

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة محمد بوضياف/المسيلة
UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF DE M'SILA

FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE & BIOCHIMIE
N°:



DOMAINE : SCINCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
FILIERE : SCIENCES BIOLOGIQUES
OPTION : MICROBIOLOGIE APPLIQUEE

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

par

HERIZI Amani ; KHALADI Feryal

Intitulé

**Etude de quelques activités biologiques
d'extraits de *Linaria scariosa* (Vent.) Desf.**

Soutenu devant le jury composé de

SARRI Madani	Prof.- UMB –M'sila	Président
HENDEL Noui	MCA- UMB –M'sila	Rapporteur
BENSLAMA Abderrahim	MCA- UMB –M'sila	Examineur

Année universitaire : 2021-2022

DEDICACE

Je dédie ce modeste travail accompagné d'un profond amour :

A mes chers parents , pour tous leurs sacrifices , leur amour , leur tendresse , leur soutien et leurs prières tout au long de mes études .

A mes chères sœurs , Naima, Inas , Chifaa pour leurs encouragements permanents , et leur soutien moral.

A mes chères frères , Zaki, Houssein, pour leur appui et leur encouragement .

A toute ma famille , mes tantes , Akila , Merzaka , Soumia , Ayacha et mes oncles chacun à sa nom. Pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire .

A mes chères amies proches Abir , Amel Zitouni , Hadjira , Aicha pour leurs aides et supports dans les moments difficiles .

Son oublier mon binôme Feryal pour sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet .

Merci d' être toujours là pour moi

-Amani -

DEDICACE

Je dédie ce travail

À mes parents , pour l'amour , m'ont toujours donné , leurs encouragement et toute l'aide qu'ils m' ont apportée durant mes études .

À mon support dans ma vie : mes frères Khaled , Morad , Youcef , Omar et Mohamed

À mon fiancé Zine Elabidine et tous la famille Bouaichaoui
À mes sœurs , Wahida, Nabila et ses enfants .

À ma chère binôme Amani pour sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet .

À mes amies et à toute ma famille sans oublier mes douces sœurs: Houda , Nadia, Rafika et à leurs enfants .

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail .

-Feryal -

Remerciements



Avant tout, Nous remercions **DIEU**, de nous avoir aidé et donné la volonté, la force et la patience afin d'accomplir de ce modeste travail. Nous remercions très vivement **Dr HENDEL Noui**, pour sa disponibilité, son encadrement, sa confiance, Nous vous exprimons notre gratitude et notre reconnaissance à travers ce travail pour l'attention, la patience et l'engagement dont vous avez fait preuve, pour ses précieux conseils et son aide vous nous avez prodigué durant toute la période du travail, ce fut un grand plaisir de travailler sous votre encadrement

Nous tenons à remercier les membres du jury d'avoir accepté de juger notre modeste travail :

Pr SARRI Madani et Dr BENSLAMA Abderrahim

Nous voudrions remercier aussi Mr SEGHIRI Kamel, responsable des laboratoires pédagogiques, sans oublier de remercier toutes les ingénieures de laboratoire de microbiologie et biochimie, pour leur gentillesse, leur aide et leurs conseils ; merci de tous nos cœurs.

Nous remercions toutes nos collègues du deuxième Master.

Nous remercions tous ceux qui ont contribué de près ou de loin dans ce mémoire.

SOMMAIRE

Résumé	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	1
1. Synthèse bibliographique	2
1.1. Phytothérapie	2
1.2. Plantes médicinales	2
1.3. Métabolites secondaires	2
1.3.1. Polyphénols	3
1.3.1.1. Structure	3
1.3.1.2. Classification	4
1.3.2. Flavonoïdes	5
1.3.2.1. Structure	5
1.3.2.2. Classification	5
1.4. Activités biologiques	6
1.4.1. Activité antioxydante	6
1.4.1.1. Radicaux libres et stress oxydant	6
1.4.1.2. Antioxydants	7
1.4.1.3. Défense antioxydante	7
1.5. Activités antimicrobiennes	8
1.5.1. Antibiotiques	8
1.5.1.1. Antibiotiques naturels	8
1.6. Plante étudiée	9
1.6.1. Métabolites secondaires du genre <i>Linaria</i>	9
1.6.2. Utilisation en médecine traditionnelle du genre <i>Linaria</i>	9
1.6.3. Description botanique de <i>Linaria scariosa</i> (Vent.) Desf.	10
1.6.4. Classification dans la systématique botanique	10
2. Matériels et méthodes	11
2.1. Matériel végétal	11
2.2. Procédés d'extraction	11
2.2.1. Extraction méthanolique par macération	11
2.2.2. Extraction par décoction à l'eau distillée	12
2.3. Dosage des composés phénoliques	13
2.3.1. Dosage des polyphénols	13
2.3.2. Dosage des flavonoïdes	13
2.4. Evaluation de l'activité antioxydante	14
2.4.1. Test de DPPH	14
2.5. Evaluation de l'activité antimicrobienne	14
2.5.1. Microorganismes testés	14
2.5.2. Préparation de l'inoculum	15
2.5.3. Activité antibactérienne	15
2.5.3.1. Test des puits de diffusion	15
2.5.3.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	15
2.5.4. Activité antifongique	16
2.5.4.1. Effet des extraits sur la croissance radiale des champignons	16
2.6. Analyse statistique	17
3. Résultats et discussion	18
3.1. Rendement en extraits	18
3.2. Dosage des composés phénoliques	18
3.3. Activité antioxydante	20
3.3.1. Test au DPPH	20
3.4. Activité antimicrobienne	21
3.4.1. Activité antibactérienne	21
3.4.1.1. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	23
3.4.2. Activité antifongique	23
Conclusion et prescriptives	25
Références bibliographiques	26
ANNEXES	

Résumé

Le genre *Linaria* est une plante de la famille *Scrophulariaceae*. Cette plante est connue par sa richesse en composés naturels d'où son utilisation en médecine traditionnelle. *Linaria scariosa* est une espèce saharienne endémique pour l'Algérie et la Tunisie. L'objectif de ce travail est d'évaluer le pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits méthanolique et aqueux des feuilles de cette plante. Les teneurs en composés phénoliques à savoir, les polyphénols les flavonoïdes totaux ont été évaluées et les taux étaient modérés. L'activité antioxydante a été réalisée par le test du DPPH et les IC_{50} sont estimées de $382.15 \pm 46.22 \mu\text{g/ml}$ et $260 \pm 17.04 \mu\text{g/ml}$ pour l'EM et EAq respectivement. L'activité antimicrobienne a été évaluée sur quatre souches bactériennes (Gram+ et Gram-) et quatre champignons selon la méthode de puits de diffusion : seul l'extrait EM qui a présenté un effet inhibiteur sur 2 souches bactériennes. L'EAq n'avait aucune activité antibactérienne, mais avait un effet important sur 2 champignons. L'extrait EM avait un effet antifongique faible.

Mots clés : *Linaria scariosa*, composés phénoliques, activité antioxydante, activité antimicrobienne.

ملخص

جنس *Linaria* هو نبات من عائلة *Scrophulariaceae*. يشتهر هذا النبات بغناه بالمركبات الطبيعية ومن ثم استخدامه في الطب التقليدي *Linaria scariosa*. هو نوع من الأنواع الصحراوية المتوطنة في الجزائر وتونس. كان الهدف من هذا العمل هو تقييم القوة المضادة للأكسدة والمضادة للميكروبات للمستخلصات الميثانولية والمائية لأوراق هذا النبات. تم تقييم محتويات المركبات الفينولية و هي البوليفينول و الفلافونويد الكلي وكانت المستويات معتدلة. تم إجراء النشاط المضاد للأكسدة بواسطة اختبار DPPH وتم تقدير IC_{50} بـ 46.22 ± 382.15 ميكروغرام / مل و 17.04 ± 260 ميكروغرام / مل لـ ME و AqE على التوالي. تم تقييم النشاط المضاد للميكروبات على أربع سلالات بكتيرية (جرام + و جرام-) وأربع فطريات بتطبيق طريقة الانتشار عن طريق الآبار: أظهر مستخلص ME فقط تأثيرا مثبطا على سلالتين من البكتيريا. لم يكن لـ AqE أي نشاط مضاد للجراثيم ولكن كان له تأثير معنوي على 2 فطريات. كان لمستخلص ME تأثير مضاد ضعيف على للفطريات.

الكلمات المفتاحية: *Linaria scariosa*، مركبات فينولية ، نشاط مضاد للأكسدة ، نشاط مضاد للميكروبات.

Abstract

The genus *Linaria* is a plant of the *Scrophulariaceae* family. This plant is known for its richness in natural compounds, hence its use in traditional medicine. *Linaria scariosa* is a Saharan species endemic to Algeria and Tunisia. The objective of this work was to evaluate the antioxidant and antimicrobial power of the methanolic and aqueous extracts of the leaves of this plant. The contents of phenolic compounds, namely polyphenols and total flavonoids, were evaluated and the levels were moderate. The antioxidant activity was carried out by the DPPH test and the IC₅₀s were estimated at 382.15 ± 46.22 µg/ml and 260 ± 17.04 µg/ml for ME and AqE respectively. The antimicrobial activity was evaluated on four bacterial strains (Gram+ and Gram-) and four fungi based on the agar well diffusion method: only the ME extract showed an inhibitory effect on 2 bacterial strains. AqE had no antibacterial activity, but had a significant effect on 2 fungi. The ME extract had a weak antifungal effect.

Key words: *Linaria scariosa*, phenolic compounds, antioxidant activity, antimicrobial activity.

Liste des abréviations

ATCC	American Type Culture Collection
BHT	Butylhydroxytoluène
CFI	Concentration minimale inhibitrice
CMB	Concentration minimale bactéricide
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DNA	Désoxyribonucléicacid
DPPH	2,2-diphényl-1-picrylhydrazile
EAG	Equivalent d'acide gallique
EM	Extrait méthanolique
EAg	Extrait aqueux
EQ	Equivalent de quercétine;
GN	Gélose nutritive
TFT	teneur en flavonoïdes totaux
TPT	teneur en polyphénols totaux
I%	Pourcentage d'inhibition
IC₅₀	Concentrationdel'échantillonfournissant50%d'inhibition
MHA	Mueller-HintonAgar
PDA	PotatoDextroseAgar

Liste des figures

Figure 1. Schéma d'un phénol simple (C6) .	04
Figure 2.. Les principaux acides phénoliques.	04
Figure 3. Squelette de base des flavonoïde.	05
Figure 4. Schéma représente la défonce antioxydants.	07
Figure 5. Photo sur les parties aériennes de <i>Linaria scariosa</i> au site de récolte (campus de l'université de M'sila).	11
Figure 6. Dispositifs d'extraction : a) Macération, b) Evaporation sous vide.	12
Figure 7. Courbes étalons des standards Acide gallique (A), et Quercétine (B).	18
Figure 8. Teneurs (mg/g) en TPT et en TFT de l'EM et de l'EAQ de <i>L. scariosa</i> .	19
Figure 9. Pourcentages d'inhibition du DPPH• en fonction des concentrations de : l'EM, l'EAQ de <i>L. scariosa</i> et le BHT.	20
Figure 10. Zones d'inhibition provoquées par Effet de l'EM des feuilles de <i>L scariosa</i> sur <i>B. cereus</i> .	22
Figure 11. Taux d'inhibition de la croissance mycélienne des moisissures causé par l'EM et l'EAQ des feuilles de <i>L. scariosa</i>	24

Liste des tableaux

Tableau 1. Principales espèces radicalaires impliquées dans le stress oxydant.	06
Tableau 2. Les valeurs IC ₅₀ de l'EM, de l'EAq de <i>L. scariosa</i> et du standard BHT dans le test de DPPH.	21
Tableau 3. Zones d'inhibition (mm) des extraits EM et EAq des feuilles de <i>L. scariosa</i> vis-à-vis des souches bactériennes.	22
Tableau 4. CMI et CMB (mg/ml) de l'EM des feuilles de <i>L. scariosa</i> vis-à-vis des souches bactériennes testées.	23

INTRODUCTION

Introduction

L'homme utilise depuis toujours les plantes aromatiques et médicinales (PAM) pour guérir et combattre la maladie. Dans toutes les civilisations et continents anciens, on trouve traces de cette utilisation. C'est pourquoi, aujourd'hui encore, malgré la pharmacologie, l'usage thérapeutique des plantes est très répandu dans certains pays, notamment dans les pays en voie de développement (Chaachouayet *al.*, 2020).

Selon l'organisation mondiale de la santé OMS, environ 80 % de la population mondiale ont recours à la médecine traditionnelle, pour le traitement de diverses maladies (OMS, 2022). En effet, plus de 200 000 espèces (environ 300 000 espèces de plantes recensées aujourd'hui sur notre planète) vivent dans les pays tropicaux d'Afrique. Parmi les utilisateurs potentiels de ces plantes, la médecine traditionnelle et la pharmacopée arrivent en tête de liste de ceux qui les utilisent, soit 70% de la population du tiers monde (Abayomi, 2010).

L'Algérie est riche en diversité végétale et ajoute à la tradition l'utilisation des plantes. La recherche de nouvelles molécules doit utiliser les données ethnopharmacologiques aussi bien diverses que la biodiversité végétale.

Actuellement, les scientifiques favorisent le développement d'une nouvelle génération de substances antimicrobiennes et/ou antioxydantes à base de plantes (d'origine végétale) pour remplacer celles de synthèse. En effet, les substances naturelles d'origine végétale sont douées de plusieurs activités biologiques comme l'activité antioxydante, anti-inflammatoire, anticancéreuse, antimicrobienne... etc. En outre elles connaissent un intérêt croissant dans les domaines cosmétique, pharmaceutique et agro-alimentaire (Kada, 2018).

Le but de ce travail est de faire une étude préliminaire sur la plante *Linaria scariosa* (Vent.) Desf., trouvée poussant de manière spontanée, dans le campus de l'université de M'sila. Cette plante est connue comme plante spontanée du Sahara de l'Algérie, elle est endémique pour l'Algérie et la Tunisie. Très peu d'études ont été menées sur cette espèce. Notre travail cible l'étude la teneur en polyphénols, l'activité antioxydante et l'activité antimicrobienne de cette plante.

CHAPITRE I
SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE

1. Synthèse bibliographique

1.1. Phytothérapie

Le mot "phytothérapie" se compose de deux racines grecques *phuton* qui signifie "plante" et *therapeia* qui signifie "traitement" ; donc traitement par les plantes (Gayet, 2018).

La phytothérapie est l'une des plus anciennes thérapeutiques qui utilisent les plantes pour venir à bout des causes et symptômes de diverses maladies, donc on peut se définir la phytothérapie comme une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états pathologiques au moyen de plantes, de parties de plantes ou de préparations à base de plantes ; l'utilisation d'extraits de plantes et de principes actifs naturels qu'elles soient consommées ou utilisées en voie externe, à la condition d'utiliser des médicaments correctement préparés et que le prescripteur ait été correctement formé à les prescrire pour éviter des effets secondaires et des problèmes négatifs (Chabrier, 2010)

1.2. Plantes médicinales

Selon l'édition Xème de la Pharmacopée française, les plantes médicinales "sont des médicaments botaniques au sens de la Pharmacopée européenne, ayant au moins en partie une valeur médicinale". Ce sont donc toutes des plantes qui contiennent une ou plusieurs substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou pour synthétiser des médicaments utiles. Ces plantes médicinales peuvent également être utilisées à des fins alimentaires, condimentaires ou hygiéniques (Chabrier, 2010).

Ce sont toutes les plantes qui contiennent une ou des substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des procureurs dans la synthèse de drogues utiles.

1.3. Métabolites secondaires

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires classiques (glucides, protéides, lipides, acides nucléiques), ils accumulent fréquemment des métabolites dits secondaires (Macheix *et al.*, 2005)

Ces produits chimiques ont été nommés "métabolites secondaires" par **A. KOSSEL** en 1891. Elles ont joué un rôle majeur dans l'adaptation des plantes à leur environnement mais représentent également une source importante de produits pharmaceutiques actifs (Bourgaudet *al.*, 2001).

“Métabolites secondaires” désigne une classe de composés organiques qui ne participent pas directement à la croissance, au développement et à la reproduction des plantes, d'où leur nom de "métabolites secondaires". Ces composés sont utilisés comme marqueurs taxonomiques en raison de leur distribution limitée dans les groupes taxonomiques. Par contre, les métabolites primaires se trouvent dans tous les tissus des plantes et exercent une activité métabolique nécessaire à la croissance et au développement des plantes (Ahmed *et al.*, 2017).

On peut classer les métabolites secondaires en plusieurs grands groupes : parmi ceux-ci, les composés phénoliques, les terpènes et stéroïdes et les composés azotés dont les alcaloïdes (Krief, 2003).

1.3.1. Polyphénols

Les polyphénols sont apportés par l'alimentation d'origine végétale et présentent une grande diversité structurale. L'effet protecteur des polyphénols a été attribué à leurs propriétés antioxydantes, susceptibles de prévenir des dommages oxydatifs moléculaires et cellulaires induisant diverses pathologies (cancers, diabète de type 2, maladies cardiovasculaires et neurodégénératives) (Amiot *et al.*, 2009).

1.3.1.1. Structure

Les composés phénoliques possèdent un ou plusieurs cycles aromatiques avec un ou plusieurs groupes hydroxyles (figure 1). Ils sont largement distribués dans le règne végétal et sont les métabolites secondaires les plus abondants des plantes, avec plus de 8 000 structures phénoliques actuellement connues (Dai and Mumper, 2010).

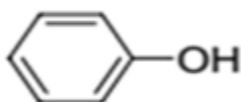


Figure 1. Schéma d'un phénol simple (C6) (Adel and Boudjouref, 2020).

1.3.1.2. Classification

Généralement, les polyphénols sont classés en deux grandes classes ; flavonoïdes et non flavonoïdes ; ces derniers comprennent structurellement des molécules simples comme les acides phénoliques (acides hydroxybenzoïques et acides hydroxycinnamiques) (figure 2) et des stilbènes, et de très complexes molécules telles que les oligomères de stilbènes, les tanins et les lignines (Khan and Dangles, 2014).

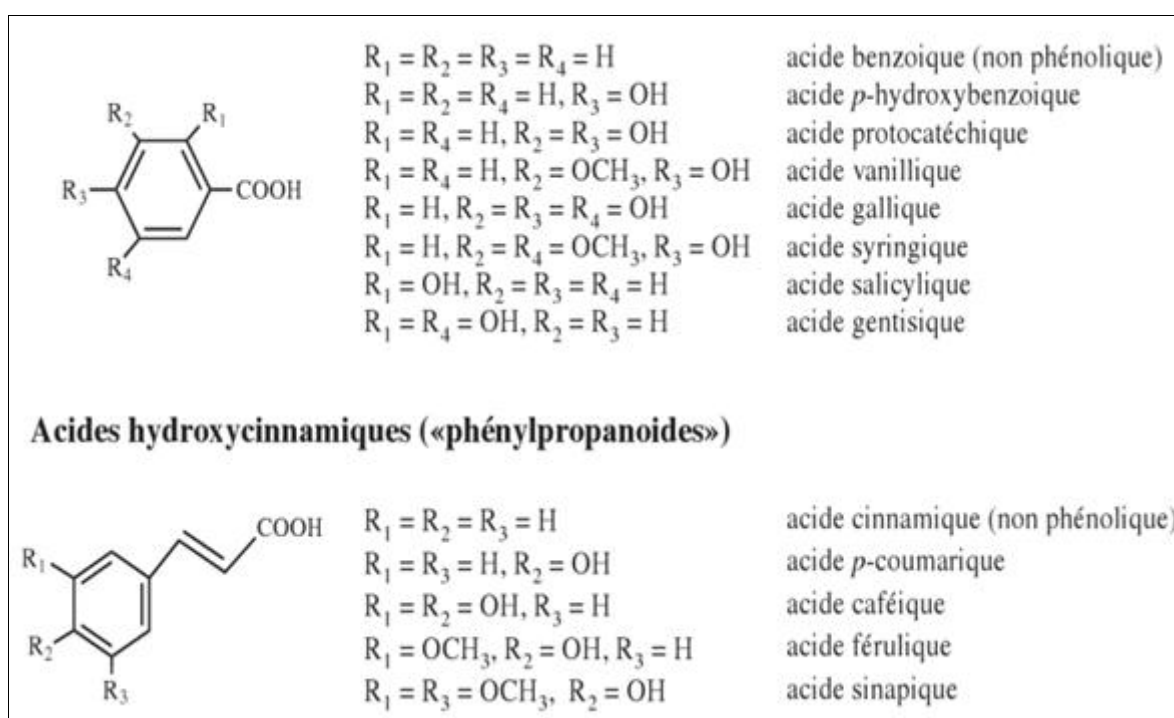


Figure 2. Les principaux acides phénoliques (Macheix et al., 2005).

1.3.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des produits largement distribués dans le règne végétal et sont couramment consommés quotidiennement sous forme de fruits, légumes et boissons telles que le vin et le thé. Elles constituent un groupe de plus de 6 000 composés naturels qui sont quasiment universels chez les plantes vasculaires. Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux (Ghedira, 2005).

1.3.2.1. Structure

Les flavonoïdes sont le plus grand groupe de phénols végétaux, représentant plus de la moitié des huit mille composés phénoliques naturels. Ils sont des composés de faible poids moléculaire composés de quinze atomes de carbone, disposés en une configuration C₆-C₃-C₆. Essentiellement, la structure est composée de deux cycles aromatiques A et B par un pont 3-carbone (figure 3)(Ajila *et al.*, 2011)

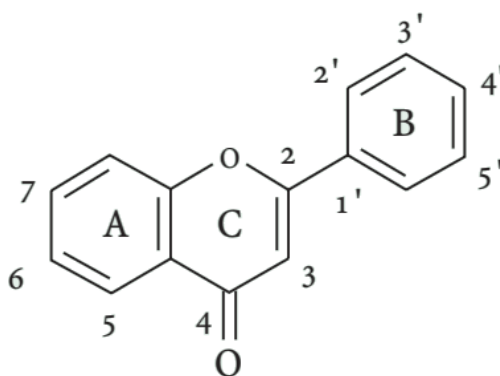


Figure 3. Squelette de base des flavonoïde (Ghedira, 2005).

1.3.2.2. Classification

Les principales classes de flavonoïdes sont les flavonols, les flavones, flavanones, flavanols (catéchines), isoflavones, flavanonols et anthocyanidines. Les flavones et flavonols sont les plus répandus et des composés structurellement divers (Ajila *et al.*, 2011).

1.4. Activités biologiques

1.4.1. Activité antioxydante

La notion de "radicaux libres", de "stress oxydant" ou d'"antioxydants" est de plus en plus souvent utilisée pour expliquer différentes atteintes pathologiques et leur approche thérapeutique. En fait, ces différents vocables se rapportent à un véritable monde chimique ayant de grandes conséquences métaboliques : l'état d'oxydoréduction, dont dépend la formation de "radicaux libres"(Leverve, 2009).

1.4.1.1. Radicaux libres et stress oxydant

Les radicaux libres sont des produits chimiques qui ont un seul électron dans leur couche externe, ce qui rend ce produit chimique particulièrement instable. Lorsque cet électron unique se trouve sur l'atome d'oxygène, nous disons "espèces réactives de l'oxygène" (ERO). Les principaux types de radicaux libres centrés sur l'oxygène sont présentés dans le tableau 1 (Durand *et al.*, 2013).

Tableau 1. Principales espèces radicalaires impliquées dans le stress oxydant (Durand *et al.*, 2013).

$O_2^{\cdot -}$	Radical superoxyde
HO_2^{\cdot}	Radical perhydroxyle
$^{\cdot}OH$	Radical hydroxyle
ROO^{\cdot}	Radical peroxyde
RO^{\cdot}	Radical alkoxyde

Le stress oxydant se définit comme un déséquilibre entre la production de radicaux libres ou ERO et les mécanismes de défense antioxydants, il est possible de mesurer la production de radicaux libres, la capacité antioxydante et les effets biologiques du stress oxydatif (Goudable and Favier, 1997)

1.4.1.2. Antioxydants

Le terme antioxydant désigne « toute substance qui, présente à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retarde ou inhibe significativement l'oxydation de ce substrat ». Les antioxydants endogènes de type enzymatique sont plutôt impliqués dans la neutralisation des ERO. Les antioxydants non enzymatiques et ceux d'origine exogène sont des donneurs de protons ou d'électrons (Durand *et al.*, 2013).

1.4.1.3. Défense antioxydante

La défense contre les dérivés radicalaires repose sur deux mécanismes distincts et complémentaires entre les systèmes non enzymatiques et enzymatiques.

La défense antioxydante correspond à la capacité d'éliminer à terme les espèces radicalaires, celles qui présentent des électrons non appariés au niveau de leurs couches périphériques. Les substances non enzymatiques (vitamines C et E) agissent pour guider les électrons uniques afin d'éviter l'attaque par les lipides membranaires. La réduction de la vitamine C permise par l'oxydation du glutathion représente la première étape enzymatique qui éliminera à terme le glutathion oxydé en appauvrissant le NADPH sous l'action de la glutathion réductase (figure 4). Chaque étape est importante, mais le niveau de capacité enzymatique est très contrôlable (Leverve, 2009).

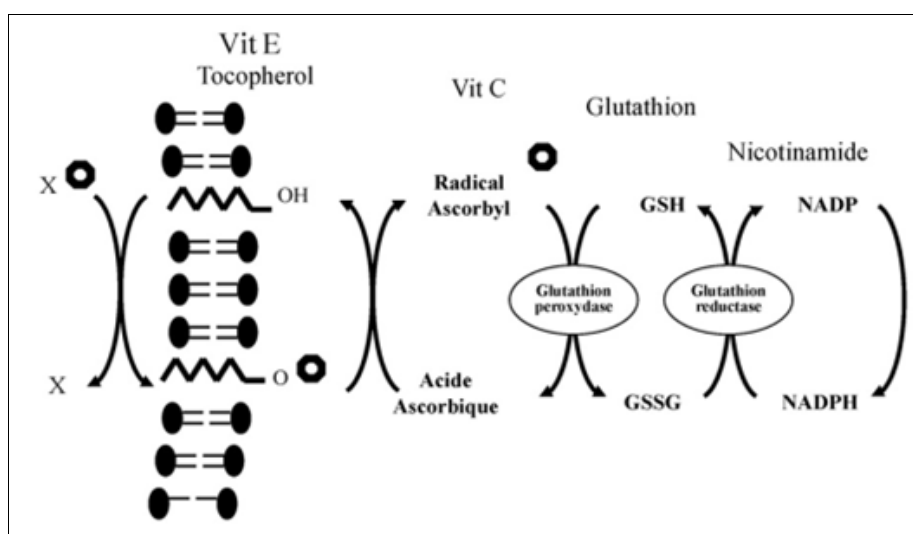


Figure 4. Schéma représente la défense antioxydants (Leverve, 2009)

1.5. Activités antimicrobiennes

Les bactéries sont des êtres vivants unicellulaires et autonomes, procaryotes qui ne contiennent pas de vrai noyau et qui se trouvent en très grand nombre parce qu'ils peuvent se multiplier rapidement. Il y a beaucoup de types de bactéries qui sont toutes éparées dans différents groupes et chaque groupe ayant des propriétés uniques. Les maladies infectieuses causées par les bactéries affectent des millions de personnes dans le monde entier et causent de lourdes pertes au niveau économique. Ces infections bactériennes sont traitées par des antibiotiques qui sont des agents antimicrobiens non ou relativement peu toxiques pour l'organisme humain ou animal (Benayad, 2013).

A côté des antibiotiques, beaucoup de plantes aromatiques synthétisent différents métabolites secondaires dotés d'activité antibiotique mais en général cette activité est plus faible que celle exercée par les antibiotiques d'origine microbienne. Parmi ces métabolites on trouve les polyphénols qui sont doués de diverses importantes activités antimicrobiennes, cette diversité est probablement reliée à leurs diversités structurales (Kada, 2018).

Les champignons sont un groupe unique d'organismes, différents de tous les autres dans leur comportement et l'organisation cellulaire. Ils ont également une vaste gamme d'activités en tant que pathogènes des plantes cultivées ou des humains, en tant que décomposeurs, et en tant que producteurs de nombreux métabolites importants (Deacon, 2013).

1.5.1. Antibiotiques

Les antibiotiques empêchent les bactéries de se multiplier en perturbant leur métabolisme, ou en s'attaquant directement à leur structure de base, comme les parois cellulaires, les ribosomes, les membranes plasmiques et l'ADN. Comme la vancomycine, certains antibiotiques sont naturels, ils sont synthétisés par des micro-organismes, d'autres sont semi-synthétiques (ampicilline).

1.5.1.1. Antibiotiques naturels

Les plantes synthétisent différents métabolites secondaires à activité antibiotique, mais généralement cette activité est plus faible que le rôle joué par les antibiotiques d'origine microbienne. Parmi ces métabolites, les polyphénols sont considérés comme bactéricides pour les bactéries Gram positives et Gram négatives ; cet effet peut être dû à l'inhibition de certaines

enzymes, la déstabilisation de la membrane cytoplasmique pour la rendre perméable, l'inhibition des enzymes bactériennes extracellulaires etc. (Kada, 2018).

L'activité des flavonoïdes est due principalement à la capacité de ces molécules à inhiber l'expression de l'ADN et la synthèse de certaines enzymes et protéines membranaires des microorganismes. Les flavonoïdes peuvent aussi interférer avec le métabolisme énergétique des bactéries (Kada, 2018).

1.6. Plante étudiée

L'Algérie est l'un des pays les plus riches en biodiversité. Cette richesse mérite d'être investiguée pour étudier la composition chimique dans le but d'isoler les substances naturelles à activités biologiques importantes, et contribuer à la recherche en phytothérapie, pharmacologie et phytochimie (Ahmed Chaouch, 2019).

Le genre *Linaria* appartient à la famille *Scrophulariaceae* et comprend environ 200 espèces (Cheriet *al.*, 2015), principalement distribués en Europe, en Asie et en Afrique du Nord. Il est représenté par 39 espèces en Algérie ; c'est des plantes herbacées, annuelles ou vivaces, à feuilles simples et étroites (souvent linéaires) d'où elles tirent leurs noms en évoquant celles du lin cultivé, elles sont directement attachés à la tige. Les fleurs groupées en racèmes simples ou capituliformes, ou en racèmes de racèmes présentant ainsi une symétrie bilatérale. Calice à cinq lobes inégaux, souvent courts. Corolle bilabée à tube renflé, à limbe en gueule, prolongée à la base par un éperon. Le fruit est une capsule polysperme à deux loges (Ahmed Chaouch, 2019)

1.6.1. Métabolites secondaires du genre *Linaria*

Des travaux antérieurs sur 41 espèces du genre *Linaria* ont permis d'isoler et d'identifier 191 composés naturels en particulier des iridoïdes, diterpénoïdes, flavonoïdes, alcaloïdes et phénylétanoïdes (Akkol and Ercil, 2009)

1.6.2. Utilisation en médecine traditionnelle du genre *Linaria*

Les espèces de ce genre sont largement utilisées en médecine traditionnelle pour traitement de plusieurs maladies : elles sont connues comme toniques, anti-scorbutiques, laxatifs, anti-

diabétiques, diurétiques et cicatrisantes (Cheriet *et al.*, 2015), elles sont également utilisées dans le traitement des hémorroïdes, le traitement de la toux et l'asthme, les inflammations de la vessie et éruptions cutanées (Vrchovská *et al.*, 2008; Ahmed Chaouch, 2019; Mouffouk *et al.*, 2020)

1.6.3. Description botanique de *Linaria scariosa* (Vent.) Desf.

C'est une plante très hispide à tiges veloutées. Feuilles 3 à 5 fois plus longues que larges, ovales irrégulièrement dentées à la base. Pédicelles 2 à 4 mm. Corolle hispide de 5 à 7 mm. Divisions du calice largement scarieuses. C'est une espèce très rare distribuée dans les pâturages désertiques et qui se trouve essentiellement dans la région de Biskra et confins tunisiens. C'est une plante endémique pour l'Algérie et la Tunisie (Ahmed Chaouch, 2019).

1.6.4. Classification dans la systématique botanique

Règne	<i>Plantae</i>
Embranchement	<i>Viridaeplantae</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Ordre	<i>Scrophulariales</i>
Famille	<i>Scrophulariaceae</i>
Sous-famille	<i>Scrophularioidea</i>
Tribu	<i>Antirrhineae</i>
Genre	<i>Linaria</i>
Espèce	<i>Linaria scariosa</i> (Vent.)Desf.

CHAPITRE II
MATERIEL ET METHODES

2. Matériels et méthodes

2.1. Matériel végétal

La récolte de la plante *Linaria scariosa* eu lieu en Mars 2022 au campus de l'université de M'sila – pôle universitaire (figure 5). La plante a été séchée à l'ombre dans un endroit sec et aéré pendant 2 semaines. Après séchage, les parties aériennes ont été récupérées, stockées dans des sacs de papier hermétiquement fermés et placées à l'abri de la lumière et de la chaleur jusqu'à utilisation.



Figure 5. Photo sur les parties aériennes de *Linaria scariosa* au site de récolte (campus de l'université de M'sila) (Photo par HENDEL, 2021).

2.2. Procédés d'extraction

2.2.1. Extraction méthanolique par macération

Une extraction méthanolique par macération des feuilles de de *L. scariosa* est réalisée comme suit : 500ml de méthanol ont été ajoutés à 50g du broyat des feuilles et le mélange a été maintenu sous agitation pendant 24h à température ambiante (figure 65a). L'extrait a été filtré à

travers du papier Whatman, puis concentré sous vide à 40°C à l'aide d'un évaporateur rotatif (figure 6b). Après séchage dans une étuve (40°C), l'extrait sec a été récupéré, pesé et conservé à 4°C jusqu'à son utilisation (Atere *et al.*, 2018). Le rendement en extrait est exprimé en pourcentage par rapport au poids sec de la plante et est calculé par la formule suivante:

$$\text{Rendement}_{\text{Ext}} \% = \frac{M_{\text{Ext}}}{M_{\text{Ech}}} \times 100$$

Où

M_{Ext} : Masse de l'extrait après évaporation du solvant en g.

M_{Ech} : Masse de l'échantillon végétal en g.

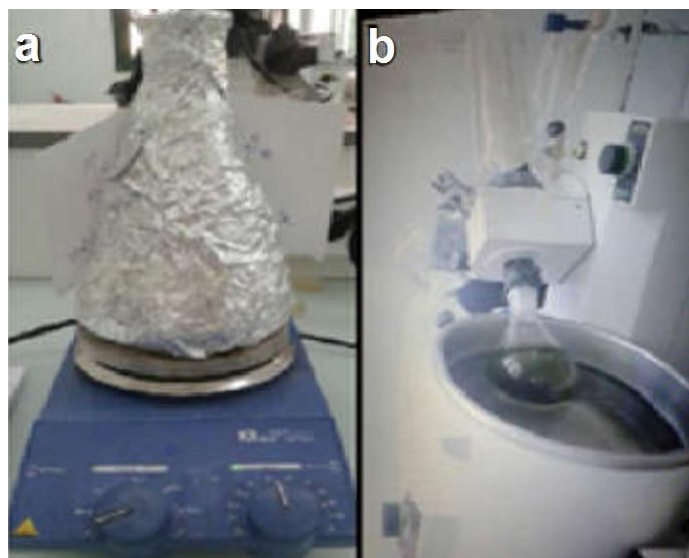


Figure 6. Dispositifs d'extraction : a) Macération, b) Evaporation sous vide.

2.2.2. Extraction par décoction à l'eau distillée

Une décoction à l'eau distillée des feuilles de la plante a été effectuée comme suit : 50mg de poudre de feuilles de *L. scariosa* ont été ajoutés à 100 ml d'eau distillée puis le mélange est soumis à l'ébullition pendant 20 minutes sous agitation. Après refroidissement, le mélange a été filtré à travers du papier filtre Whatman N°1. Le filtrat obtenu a été concentré et séché à 40°C dans une étuve. L'extrait sec a été récupéré et stocké à 4°C à l'obscurité jusqu'à son utilisation(Harrar, 2018).

Le rendement est calculé selon la formule :

$$\text{Rendement}_{\text{Ext}\%} = \frac{M_{\text{Ext}}}{M_{\text{Ech}}} \times 100$$

Où

M_{Ext} : Masse de l'extrait après évaporation du solvant en g.

M_{Ech} : Masse de l'échantillon végétal en g.

2.3. Dosage des composés phénoliques

2.3.1. Dosage des polyphénols

Le dosage des polyphénols a été réalisé à l'aide du réactif de « Folin-Ciocalteu » en présence de Na_2CO_3 . Les polyphénols totaux ont été déterminés par spectrophotométrie selon la méthode décrite par (Bougandoura and Bendimerad, 2013) avec des modifications ; une quantité de 200 μl de l'extrait des feuilles de *L. scariosa* a été mélangée avec 1ml de réactif Folin-ciocalteu fraîchement préparé (10fois dilué) et 0.8ml de carbonate de sodium 7.5% (Na_2CO_3). L'ensemble est incubé à température ambiante pendant 120min et la lecture de l'absorbance a été effectuée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 765nm. Le dosage des phénols totaux se fait par comparaison de l'absorbance de chacun des échantillons par rapport à celle obtenue par un étalon qui est l'acide gallique et les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalents d'acide gallique par g d'extrait sec (mg EAG/g d'extrait sec).

2.3.2. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes dans les extraits des feuilles de *L. scariosa* a été déterminé par la méthode de trichlorure d'aluminium. Un volume de 600 μl de l'extrait préparé a été mélanger avec 600 μl de AlCl_3 à 2%, après l'agitation le mélange est incubé a un température ambiante pendant 10 min puis l'absorbance est lue à 415 nm . La teneur en flavonoïdes a été calculée à partir d'une courbe d'étalonnage ($y=ax+b$) réalisée par la quercétine à différentes concentrations dans les mêmes conditions que les échantillons. Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalents de quercétine par g d'extrait (mg EQ/g d'extrait) (Boubekeur, 2019).

2.4. Evaluation de l'activité antioxydante

2.4.1. Test de DPPH

Le principe du test consiste à mesurer l'activité antiradicalaire par le piégeage des radicaux libres du DPPH (2,2'-Diphényl-1-picrylhydrazine). Le DPPH, $C_{18}H_{12}N_5O_6$; PM=394.33, est un radical libre stable, soluble dans le méthanol (ou l'éthanol). De couleur violet intense, son absorbance maximale est à 517 nm. Lorsque les molécules antioxydantes diminuent les radicaux libres du DPPH, le violet disparaît et devient rapidement jaune pâle (Bohui *et al.*, 2018)

Le pouvoir de piégeage, des radicaux libres du DPPH, de l'extrait des feuilles de *L. scariosa* a été déterminé en utilisant la méthode décrite par Atere *et al.* (2018), avec quelques modifications. En bref, à 600µl de différentes concentrations d'extrait sont ajoutés 600 µl de DPPH préparé dans du méthanol. Le mélange est agité puis incubé dans l'obscurité pendant 30 min. L'absorbance est lue à 517 nm l'aide d'un spectrophotomètre contre un contrôle et un blanc contenant le méthanol pure . Le standard BHT (Butylhydroxytoluène) a été également analysé en respectant la même procédure. Le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH est calculé par la formule suivante :

$$I(\%) = [(A_c - A_t) / A_c] \times 100$$

Où

$I(\%)$ est le pourcentage d'inhibition ; A_c est l'absorbance du contrôle ; et A_t est l'absorbance de l'extrait. La concentration de l'extrait fournissant 50% d'inhibition (IC_{50}) est calculée à partir du graphique représentant le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait.

2.5. Evaluation de l'activité antimicrobienne

2.5.1. Microorganismes testés

Il s'agit des bactéries de référence *Staphylococcus aureus* ATCC25923 ; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 ; *Bacillus cereus* ATCC108776 ; *Escherichia coli* ATCC25922 disponibles au laboratoire de microbiologie du département de Microbiologie et

Biochimie; et les moisissures *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *Fusarium culmorum* et *Alternaria alternata* fournis par Dr HENDEL.

2.5.2. Préparation de l'inoculum

Les bactéries ont étéensemencées dans un bouillon nutritif et incubées à 37 °C/18h. Elles sont ensuiteensemencées dans la gélose nutritive et incubées à 37°C pendant 18h, pour optimiser leur croissance. A l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et identiques de chacune des souches bactériennes à tester sont prélevées et puis déchargées dans 9ml d'eau physiologique stérile. La suspension bactérienne est bien homogénéisée et son opacité est ajustée à 0.5 de l'échelle de McFarland.

Les champignons sont cultivés sur le milieu de culture Potato Dextrose Agar (PDA) à 25°C pendant 7jours. A partir de ces cultures sont prélevés des disques (6mm, l'inoculum) pour effectuer les tests d'activité antifongique.

2.5.3. Activité antibactérienne

2.5.3.1. Test des puits de diffusion

Avec un emporte-pièce, des puits de 7mm sont creusés dans la gélose de Mueller-Hinton Agar (MHA) coulée dans des boîtes de Pétri (à trois points équidistants du centre et des bords de la boîte) etensemencée par écouvillonnage de la suspension bactérienne, préparée comme ci-dessus (Biyiti *et al.*, 2004). Dans des conditions aseptiques l'EM a été dissout dans du diméthylsulfoxyde (DMSO), pour atteindre une concentration finale de 300 et 600 mg/ml, et 30µl de cette concentration sont incorporés dans chaque puits. Les diamètres d'inhibition sont ensuite mesurés autour des puits après une pré-incubation de 1 heure à 4°C pour que l'extrait puisse diffuser et une incubation à l'étuve à 37°C pendant 24 heures (Ben Sassi *et al.*, 2007). L'EM ou l'EAqa été remplacée par le DMSO dans les témoins.

2.5.3.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La CMI est définie comme étant la plus petite concentration à laquelle aucune croissance macroscopique n'est observée (Bachiri *et al.*, 2016). Les suspensions bactériennes ont été préparées à partir des cultures jeunes de 18h sur gélose nutritive (GN) et elles ont ensuite été

ajustées à une turbidité standard de 0.5 McFarland. Les extraits ont d'abord été dissous dans 10% de DMSO. Les valeurs de la CMI des extraits contre les souches bactériennes ont été déterminées par la méthode de micro-dilutions sur microplaque. Brièvement, les microplaques à 96 puits ont été préparées en distribuant dans chaque puits 95µl de bouillon nutritif et 5µl des inoculums. 100 µl de la solution mère des extraits initialement préparés ont été ajoutés dans les premiers puits. Ensuite, 100µl de leurs dilutions ont été transférés dans sept puits consécutifs. Le dernier puits contenant 195µl de bouillon nutritif sans extraits et 5µl d'inoculum a été utilisé comme contrôle négatif. Le volume final dans chaque puits était 200µl et les concentrations finales dans le bouillon étaient de 500 à 3.90mg/ml. Les microplaques ont ensuite été incubées à 37°C pendant 24h. les concentrations, dans les puits au niveau desquels aucune croissance n'est observée à l'œil nu, sont considérées comme des CMI (Sokmen *et al.*, 2004).

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). Afin de déterminer cette concentration, 0.1ml de chaque puits dans lequel aucune croissance n'est observée estensemencé sur gélose nutritive puis incubé à 37°C pendant 24h. Les concentrations, dans les boîtes qui ne présentent aucune croissance, sont considérées comme CMB (Bachiri *et al.*, 2016).

2.5.4. Activité antifongique

2.5.4.1. Effet des extraits sur la croissance radiale des champignons

L'effet des extraits EM et EAq sur la croissance radiale des champignons a été testé par la méthode de puits de diffusion. Brièvement, le milieu PDA a été coulé dans des boîtes de Pétri (90mm). Un disque de culture fongique (âgée de 07 jours) a été creusé aseptiquement à l'aide d'un emporte-pièce de 6mm puis déposé au centre du milieu de culture PDA. Dans des conditions aseptiques, l'EM et l'EAq (dissouts dans le DMSO avec une concentration de 300 et 600mg/ml) sont déposés en volume de 30µl dans des puits (Ø7mm) (préalablement placés et creusés respectivement à la surface du milieu à trois points équidistants du centre et des bords de la boîte de Pétri). L'EAq et l'EM ont été remplacés par le DMSO dans les témoins. Les boîtes sont pré-incubées à 4°C pendant une heure, pour que les extraits puissent diffuser, et ensuite

incubées à l'étuve à 25°C pendant 7 jours. Les diamètres des colonies sont enregistrés au septième jour et le taux d'inhibition est mesuré selon la formule (Meena *et al.*, 2021) :

$$I\% = [(D_c - D_t) / D_c] \times 100$$

Où

I% : Taux d'inhibition de la croissance du mycélium en pourcentage.

D_c : Diamètre de la colonie fongique du témoin (mm)

D_t : Diamètre de la colonie fongique traitée par l'extrait (mm)

2.6. Analyse statistique

Toutes les analyses de l'activité antioxydante sont faites en trois répétitions et la comparaison des moyennes est réalisée par Analyse de la Variance (ANOVA), permettant de calculer les moyennes et les écarts types. Les comparaisons statistiques ont été faites au moyen du test de Tukey. Pour l'ensemble des données, la significativité a été admise avec une erreur de 5% ($P \leq 0.05$).

CHAPITRE III
RESULTATS ET DISCUSSION

3. Résultats et discussion

3.1. Rendement en extraits

L'opération de l'extraction par macération des feuilles de *Linaria scariosa* dans le méthanol a permis d'obtenir un résidu sec d'extrait brute avec un rendement de 27.7%. Le rendement en extrait aqueux par décoction était estimé à 9.8%.

Le rendement de l'extrait méthanolique (EM) est supérieur par rapport à celui aqueux (EAq) ; en général, le rendement de l'extraction dépend du type de solvant utilisé, le temps d'extraction, la température, le rapport échantillon/solvant ainsi que de la composition chimique et des caractéristiques physiques des échantillons (Dai and Mumper, 2010). Les solvants polaires sont fréquemment utilisés pour la récupération des polyphénols à partir d'une matrice végétale. Les plus appropriés de ces solvants sont les mélanges aqueux (chaud ou froid) qui contiennent de l'éthanol, du méthanol, de l'acétone ou de l'acétate d'éthyle. Le méthanol et l'éthanol ont été largement utilisés pour extraire des composés antioxydants de diverses plantes (Sultana *et al.*, 2009).

3.2. Dosage des composés phénoliques

Les composés polyphénoliques standards utilisés pour le dosage polyphénols totaux et flavonoïdes totaux étaient l'acide gallique et la quercétine respectivement. L'évaluation des teneurs en composés polyphénoliques s'est basée sur la méthode colorimétrique et la détermination des teneurs des extraits ME et EAq s'est faite au moyen de courbes étalons des composés standards (figure 7).

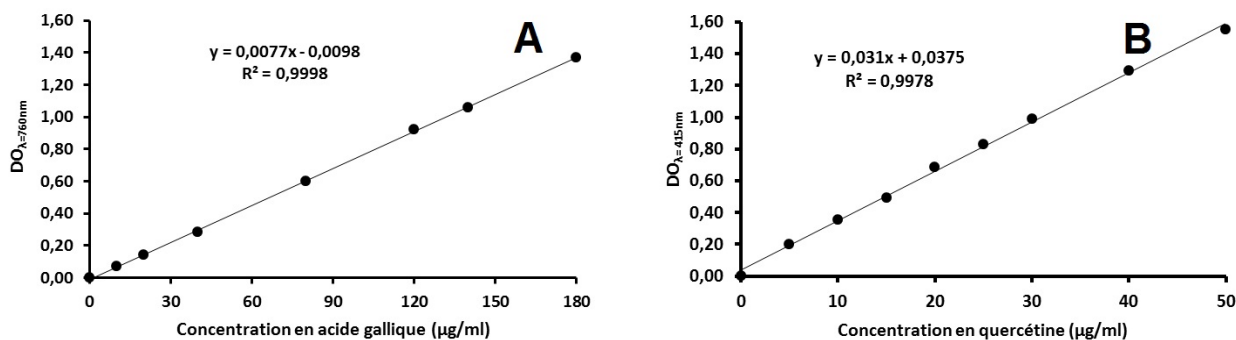


Figure 7. Courbes étalons des standards Acide gallique (A), et Quercétine (B).

Les résultats obtenus montrent que la TPT et TFT de l'extrait méthanolique sont plus élevés que ceux de l'extrait aqueux (figure 8). La teneur en polyphénols et celle en flavonoïdes de l'EM et de l'Eaq sont très proches.

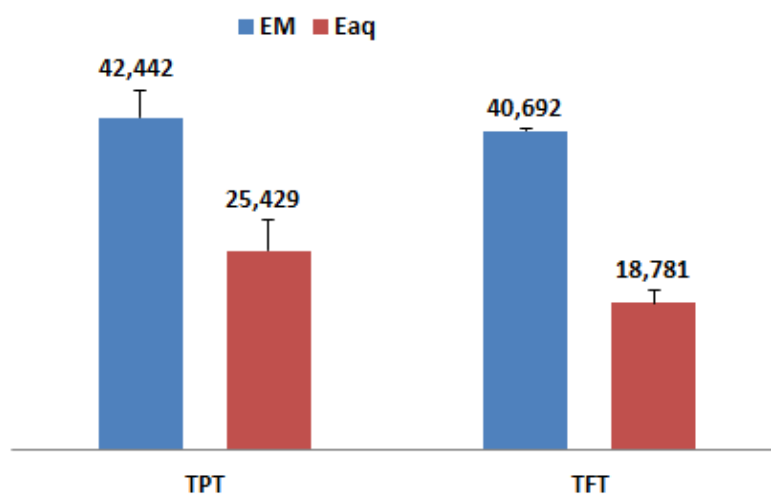


Figure 8. Teneurs (mg/g) en TPT et en TFT de l'EM et de l'Eaq de *L. scariosa*.

Nos résultats montrent que l'EM et l'Eaq contiennent des teneurs modérées en polyphénols et flavonoïdes mais dans une étude portée sur la recherche et détermination structurale des métabolites secondaires et évaluation de l'activité biologique la même espèce *Linaria scariosa* (Ahmed Chaouch, 2019), les différents extraits ont présenté des teneurs beaucoup plus élevées ; à savoir une quantité de $143.6 \pm 0.002 \mu\text{g EAG} / \text{mg}$ pour l'extrait acétate d'éthyle, $99.14 \pm 0.03 \mu\text{g EAG} / \text{mg}$ pour l'extrait *n*-butanol (d'extrait) et $81.64 \pm 0.01 \mu\text{g EAG} / \text{mg}$ pour l'extrait dichlorométhane. Les teneurs en flavonoïdes étaient proches de celles obtenues dans notre plante ; $30.19 \pm 0.006 \mu\text{g EQ} / \text{mg}$ pour l'extrait acétate d'éthyle, $26.39 \pm 0.01 \mu\text{g EQ} / \text{mg}$ pour l'extrait *n*-butanol, et $14.98 \pm 0.01 \mu\text{g EQ} / \text{mg}$ pour l'extrait dichlorométhane. Plusieurs facteurs peuvent affecter les niveaux des composés phénoliques ; facteur extrinsèques tels que les facteurs géographiques et climatiques intrinsèques

tels que les facteurs génétiques. La maturité des plantes et la durée de stockage à un effet important sur la teneur de polyphénol et flavonoïdes(Bouzidet *al.*, 2011).

3.3. Activité antioxydante

3.3.1. Test au DPPH

La méthode de DPPH repose sur la décoloration; mesurable par spectrophotométrie; indiquant la transformation de DPPH stable de couleur violette en sa forme réduite de DPPH-H de couleur jaune. L'activité de piégeage du DPPH par les extraits ME et EAq de *L. scariosa* ainsi que par le BHT est exprimée en IC₅₀ (tableau) et les résultats de la variation de l'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait sont illustrés dans la figure 9.

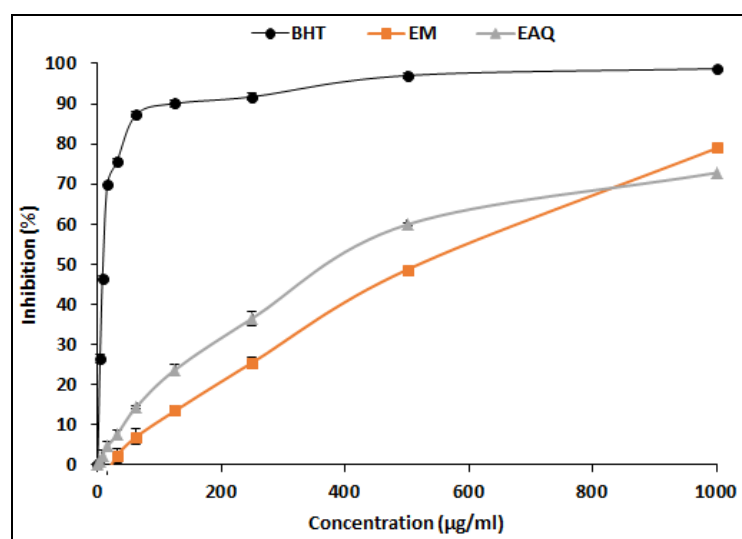


Figure 9. Pourcentages d'inhibition du DPPH• en fonction des concentrations de : l'EM, l'EAq de *L. scariosa* et le BHT.

Nos résultats (tableau 02) ont montré que l'EM des feuilles de *L. scariosa* a un pouvoir piégeur du radical libre DPPH assez faible comparable à celui du BHT. La capacité antioxydante des extraits et de l'antioxydant standard est exprimée en valeur d'IC₅₀ (concentration requise pour provoquer 50% d'inhibition de l'oxydation où la valeur la plus faible correspond à l'activité anti-radicalaire la plus importante) se présente selon l'ordre BHA >EAq> EM.

Cette activité antioxydante assez modérée peut être expliquée par les teneurs assez faibles en composés polyphénoliques des feuilles de *L. scariosa*.

Tableau 2. Les valeurs IC₅₀ de l'EM, de l'EAq de *L. scariosa* et du standard BHT dans le test de DPPH.

	BHT	EM	EAq
IC ₅₀ µg/ml.	4.41±0.18	382.15±46.22	260±17.04

Une différence significative est observée selon l'analyse de la variance à un facteur (ANOVA) suivie par le test de Tukey , p<0.05.

L'étude menée par Ahmed Chaouch (2019) sur différents extraits de la même plante montrent une activité antiradicalaire en termes de IC₅₀ comprise entre 71.64 et 292.82 et ce selon les solvants utilisés.

Ces différences entre cette dernière étude et notre peut être attribuée à la matière végétale soumise à l'extraction ; ces dernières données proviennent des extraits des parties aériennes (feuilles + fleurs + tiges) et nos données proviennent uniquement des extraits de feuilles ; ce qui peut être explique la différence de l'activité qui est due à la présence demolécules polaires à savoir les flavonoïdes et les polyphénols qui constituent les métabolites secondaires les plus abondants dans les plantes.

3.4. Activité antimicrobienne

3.4.1. Activité antibactérienne

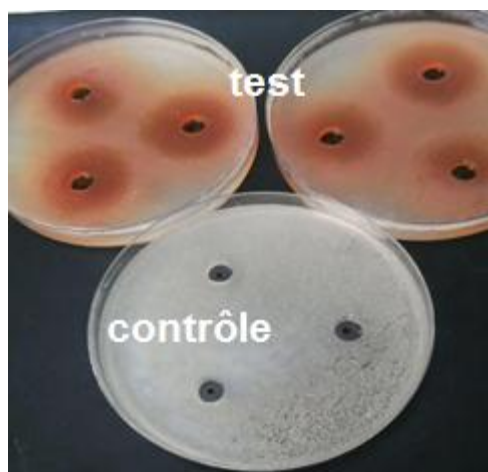
Nous avons étudié in vitro le pouvoir antimicrobien de l'EM et de l'EAq de *L. scariosa* par la méthode des puits de diffusion en milieu MHA. L'activité antimicrobienne des extraits a été estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques et des puits contenant les extraits à tester vis-à-vis de 4 souches bactériennes dont des G⁺ et des G⁻. Les résultats obtenus sont montrés dans le tableau 3.

Seules les deux bactéries *B. cereus* et *E. coli* qui ont été inhibées, et sous l'effet de l'EM (figure 10) . L'EAq n'avait aucun effet sur toutes les souches testées à la concentration testée. *B. cereus* (G⁺) et *E. coli*(G⁻) peuvent être considérées très sensibles à l'extrait EM des feuilles de *L. scariosa*.

Tableau 3. Zones d'inhibition (mm) des extraits EM et EAq des feuilles de *L. scariosa* vis-à-vis des souches bactériennes.

Bactéries	EM	EAq
<i>B. cereus</i>	20 ± 2.94	+
<i>E. coli</i>	30 ± 2.08	+
<i>P. aeruginosa</i>	+	+
<i>S. aureus</i>	+	+

+ : croissance totale

**Figure 10.** Zones d'inhibition provoquées par l'effet de l'EM des feuilles de *L. scariosa* sur *B. cereus*.

L'activité antibactérienne des substances actives d'origine végétale dépend surtout de la nature des bactéries Gram+ ou Gram- et aussi de la méthode d'extraction réalisée, nous avons noté toutefois que l'extrait le plus riche en composés phénoliques et flavonoïdes (extrait méthanolique) a montré une activité antibactérienne nettement plus prononcée que celui pauvre (extrait aqueux), par ailleurs la paroi des bactéries Gram+ est riche en protéines tandis que chez les souches Gram-, elle est surtout assemblée aux lipopolysaccharides au niveau de sa membrane externe ce qui constitue une barrière de perméabilité efficace (Basli *et al.*, 2012) plusieurs paramètres peuvent influencer la détermination de l'activité antimicrobienne comme : le type des microorganisme ciblé, la méthode d'évaluation de l'activité antimicrobienne, la

concentration, le type de l'extrait et particulièrement la nature et la structure moléculaire des molécules bioactives des métabolites secondaires (Ghedadba *et al.*, 2014)

3.4.1.1. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Les valeurs des CMI et CMB de l'extrait méthanolique des feuilles de *L. scariosa* sont déterminées par exposition des bactéries aux concentrations croissantes de l'EM. Les CMI correspondent à l'absence de croissance visuelle des bactéries, alors que les CMB correspondent aux concentrations de l'EM dont l'absence totale de croissance est enregistrée après transfert d'un volume du bouillon, où les CMI sont observées, à un bouillon exempt d'extrait et incubation pour une seconde période. Les résultats des CMI et CMB sont présentés au tableau 4.

Tableau 4. CMI et CMB (mg/ml) de l'EM des feuilles de *L. scariosa* vis-à-vis des souches bactériennes testées.

Bactéries	CMI	CMB
<i>S. aureus</i>	9.37	< 150
<i>E. coli</i>	< 2.34	< 150
<i>P. aeruginosa</i>	< 2.34	75
<i>B. cereus</i>	9.37	> 75

+ : croissance totale

Les résultats montrent que l'EM a une activité antimicrobienne contre l'ensemble des bactéries testées dans le milieu liquide. La CMI est inférieure à 2.34mg/ml pour *E. coli* et *P. aeruginosa*, et de 9.37mg/ml pour *S. aureus* et *B. cereus*. La CMB a été définie inférieure à 75mg/ml pour *B. cereus*, de 75mg/ml pour *P. aeruginosa*, et inférieure à 150mg/ml pour *S. aureus* et *E. coli*. Ces données peuvent être comparées avec les résultats de l'antibiogramme de ces souche ; ce qui n'était pas possible de l'appliquer au laboratoire faute de disponibilité d'antibiotiques au niveau du laboratoire du département.

3.4.2. Activité antifongique

L'activité antifongique de l'EM et l'EAQ des feuilles de *L. scariosa* a été étudiée vis-à-vis 04 champignons par la méthode de puits de diffusion en milieu PDA. Elle a été évaluée par le calcul du diamètre de la colonie du champignon soumis à l'action de l'extrait par rapport son témoin. Les résultats montrent que les extraits avaient un effet de faible à modéré ou important selon le champignon et l'extrait testé (figure 11).

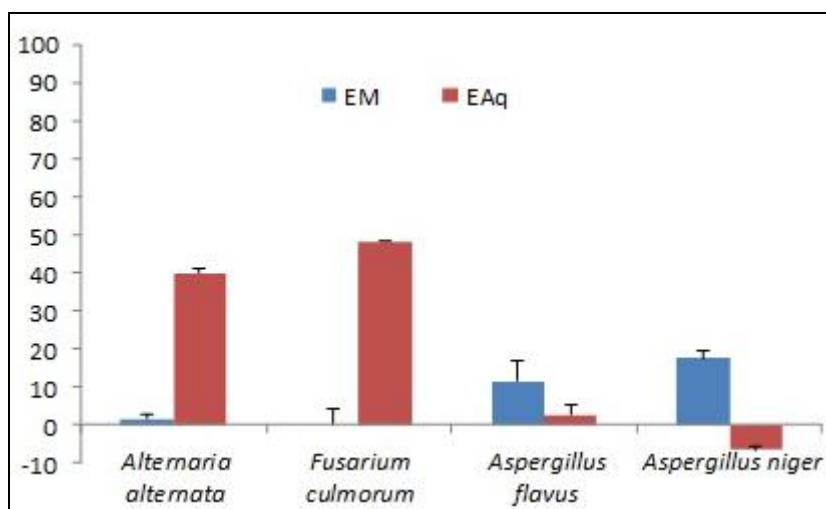


Figure 11. Taux d'inhibition de la croissance mycélienne des moisissures causé par l'EM et l'EAq des feuilles de *L. scariosa*.

L'extrait EM paraît de faible activité antifongique sur les deux espèces d'*Aspergillus* voire inactif sur *Fusarium culmorum* et *Alternaria alternata*. L'extrait EAq paraît d'une activité importante (de 40 à 50% d'inhibition) sur *Fusarium culmorum* et *Alternaria alternata* mais inactif sur *A. flavus* voire stimulant la croissance d'*A. niger*.

Ces résultats restent à consolider par d'autres tests d'activité antifongiques et par d'autres méthodes, car les données d'activité antimicrobienne sur notre plante ne sont pas disponibles selon les recherches que nous avons effectuées ; ce qui fait que nos résultats sont premiers par rapport à l'effet antifongique des feuilles de *L. scariosa*.

CONCLUSION
ET
PRESCRIPTIVES

Conclusion et prescriptives

De nombreuses recherches dans le monde se sont concentrées sur le développement de substances naturelles biologiquement actives afin d'établir des règles scientifiques pour leur utilisation. Dans ce cadre les plantes médicinales en présentent le réservoir, car sont dotées de propriétés thérapeutiques

L'Algérie possède une flore végétale riche et diversifiée et ses plantes, surtout endémiques, lui confère la particularité d'être une source importante de substances bioactive.

Notre étude s'est basée sur les activités antioxydante et antimicrobienne des feuilles d'une plante endémique à l'Algérie et la Tunisie, *Linaria scariosa* (Vent.) Desf. Nos résultats considérés préliminaires montrent que la plante peut être une source de substances bioactives.

Le peu d'information des travaux sur l'activité antimicrobienne de *L. scariosa*, ainsi que le nombre limité de tests que nous avons réalisé, peut ouvrir une brèche pour l'investigation dans d'autres propriétés biologiques de cette plante hors l'activité antimicrobienne.

REERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

1. Abayomi, S. (2010). *Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique*: KARTHALA Editions.
2. Adel, S., & Boudjouref, M. (2020). Contribution à l'étude des activités biologiques de la plante *Artemisia campestris*.
3. Ahmed Chaouch, M. (2019). *Recherche et détermination structurale des métabolites secondaires et évaluation de l'activité biologique d'une espèce de la famille Scrophulariaceae*.
4. Ahmed, E., Arshad, M., Khan, M. Z., Amjad, M. S., Sadaf, H. M., Riaz, I., . . . Ahmad, N. (2017). Secondary metabolites and their multidimensional prospective in plant life. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(2), 205-214.
5. Ajila, C., Brar, S., Verma, M., Tyagi, R., Godbout, S., & Valéro, J. (2011). Extraction and analysis of polyphenols: recent trends. *Critical reviews in biotechnology*, 31(3), 227-249.
6. Akkol, E. K., & Ercil, D. (2009). Antinociceptive and anti-inflammatory activities of some *Linaria* species from Turkey. *Pharmaceutical Biology*, 47(3), 188-194.
7. Amiot, M.-J., Riollet, C., & Landrier, J.-F. (2009). Polyphénols et syndrome métabolique: Polyphenols and metabolic syndrome. *Médecine des maladies métaboliques*, 3(5), 476-482.
8. Atere, T., Akinloye, O., Ugbaja, R., Ojo, D., & Dealtry, G. (2018). In vitro antioxidant capacity and free radical scavenging evaluation of standardized extract of *Costus afer* leaf. *Food Science and Human Wellness*, 7(4), 266-272.
9. Bachiri, L., Echchegadda, G., Ibjibijen, J., & Nassiri, L. (2016). Etude phytochimique et activité antibactérienne de deux espèces de Lavande Autochtones Au Maroc: «*Lavandula stoechas* L. et *Lavandula dentata* L.». *European Scientific Journal*, 12(30), 313-333.
10. Basli, A., Chibane, M., Madani, K., & Oukil, N. (2012). Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie: *Origanum glandulosum* Desf. *Phytothérapie*, 10(1), 2-9.
11. Ben Sassi, A., Harzallah-Skhiri, F., Aouni, M., (2007). Investigation of Some Medicinal Plants from Tunisia for Antimicrobial Activities. *Pharmaceutical Biology*, 45(5) : 421-428. DOI: 10.1080/13880200701215406
12. Benayad, N. (2013). Évaluation de l'activité insecticide et antibactérienne des plantes aromatiques et médicinales marocaines. Extraction de métabolites secondaires des champignons endophytiques isolés de plantes marocaines et activité anticancéreuse.
13. Bohui, G., Adima, A. A., Niamké, F. B., & N'Guessan, J. D. (2018). Etude comparative de trois méthodes d'extraction des flavonoides totaux à partir des feuilles de plantes médicinales: *Azadirachta indica* et *Psidium guajava*. *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*, 46, 50-58.
14. Boubekeur, H. (2019). *Activités biologiques d'Helichrysum stoechas*.
15. Bougandoura, N., & Bendimerad, N. (2013). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. *Nature & Technology*(9), 14.
16. Bourgaud, F., Gravot, A., Milesi, S., & Gontier, E. (2001). Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant science*, 161(5), 839-851.
17. Bouzid, W., Yahia, M., Abdeddaim, M., Aberkane, M., & Ayachi, A. (2011). Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de l'aubépine monogyne. *Lebanese Science Journal*, 12(1), 59-69.

18. Chaachouay, N., Douira, A., Hassikou, R., Brhadda, N., Dahmani, J., Belahbib, N., . . . Zidane, L. (2020). *Mr Chaachouay Noureddine Sous le thème" Etude floristique et ethnomédicinale des plantes aromatiques et médicinales dans le Rif (Nord du Maroc)".* Département de Biologie- Université Ibn Tofail-Kénitra.
19. Chabrier, J.-Y. (2010). *Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie.* UHP- Université Henri Poincaré.
20. Cheriet, T., Mancini, I., Seghiri, R., Benayache, F., & Benayache, S. (2015). Chemical constituents and biological activities of the genus *Linaria* (Scrophulariaceae). *Natural product research*, 29(17), 1589-1613.
21. Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10), 7313-7352.
22. Deacon, J. W. (2013). *Fungal biology:* John Wiley & Sons.
23. Durand, D., Damon, M., & Gobert, M. (2013). Le stress oxydant chez les animaux de rente: principes généraux. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 48(5), 218-224.
24. Gayet, C. (2018). *Guide de poche de phytothérapie:* Éditions Leduc. s.
25. Ghedadba, N., Bousselsela, H., Hambaba, L., Benbia, S., & Mouloud, Y. (2014). Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des feuilles et des sommités fleuries de *Marrubiumvulgare L.* *Phytothérapie*, 12(1), 15-24.
26. Ghedira, K. (2005). Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 3(4), 162-169.
27. Goudable, J., & Favier, A. (1997). Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition clinique et métabolisme*, 11(2), 115-120.
28. Harrar, A. (2018). *Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de Rhamnus alaternus L.*
29. Kada, S. (2018). *Recherche d'extraits de plantes médicinales doués d'activités biologiques.*
30. Khan, M. K., & Dangles, O. (2014). A comprehensive review on flavanones, the major citrus polyphenols. *Journal of Food Composition and Analysis*, 33(1), 85-104.
31. Krief, S. (2003). *Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (Pan troglodytes schweinfurthii) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées.* Museum national d'histoire naturelle-MNHN PARIS.
32. Leverve, X. (2009). Stress oxydant et antioxydants? *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 44(5), 219-224.
33. Macheix, J.-J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005). *Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique:* PPUR presses polytechniques.
34. Meena, P., Jain, T., & Sharma, K. (2021). Antifungal Activity of Leaf Extracts of *Polyalthia longifolia* (Sonn.) Benth. and Hook. F. against *Rhizoctonia solani*. *Plant Arch.*, 21, 1366-1371.
35. Mouffouk, C., Mouffouk, S., Oulmi, K., Mouffouk, S., & Haba, H. (2020). In vitro photoprotective, hemostatic, anti-inflammatory and antioxidant activities of the species *Linaria scariosa* Desf. *South African Journal of Botany*, 130, 383-388.
36. Sokmen, A., Gulluce, M., Akpulat, A.-H., Daferera, D., Tepe, B., Polissiou, M., Sokmen, 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 : 627–634. DOI : 10.1016/j.foodcont.2003.10.005

37. Sultana, B., Anwar, F., & Ashraf, M. (2009). Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. *Molecules*, 14(6), 2167-2180.
38. Vrchovská, V., Spilková, J., Valentão, P., Sousa, C., Andrade, P., & Seabra, R. (2008). Assessing the antioxidative properties and chemical composition of *Linaria vulgaris* infusion. *Natural product research*, 22(9), 735-746.

ANNEXES

Annexe I

Matériels et produit chimiques

Appareillage	Petits matériel et Verrerie	Solutions et réactifs
- Clevenger	- Anse de platine	- 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl(DPPH)
- Agitateur	- Tubes à essai	- Réactif de folin-ciocalteu (FCR)
- Autoclave	- Béchers	- Carbonate de sodium (Na_2CO_3)
- Bain marie	- Boîtes en verre	- Trichlorure d'aluminium (AlCl_3)
- Balance de précision	- Boîtes de pétri stériles de 90mm de diamètre	- Méthanol
- Bec Bunsen	- Ecouvillons stériles	- Diméthylsulfoxyde (DMSO)
- Etuve	- Eprovettes	- Chlorure ferrique(FeCl_3)
- Incubateur bactériologique (25°C,37°C)	- Erlenmeyer	- Acide chlorhydrique(HCl)
- Réfrigérateur	- Fioles	- Acide sulfurique (H_2SO_4)
- Spectrophotomètre UV	- Flacon avec bouchon	- PDA
- Vortex		- Muller Hinton
		- Eau distillée
		- Eau physiologique
		Standards utilisés
		- BHT
		- Acide gallique
		- Quercétine

Annexe II

Préparation des milieux de culture et solutions

▪ Bouillon nutritif (BN)(g/l)

Peptone	10 g
Extrait de viande	5 g
Chlorure de sodium	5 g
Eau distillée	1000ml
pH	7.3

▪ Gélose nutritive (GN) (g/l)

Peptone	10 g
Extrait de viande	3 g
Extrait de levure	3 g
Chlorure de sodium	5 g
Agar	18 g
Eau distillée	1000ml
pH	7.3

▪ Potato Dextrose Agar (PDA)(g/l)

Filtrat de pomme de terre	200g
Glucose	20 g
Agar	20 g
Eau distillée	1000ml
pH	5.6

▪ Eau physiologique

Eau distillée	1000ml
NaCl	09 g

جنس *Linaria* هو نبات من عائلة *Scrophulariaceae* يشتهر هذا النبات بغناه بالمركبات الطبيعية ومن ثم استخدامه في الطب التقليدي *Linariascariosa*. هو نوع من الأنواع الصحراوية المتوطنة في الجزائر وتونس. كان الهدف من هذا العمل هو تقييم القوة المضادة للأوكسدة والمضادة للميكروبات للمستخلصات الميثانولية والمائية لأوراق هذا النبات. تم تقييم محتويات المركبات الفينولية وهي البوليفينول والفلافونويد الكلي وكانت المستويات معتدلة. تم إجراء النشاط المضاد للأوكسدة بواسطة اختبار DPPH و تم تقدير IC_{50} بـ 382.15 ± 46.22 ميكروغرام / مل و 260 ± 17.04 ميكروغرام / مل لـ ME و AqE على التوالي. تم تقييم النشاط المضاد للميكروبات على أربع سلالات بكتيرية (جرام + و جرام-) وأربع فطريات بتطبيق طريقة الانتشار عن طريق الآبار: أظهر مستخلص ME فقط تأثيرا مثبطا على سلالتين من البكتيريا. لم يكن لـ AqE أي نشاط مضاد للجراثيم ولكن كان له تأثير معنوي على 2 فطريات. كان لمستخلص ME تأثير مضاد ضعيف على للفطريات.

كلمات المفتاحية: *Linaria scariosa* ، مركبات فينولية ، نشاط مضاد للأوكسدة ، نشاط مضاد للميكروبات.

Résumé

Le genre *Linaria* est une plante de la famille *Scrophulariaceae*. Cette plante est connue par sa richesse en composés naturels d'où son utilisation en médecine traditionnelle. *Linariascariosa* est une espèce saharienne endémique pour l'Algérie et la Tunisie. L'objectif de ce travail est d'évaluer le pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits méthanolique et aqueux des feuilles de cette plante. Les teneurs en composés phénoliques à savoir, les polyphénols les flavonoïdes totaux ont été évaluées et les taux étaient modérés. L'activité antioxydante a été réalisée par le test du DPPH et les IC_{50} sont estimées de 382.15 ± 46.22 µg/ml et 260 ± 17.04 µg/ml pour l'EM et EAq respectivement. L'activité antimicrobienne a été évaluée sur quatre souches bactériennes (Gram+ et Gram-) et quatre champignons selon la méthode de puits de diffusion : seul l'extrait EM qui a présenté un effet inhibiteur sur 2 souches bactériennes. L'EAq n'avait aucune activité antibactérienne, mais avait un effet important sur 2 champignons. L'extrait EM avait un effet antifongique faible.

Mots clés : *Linaria scariosa*, composés phénoliques, activité antioxydante, activité antimicrobienne.

Abstract

The genus *Linaria* is a plant of the *Scrophulariaceae* family. This plant is known for its richness in natural compounds, hence its use in traditional medicine. *Linaria scariosa* is a Saharan species endemic to Algeria and Tunisia. The objective of this work was to evaluate the antioxidant and antimicrobial power of the methanolic and aqueous extracts of the leaves of this plant. The contents of phenolic compounds, namely polyphenols and total flavonoids, were evaluated and the levels were moderate. The antioxidant activity was carried out by the DPPH test and the IC_{50} s were estimated at 382.15 ± 46.22 µg/ml and 260 ± 17.04 µg/ml for ME and AqE respectively. The antimicrobial activity was evaluated on four bacterial strains (Gram+ and Gram-) and four fungi based on the agar well diffusion method: only the ME extract showed an inhibitory effect on 2 bacterial strains. AqE had no antibacterial activity, but had a significant effect on 2 fungi. The ME extract had a weak antifungal effect.

Keywords: *Linaria scariosa*, phenolic compounds, antioxidant activity, antimicrobial activity.