêche totalement la croissance bactérienne, autrement dit, qui tue la bactérie exposée à cette concentration. Ces valeurs sont déterminées en exposant les souches bactériennes à plusieurs concentrations décroissantes, des quatre extraits FM, RM, RA et FA.

Les extraits méthanoliques des racines (RM) ont montré une activité antibactérienne notable avec des valeurs de CMI et CMB pour *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*. Aucun effet n'a été observé contre *E. coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. Les extraits aqueux des racines (RA) ont

montré une activité antibactérienne contre *E. coli* et *Staphylococcus aureus*, ainsi qu'une activité bactériostatique contre *Bacillus cereus*, sans effet contre *Pseudomonas aeruginosa*.

Pour les parties aériennes, les extraits méthanoliques (FM) ont montré une activité antibactérienne contre *E. coli*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*, mais aucun effet contre *Pseudomonas aeruginosa*. Les extraits aqueux des parties aériennes (FA) n'ont montré une activité antibactérienne que contre *Pseudomonas aeruginosa*, sans effet sur *E. coli*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*.

En comparant l'activité antibactérienne des extraits, il est évident que les extraits méthanoliques sont généralement plus efficaces que les extraits aqueux. En particulier, les extraits méthanoliques des racines (RM) ont montré la meilleure activité antibactérienne globale, avec des valeurs de CMI et CMB plus faibles, indiquant une efficacité bactéricide contre *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*. En revanche, les extraits aqueux des parties aériennes (FA) ont montré une activité limitée, n'étant efficaces que contre *Pseudomonas aeruginosa*. Ainsi, les extraits méthanoliques, en particulier ceux des racines, se révèlent être les plus prometteurs pour leurs propriétés antibactériennes.

Dans notre étude, les extraits méthanoliques des racines (RM) ont montré des effets sur *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*. Houari, (2022) a trouvé des CMI de 125 mg/ml et des CMB de 500 mg/ml pour les mêmes bactéries, alors on peut avancer que notre extrait méthanolique des racines est le plus efficace.

Par contre CMI et CMB, de nos extraits méthanoliques des parties aériennes (FM), ont présenté une activité contre *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus* avec des concentrations faibles. Alors que Houari (2022) a rapporté une activité contre *Staphylococcus aureus* avec des CMI et des CMB plus élevées. On constate que nos extraits présentent des CMI et CMB légèrement inférieurs à celles de Houari, donc ils sont plus efficaces.

Pour les extraits aqueux des racines (RA), notre étude a montré des effets de CMI et CMB pour *Staphylococcus aureus* et *E. coli*, ainsi qu'une activité bactériostatique contre *Bacillus cereus*. Houari (2022) a trouvé des CMI de 125 mg/ml et des CMB de 500 mg/ml pour *Staphylococcus aureus* et des CMI de 500 mg/ml pour *E. coli*, avec des CMB > 500 mg/ml. Cela indique que nos extraits aqueux des racines sont plus efficaces contre *E. coli*, tandis que les extraits de Houari sont plus efficaces contre *Staphylococcus aureus*. Les extraits aqueux des parties aériennes (FA) dans notre étude n'ont montré une activité que contre *Pseudomonas aeruginosa*. Ceux de (Houari, 2022) ont une activité contre la même

bactérie mais avec des CMI et des CMB plus importantes, concluant que nos extraits aqueux des parties aériennes sont plus actifs.

Les travaux de Ghafari et *al.*, (2018), ont montré des CMI de 0,312 à 0,156 mg/ml pour des extraits méthanoliques des racines de *Rubia tinctorum* contre *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli* et *P. aeruginosa*, alors nos extraits présentent une efficacité antibactérienne relativement moindre. Les différences examinées peuvent être octroyées aux variations dans les méthodes d'extraction, les concentrations utilisées et les conditions expérimentales.

Globalement, nos extraits méthanoliques des racines (RM) et des parties aériennes (FM) ont montré un meilleur effet antibactérien par rapport aux résultats de (Houari, 2022), particulièrement contre *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*. Nos extraits aqueux des racines (RA) sont plus efficaces contre *E. coli*. Ceux de Houari montrent une meilleure activité contre *Staphylococcus aureus*. Nos extraits aqueux des parties aériennes (FA) sont plus efficaces contre *Pseudomonas aeruginosa*. Les différences avec les résultats de (Ghafari et *al.*, 2018) soulignent l'importance de la standardisation des méthodes pour des comparaisons précises.

Selon Ouattara et *al.*, (2017), le type d'activité antibactérienne peut être révélé par le rapport CMB/CMI ; l'activité bactéricide et bactériostatique absolue est indiquée par les valeurs suivantes :

- CMB / CMI < 2 : bactéricide.
- CMB / CMI > 2 : bactériostatique.

Conclusion

Conclusion

Cette étude a évalué le rendement d'extraction, les propriétés phytochimiques ainsi que les activités antioxydantes et antibactériennes des extraits méthanoliques et aqueux de *Rubia tinctorum* L., pour les parties aériennes et racinaires. Les résultats ont montré que l'extraction aqueuse fournissait un rendement supérieur à celui de l'extraction méthanolique. L'analyse phytochimique a identifié plusieurs composés bioactifs, tels que les tanins, les quinones, les terpènes et les polyphénols. Les extraits méthanoliques étaient riches en quinones et en terpènes, tandis que les extraits aqueux étaient plus concentrés en polyphénols. Les extraits aqueux des parties aériennes ont démontré une forte activité antioxydante, tandis que les extraits méthanoliques des racines ont montré une inhibition significative contre *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*. Ces résultats soulignent le potentiel thérapeutique des extraits de cette plante, en particulier les parties aériennes pour des applications antioxydantes, et les racines pour leurs propriétés antibactériennes, mettant en évidence les différences d'efficacité entre les différentes parties de la plante.

Références

Bibliographiques

Références bibliographiques

A

Abdel Hakim., S. (2009). Activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits aqueux et éthanolique du gingembre. Mémoire de magister en biochimie et physiologie expérimentales. Université Ferhat Abbas, Sétif.

Arab, K., Bouchenak, O., & Yahiaoui, K. (2014). Phytochemical study and evaluation of the antimicrobial and antioxidant activity of essential oils and phenolic compounds of *Pistacia lentiscus* L. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 6(1), 77-91.

B

Bell E, A. (1980). The physiological role(s) of secondary (natural) products. In: *The biochemistry of plants. A comprehensive treatise. Secondary plant products.* Conn E. E. (Eds.), Academic Press. 7.P: 1-20.

Bellakhdar J. (1997). La pharmacopée marocaine (Médecine arabe et ancienne et savoirs populaires). *Edit. Ibis Press, Saint Etienne*, 529-530.

Benarous K. (2009). Effets des extraits de quelques plantes médicinales locales sur les enzymes: α -amylase, trypsine et lipase, Mémoire de fin d'étude d'Ingénieur d'état en génie biologique, université Amar Telidji Laghouat Mémoire de fin d'étude d'ingénieur, université de Ouargla.

Benslama A. (2016). Substances d'origine végétale. Polycopié de cours. Département des sciences de la nature et de la vie. Université Mohamed khider-biskra.

Bettaieb Rebey, I., Bourgou, S., Saidani Tounsi, M., Fauconnier, M.L. & Ksouri, R. (2017). Phytochemical composition and antioxidant activity of *Lavandula dentate*, extracts. *Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology*, 39 (2): 2096-2105.

Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199-1200.

Bonnemain Bruno.(2018) .La garance (*Rubia tinctorum*) : une plante symbolique de la Première Guerre mondiale. In : *Le Journal de botanique*, n°83,. Numéro thématique : Des botanistes dans la tourmente – 1914-1918. pp. 35-40.

Bouchenak, O., Yahiaoui, K., Benhabyles, N., Laoufi, R., Toubal, S., EL Haddad, D., Oussaid, S., Blizak, D. & Arab K. (2020). Criblage phytochimique et évaluation du pouvoir antioxydant

des feuilles de *Myrtus communis* L. et *Rhamnus alaternus* L. *Revue Agrobiologia*, 10 (1): 1749-1761.

Bougandoura, N., & Bendimerad, N. (2012). Effet antifongique des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. (*Nepeta*) briq.

Boumediene, S. (2017). Visions du diable ? Les conflits autour du pouvoir des plantes «hallucinogènes» en Nouvelle-Espagne à l'époque moderne. *Cahiers d'anthropologie sociale*, (1), 41-57.

Bouyahya, A., Abrini, J., Bakri, Y., & Dakka, N. (2017). Screening phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'*Origanum compactum*. *Phytothérapie*, 15(6), 379.

Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Talbaoui, A., Khouchlaa, A., Charfi, S., ... & Dakka, N. (2017). Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. *Phytothérapie*, 16(S1), 173-183.

Bruneton J. (2009). *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales*, 4e Ed. Lavoisier.

C

Cardon D. (2003). *Le monde des teintures naturelles*. Belin, Paris.

Chevalier. (2001). *Encyclopedia des plantes médicinales*. Edit. La rousse, Paris, pp16, 293, 295.

Crozier, A. (2003). Classification and Biosynthesis of secondary plant product; an overview. In plants "Diet and Health ". Ed. Goldberg. P; 27-28

D

Dabé D., Guédé Noël Z. & Adolphe Z. (2017). Propriétés Antifongiques Des Légumineuses Médicinales De Côte d'Ivoire : Cas De *Crotalaria retusa* L. (*Fabaceae*) Sur La Croissance *in vitro* De *Phytophthora* sp. Et *Fusarium solani*, Deux Champignons Phytopathogènes. *European Scientific Journal January*, 13 (3): 371-384.

De Bruyne, T., Pieters, L., Deelstra, H. & Vlietinck, A. (1999). Condensed vegetable tannins: Biodiversity in structure and biological activities. *Biochemical Systematics and Ecology*, 27: 445-459.

De Pinedo, A. T., Peñalver, P., & Morales, J. C. (2007). Synthesis and evaluation of new phenolic-based antioxidants: Structure–activity relationship. *Food Chemistry*, 103(1), 55-61.

Debuigne G. (1974). *Dictionnaire des plantes qui guérissent*. Larousse

Delille L. (2007) . *Les plantes médicinales d'Algérie*. Éd.BERTI, Alger, 122 P

Derbel S Ghedira, K. (2005). Les phytonutriments et leur impact sur la santé, *Phytothérapie* .1, P :28-34

Derksen G. H. (2001). Analysis and isolation of anthraquinones from madder roots (*Rubia tinctorum*). *Thèse de doctorat*. Tese.WageningenUniversiteit

Donatien Kone. (2009). Thèse pour obtenir le grade de Docteur de L'université de Bamako, Enquête Ethnobotanique de six plantes médicinales Maliennes - Extraction, Identification D'alcaloïdes - caractérisation, quantification de polyphénols : étude de leur activité antioxydant, L'université Paul Verlaine de METZ –UPV- M (France), p21, 22.

E

Elion Itou, R.D.G., Etou Ossibi, A.W., Epa C., Nsondé Ntandou, G.F., Bokia, C.B., Ouamba, J.M. & Abena, A.A. (2017). Anti-inflammatory and analgesic effects of leaves of *Chromolaena odorata* L. (King and Robinson). *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 11 (17): 217-223.

Essaidi I, Snoussi A, Koubaier HBH, Casabianca H, Bouzouita N. (2017). Effect of acid hydrolysis on alizarin content, antioxidant and antimicrobial activities of *Rubia tinctorum* extracts. *Pigment & Resin Technology*.

Etobo, K.J.P., Oleko, W.R. & Nshimba, S.M. (2017). Study of the antibacterial activity of some medicinal plants on the isolates of *Staphylococcus* resistant to current antibiotics at kisangani (Dr Congo). *International Journal of Innovation and Scientific Research*, 30 (2): 259-268.

F

Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., & Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus. Biologies*, 331(5), 372-379.

Farah, H. & Abdelhafid, B. (2008). Huiles essentielles, utilisations et activités biologiques. Application à deux plantes aromatiques. *Les technologies de laboratoire*, 8: 20-27.

G

Gálvez, M., Martín-Cordero, C., Houghton, P. J., & Ayuso, M. J. (2005). Antioxidant activity of methanol extracts obtained from *Plantago* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 1927-1933.

Ganatra, S. H., Durge, S. P., & Patil, S. U. (2012). Preliminary phytochemicals investigation and TLC analysis of *Ficus racemosa* leaves.

Guignard J.L. (2000). *Biochimie Végétale*, Ed. Dunod, Paris. 16.

Ghabrier, J.Y. (2010). *Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie*. Thèse de doctorat en pharmacie, Université Henri Poincaré-Nancy1, France.]

Ghafari, R., Mouslemanie, N., & Nayal, R. (2018). Antibacterial activity of *Rubia Tinctorum* Linn. root extracts. *International Journal Pharmaceutical Science and Research*, 9(9), 3914-3918.

Gilbert, K. G., & Cooke, D. T. (2001). Dyes from plants: Past usage, present understanding and potential. *Plant growth regulation*, 34(1), 57

Guillaume Cuoco(2009). *Etude chimique et caractérisation de principes colorants historiquement employés dans l'impression des indiennes en Provence*. Autre. Université d'Avignon, France

Guillaume Legrand. (2015).thèse pour l'obtention du grade de Docteur en sciences, Contribution à la caractérisation du métabolisme des acides chlorogéniques chez la chicorée : approches biochimique et moléculaire, Université de Lille 1, p37.

H

Hans, W. K. (2007). *1000 plantes aromatiques et médicinales*. Terre édition. p. 6-7.

Haraoui N, Allem R, Chaouche TM, Belouaznis A. (2019). In-vitro antioxidant and antimicrobial activities of some varieties citrus grown in Algeria. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*. 1-12.

Harrar,A. (2012).Activités antioxydant et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* Le Diplôme de Magister Biochimie et physiologie expérimentale. Université Ferhat Abbes Sétif. 8-31.

HC & Jain, Bhardwaj, KK.; *Indian Dyes and Industry During 18th-19th Century*. (1982). *Indian Journal of History of Science*, , 17 (11), 70-81

Hill R., Richter D. (1937). Anthraquinone pigments in *Galium*. *Proceeding of the Royal Society* 121: 547-560.

Hopkins, W.G.(2003). Assimilation du carbone et productivité. Dans: *Physiologie végétale*. Traduction de la 2ème édition américaine par Serge Rambour. Editions De Boeck université, P : 515.

Houari, F. Z. (2022). Mise en évidence et l'activité biologique des phytoconstituants de la plante médicinale *Rubia tinctorum* L (Doctoral dissertation).

Hovaneissian M. (2005). Différenciation de substnaces naturelles par diverses techniques analytiques : spectroscopie IRTF, CLHP- UV- Visible- Fluométrie et CPG-SM. Application à létude d'échantillons officinaux et archéologiques. *Thèse de doctorat*, Avignon.

Jörg, Z., Peter, J. F. (2008). Alkaloid Biosynthesis: Metabolism and Trafficking. *Annual Review of Plant Biology*, vol. 59:735-769.

K

Kanase, V.D.J. Mane. (2018). A pharmacognostic and pharmacological review on *alstonia scholaris*. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 11 (12): 22-26.

Khoddami, A., Meredith, A. W. and Thomas, H. R.(2013).Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds. *Molecules*, 18 : 2328-2375. DOI:10.3390/molecules18022328.

Khribch, J., Nassik, S., El houadfi, M., Zrira, S., & Oukessou, M. (2018). Activité antibactérienne de l'huile essentielle d'origan et du carvacrol sur des souches d'*Escherichia coli* d'origine aviaire. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 6(3), 300-307.

Kissoum A., Khalfaoui K. (2015). Evaluation phytochimique et étude des activités biologiquesd'une plante médicinale Algérienne (*Foeniculum vulgare*). Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôméde Maste.34-35p.

König, C.(2008). La garance voyageuse et le rouge, colorants végétaux, [*en ligne*].

Site ndisponible sur:<http://www.futura-sciences.com/fr/doc/t/matiere-4/d/la-couleur-et-sesmysteres_757/c3/221/p10/>

L

Lee, K. W., Kim, Y. J., Lee, H. J., & Lee, C. Y. (2003). Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(25), 7292-7295.

Lehout R et Laib M. (2015). Comparaison de trois méthodes d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir de la plante médicinale : *Artemisia herba alba* Asso.Mémoire de Master. Université des Frères Mentouri Constantine Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, 5p.

Lopez, A., Hudson, J.B. & Towers, G.H.N. (2001). Antiviral and antimicrobial activities of Colombian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 77: 189-196.

M

- Marhoume, F. Z. (2021). Contribution à la valorisation de *Rubia tinctorum*: Evaluation phytochimique, toxicologique et pharmacologique.
- Mauro, N. M. (2006). Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs : la (+)- anatoxine-a et la (±)- camptothécine. Thèse de doctorat en Chimie. Université JosephFourier - Grenoble I.
- Millogo, H., Guisson, I. P., Nacoulma, O., Traore, A. S. (2005). Savoir traditionnel et médicaments traditionnels améliorés. Colloque du 9 décembre. Centre européen de santé humanitaire –Lyon.
- Molas Ribalta, P. (1994). The politics of dyeing in eighteenth-century Spain
- Moon, J. K., & Shibamoto, T. (2009). Antioxidant assays for plant and food components. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(5), 1655-1666.
- Munteanu, I. G., & Apetrei, C. (2021). Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. *International journal of molecular sciences*, 22(7), 3380.

N

- Nidhi, G., Naresh, K. (2019). Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biotechnology Reports*, vol :24.
<https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00370>
- Nogaret A.S.(2003). La phytothérapie : Se soigner par les plantes. Ed. Groupe Eyrolles, Paris, 191 p.

O

- Olounladé, A.P., Attakpa, Y.E., Azando Erick, V.B., Hounzangbé – Adoté Mawulé, S. & Hoste, H. (2017). Effet *In Vivo* De *Newbouldia laevis* (Bignoniaceae) Sur Des Strongles Gastro-Intestinaux Des Moutons. *European Scientific Journal*, 13 (12):335-351.
- Ouattara, L. H., Kabran, G. R. M., Guessenn, N. K., Konan, K. F., Mamyrbekova-Bekro, J. A., & BEKRO, Y. A. (2017). Activités antibactériennes in vitro des extraits d'écorces de racines de *Mezoneuron benthamianum* et de tiges de *Paullinia pinnata*: 2 plantes de la pharmacopée Ivoirienne. *Pharmacopée et médecine traditionnelle africaine*, 18, 31-40.

P

Peeking A., Picand B., Hacene K., Lokiec F., Guerin P. (1987). Oligimères procyanidoliques (Endotélon) et système lymphatique. Artères et Veines. Publications médicales AGCF. Vol. (6): 512-513.

Ponce, A. G., Fritz, R., Del Valle, C., & Roura, S. I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT-Food Science and Technology*, 36(7), 679-684.

Prince, E. (2014). Dyer plants

R

Raven, P.H., Evert, R.F., Eichhorn, S.E.(2003). *Biologie végétale*. P32, 527 Regnault-Roger, C., Philogene, B.J.R.; Vincent, CH. 2008. *Biopesticides d'origine végétale*. Ed.Lavoisier,p 259, 280

S

Sokmen, A., Gulluce, M., Akpulat, H. A., Daferera, D., Tepe, B., Polissiou, M., ... & Sahin, F. (2004). The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*. *Food control*, 15(8), 627-634

Sunil H. G., Shweta P. D. & Patil S. U. (2012): Preliminary Phytochemicals Investigation and TLC Analysis of *Ficus racemosa* Leaves. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*.

T

Trojanowicz M., Orska-Gawry! J., Surowiec I., Szostek B., Urbaniak-Walczak K., Kehl J., Wróbel M. (2004). "Chromatographic investigation of dyes extracted from Coptic textiles from the National Museum in Warsaw". *Studies in Conservation* 49: 115-130.

Tuo, K. (2015). Criblage phytochimique, activite antioxydante et antiplasmodiale in vitro de cinq plantes utilisees traditionnellement en côte d'ivoire contre le paludisme (doctoral dissertation, Université Félix Houphouet-Boigny de Cocody, Abidjan).

V

Vincenzo, D. L., Pierre, L. (2001). The expanding universe of alkaloid biosynthesis. *Current Opinion in Plant Biology*, 4:225–233.

W

Walton N.J. et Brown D.E. (1999). *Chemical from Plants: Perspectives on plant secondary products*; Ed: WORLD SCIENTIFIC; p: 1-14

Y

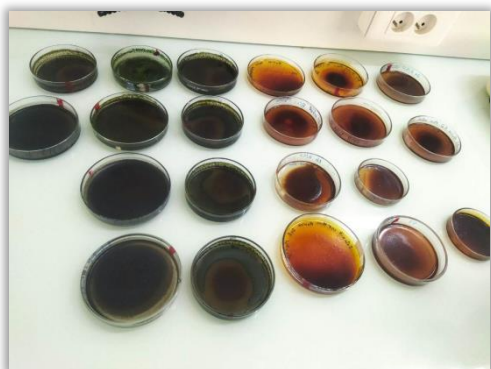
Yaici, K., Dahamna, S., Moualek, I., Belhadj, H., & Houali, K. (2021). Évaluation de la teneur des composés phénoliques, des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes de l'espèce *Erica arborea* L.(Ericaceae) dans la médecine traditionnelle du Tell sétifien dans l'Est Algérien. *Phytothérapie*, 19(4), 226.

Z

Zeghad, N. (2009). Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Mémoire de Magister. Université Mentouri de Constantine, Faculté des sciences de la nature et de la vie. Constantine, Algérie. p. 96.

Annexes

Annexes



Extrait après séchage



Balance de précision



Rota vapeur



Lecture de microplaque



Vortex



Agitateur magétique

النبات الطبي *Rubia tinctorum* L., المعروف أيضًا باسم القوة، ينتمي إلى عائلة Rubiaceae ويشتهر بخصائصه الطبية والصبغية. تهدف هذه الدراسة إلى تقييم محصول الاستخلاص والتركيب الكيميائي النباتي وكذلك الخصائص المضادة للأكسدة والمضادة للبكتيريا للمستخلصات التي تم الحصول عليها من الأجزاء الهوائية والجذرية.

أظهرت النتائج أن استخلاص النقع المائي أنتج إنتاجية أعلى قليلاً من الأجزاء الهوائية مقارنة بالجذور، في حين أعطى استخلاص الميثانول إنتاجية مكافئة لكلا أعضاء النبات. أظهر التحليل الكيميائي النباتي وجود مركبات مختلفة مثل العفص، الكينونات، التربينويدات، والبوليفينول في المستخلصات المختلفة (المائية والميثانولية) من الأجزاء الهوائية والجذرية.

أظهرت المستخلصات الميثانولية من الأجزاء المختلفة تركيزات مكافئة من البوليفينول والفلافونويد. وفيما يتعلق بنشاط مضادات الأكسدة، أظهرت المستخلصات الميثانولية من الأجزاء الهوائية أعلى نشاط في FM، تليها المستخلصات المائية من الأجزاء الهوائية. أظهرت المستخلصات الجذرية لنبات *Rubia tinctorum* L. نشاطاً مضاداً للأكسدة أقل وضوحاً.

فيما يتعلق بالنشاط المضاد للبكتيريا، تم تقييم أربع سلالات بكتيرية، بما في ذلك Gram+ و Gram-. أظهرت تقنية آبار الانتشار أن جميع السلالات البكتيرية كانت حساسة لجميع المستخلصات المختبرة، وكانت البكتيريا *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, و *Escherichia coli* هي الأكثر حساسية.

الكلمات المفتاحية: *Rubia tinctorum*, الفحص الكيميائي النباتي، البوليفينولات، الفلافونويدات، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للبكتيريا.

Abstract

The medicinal plant *Rubia tinctorum* L., also known as Madder, belongs to the Rubiaceae family and is renowned for its medicinal and dyeing properties. This study aims to evaluate the extraction yields, phytochemical composition, as well as the antioxidant and antibacterial properties of extracts obtained from its aerial and root parts.

The results showed that aqueous maceration extraction produced slightly higher yields from the aerial parts compared to the roots, while methanol extraction gave equivalent yields for both plant organs. Phytochemical analysis revealed the presence of various compounds such as tannins, quinones, terpenoids, and polyphenols in the different extracts (aqueous and methanolic) from the aerial and root parts.

The methanolic extracts from the different parts showed equivalent concentrations of polyphenols and flavonoids. Regarding antioxidant activity, the methanolic extracts from the aerial parts showed the highest activity in FM, followed by the aqueous extracts from the aerial parts. The root extracts of *Rubia tinctorum* L. exhibited less pronounced antioxidant activity. Concerning antibacterial activity, four bacterial strains, including Gram+ and Gram-, were evaluated. The well diffusion technique revealed that all bacterial strains were sensitive to all tested extracts, with *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, and *Escherichia coli* being the most sensitive bacteria.

Keywords: *Rubia tinctorum*, phytochemical screening, polyphenols, flavonoids, antioxidant activity, antibacterial activity.

Résumé

La plante médicinale *Rubia tinctorum* L., aussi appelée Foua, appartenant à la famille des Rubiacées et est renommée pour ses vertus médicinales et tinctoriales. Cette étude vise à évaluer les rendements d'extraction, la composition phytochimique, ainsi que les propriétés antioxydantes et antibactériennes des extraits obtenus à partir de ses parties aériennes et racinaires.

Les résultats ont montré que l'extraction par macération aqueuse a produit des rendements des parties aériennes légèrement supérieurs par rapport à ceux des racines, tandis que l'extraction au méthanol a donné des rendements équivalents pour les deux organes de la plante. L'analyse phytochimique a révélé la présence de divers composés comme les tannins, quinones, terpénoïdes et polyphénols dans les différents extraits (aqueux et méthanolique) des parties aériennes et des racinaires.

Les extraits méthanoliques, des différentes parties, ont montré des concentrations équivalentes en polyphénols et en flavonoïdes. En ce qui concerne l'activité antioxydante, les extraits méthanoliques des parties aériennes ont présenté la plus forte activité pour FM, suivi par les extraits aqueux des parties aériennes.

Les extraits des racines de *Rubia tinctorum* L. ont montré une activité antioxydante moins prononcée. En ce qui concerne l'activité antibactérienne, quatre souches bactériennes, comprenant des Gram+ et des Gram-, ont été évaluées. La technique de diffusion en puits a révélé que toutes les souches bactériennes étaient sensibles à tous les extraits testés, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* et *Escherichia coli* se sont révélés être les bactéries les plus sensibles.

Les mots clés : *Rubia tinctorum*, Screening phytochimique, polyphénols, flavonoïdes, Activité antioxydante, Activité antibactérienne.

