

**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 SCIENCES DE  
LA NATURE ET DE LA VIE  
N° : .....



DOMAINE : SCIENCES DE LA NATURE ET  
DE LA VIE  
FILIERE : SCIENCES BIOLOGIQUES  
OPTION : BIODIVERSITE VEGETALE

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

**Par:**

MESSEHEL Madiha  
MESSEHEL Bariza  
FERAHTIA Batoul

**Intitulé**

**Valorisation phytochimiques et activité  
biologique d'une *Euphorbiaceae* du Sahara  
Algérienne**

**Soutenu devant le jury composé de:**

Dr BEDIF Hamdi	Université Mohamed Boudiaf - M'sila	President
Dr ADOUI Nabila	Université Mohamed Boudiaf - M'sila	Rapporteur
Mme KHALFA Hanane	Université Mohamed Boudiaf - M'sila	Examineur

**Année universitaire : 2022/ 2023**



# *Remerciements*

✚ Tout d'abord nous remercions Dieu, lui qui nous a permis d'être bien  
Portant afin d'effectuer ce travail du début jusqu'à la fin.

✚ Nous remercions nos parents respectifs pour leurs soutiens durant notre  
Parcours de formation.

✚ Nos remerciements vont aussi au membre du jury, pour l'honneur qu'ils  
Nous ont fait en acceptant d'évaluer ce travail.

✚ Nos remerciements vont aussi, à notre directrice de mémoire, **Dre ADOUI Nabila**, elle qui  
nous a guidés avec ses orientations,

Ses conseils et ses critiques tout au long de ce travail

De recherche en nous laissant la liberté dont on avait besoins. On ne peut que lui être

Reconnaissant surtout pour ses qualités intellectuelles et humaines.

✚ Et enfin, nous sommes reconnaissants envers tous les enseignants de  
Pôle universitaire de M'sila pour leur contribution à notre formation, et  
Également à nos camarades, amis pour leurs aides précieuses.

# Dédicace

*Avant tout, nous tenons à remercier Allah tout puissant de nous avoir accordé la force,  
Le courage et les moyens pour accomplir ce travail.*

*Au terme de ce travail, je tiens à exprimer ma gratitude aux personnes*

*Qui m'ont soutenues durant la réalisation de ce*

*Mémoire :*

*Mes très chers parents :*

*Mon père, tu mérites toute ma gratitude, car c'est grâce à toi que j'ai*

*Atteint mon but.*

*Ma très chère maman, je te remercie pour ton soutien moral, tes encouragements et tes conseils qui  
m'ont guidés durant mon parcours.*

*A mes sœurs, A mes frères.*

*A toutes mes chères amies : ma sœur Bariza, Naima, Ikram je vous aime en Dieu et à tous mes enseignants*

*Et à tous ceux qui m'ont aidé dans ce travail de près au de loin.*

***Madiha MESSEHEL***

# Dédicace

*Grâce à Dieu tout puissant, Je dédie ce travail tout d'abord à ma chère  
Mère **Horia**. Merci de m'avoir soutenue tant moralement que matériellement pour que*

*Je*

*Puisse atteindre mon but, grâce à vos prières pour moi.*

*A mon cher père **Tayeb** qui a toujours souhaité ma réussite et qui m'a*

*Permis d'atteindre mes objectifs dans mes études et de ma vie.*

*A mes chers frères et mes chères sœurs.*

*A mon fiancé qui m'a beaucoup encouragée tout long de*

*Ce travail malgré tous les obstacles.*

*Merci de m'avoir montré beaucoup de patience durant les moments les plus*

*Stressants.*

*A mes meilleures amies **Naima** et **Bassma** qui m'ont toujours ouvertes les portes de l'espoir.*

*Surtout ma binôme ma sœur au même temps **Madaha***

*Qui a souffert beaucoup plus*

*A toute ma famille. A mes ami(e)s de la promotion de master biotechnologie végétale.*

*A tous ceux qui ont pris place dans*

*Mon cœur*

*Et à tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin*

**Bariza MESSEHEL**

# Dédicace

*A mes plus grandes sources d'inspiration, je dédie*

*Ce travail avec tout amour et gratitude :*

*A mon premier modèle, à celui qui m'a donné et continue de me donner sans limites, à celui qui m'a élevé la tête fièrement de lui (mon cher père, que Dieu me le soutienne)*

*A celle dont le cœur m'a vu devant ses yeux, à l'ombre que j'abrite A lui en tout temps*

*(Ma mère, que Dieu la protège).*

*A la source de sécurité où je puise ma force quand la fatigue me succède,*

*Et à mon bonheur, à mon compagnon et*

*À mon battement de cœur*

*(Mon mari Mohammad, que Dieu le soutienne et le protège pour moi).*

*Aux bougies qui illuminent le chemin pour moi (mes frères et sœurs) et à ceux qui m'ont encouragé sur le chemin et m'ont soutenue, en particulier ma sœur Abba.*

*Et aux amies du chemin et du voyage : Naima, Bassma, Bariza, Madiha (que Dieu les protège)*

*Et ma dernière prière est que louange soit à Dieu, Seigneur des Mondes.*

***FERAHTIA Batoul***

# Table des matières

Remerciement	
Dédicace	
Table des matières	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Abréviations	
Introduction .....	1
<b>Chapitre I : Synthèse bibliographique</b>	
1. Généralité sur les plantes médicinales .....	3
1.1. Phytothérapie et utilisation des plantes médicinales .....	4
1.2. Substance bioactive .....	4
1.2.1. Classification des métabolites secondaires .....	5
1.3. Différentes méthodes extraction des substances naturelles .....	13
1.3.1. Extraction par Soxhlet .....	13
1.4. Méthodes d'analyse des extraits de plantes .....	14
1.4.1. Chromatographie en phase gazeuse .....	14
1.4.2. Chromatographie sur couche mince .....	14
1.4.3. Autre méthodes d'analyse .....	15
1.5. Activité antimicrobienne .....	16
1.6. Activité anti moisissure .....	17
1.7. Activité insecticides .....	17
2. Présentations de l'espèce étudiée .....	18
2.1. Généralité sur les familles <i>Euphorbiacées</i> .....	18
2.2. Le genre <i>Euphorbia</i> .....	18
2.3. Espèce <i>Euphorbia bupleuroides</i> .....	18
2.4. Habitat et distribution géographique .....	19

2.5.Classification systématique.....	19
2.6.Description botanique.....	20
2.7.Travaux antérieurs et l'usage thérapeutique.....	20
3.Présentation des insectes utilisés .....	20

## **Chapitre II : Matériels végétales**

1. Matériels.....	23
1.1.Matériels végétale.....	23
1.1.1.Préparation des échantillons .....	23
1.2.Matériel animal.....	24
2. Méthode expérimentales .....	24
2.1.Criblage phytochimiques.....	24
2.2.Les tests du criblage phytochimiques.....	24
2.3.L'extraction .....	25
2.4.Préparation des extraits par Soxhlet .....	27
3.Détermination du rendement d'extractions .....	28
4.Analyses chromatographie par CCM .....	28
5.Evaluation de l'activité Anti-moisissures.....	29
5.1.Principe de l'activité Anti-moisissures.....	29
5.2.Test du sauce tomate .....	29
6.Evaluation de la cytotoxicité de l'extrait.....	30
6.1.Répulsive des extraits .....	30
3.1.1.Evaluation de la toxicité des extraits par effet contact .....	30
3.1.2.Evaluation de la toxicité des extraits par effet inhalation.....	32
4.Activités antibactériennes des extraits de la plante .....	34
4.1.Préparation des milieux de culture .....	34
4.1.1.Milieu de Mueller Hinton (MH).....	34
4.1.2.Activation de la souche bactérienne .....	34
4.1.3.Méthode de diffusion sur milieu gélosé .....	34

4.2.Evaluation de l'activité antibactérienne .....	35
--	----

### **Chapitre III: Résultats et discussions**

Chapitre III : Résultats et discussions .....	37
1.Criblage « screening » phytochimiques par réactions colorées.....	37
1.1.Recherche des alcaloïdes.....	37
1.2.Recherche des flavonoïdes .....	37
1.3.Recherche des saponosides.....	38
1.4.Recherches des composés phénoliques .....	38
1.5.Recherche des glucides.....	39
1.6.Recherche des sucres réducteurs .....	39
2.Rendements des extractions .....	40
3.La bio-autographie.....	41
4.Activité anti-moisissures .....	44
5.Evaluation de la cytotoxicité .....	45
5.1.Evaluation de la récursivité des extraits .....	45
5.2.Evaluation de la toxicité des extraites par effet inhalation :.....	47
6.Evaluation de l'activité antibactérienne des extrais de la plante .....	48
Conclusion.....	52
Références bibliographiques .....	54

Annexe

Résumé

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : propriétés des polyphénols (Massaux, 2012).....	7
<b>Figure 2</b> : Structure chimique des tanins.....	9
<b>Figure 3</b> : structure des 11 principales classes des squelettes de saponines et leurs dérivés...	11
<b>Figure 4</b> : Structure des flavonoïdes.....	13
<b>Figure 5</b> : <i>Euphorbia bupleuroides</i> . (1-Port ; 2-Feuille ; 3-Fruit), Aflou, Photos K.Rebbas...	19
<b>Figure 6</b> : Les adultes de <i>Tribolium Castaneum</i> .....	21
<b>Figure 7</b> : Matières végétales séchées (A: les feuilles, B: Les tiges). ....	23
<b>Figure 8</b> :Image indique la méthode de macération de la matière végétale (photo original) ..	26
<b>Figure 9</b> : Protocole préparation des extraits.....	26
<b>Figure 10</b> : Matière végétale en poudre (à la gauche les feuilles, à la droite les tiges). ....	27
<b>Figure 11</b> : Montage de type Soxhlet .....	27
<b>Figure 12</b> :l'activité de répulsivité des extraits .....	31
<b>Figure 13</b> : le comptage des insectes sur chaque disque réalisé après 2h (photo original) .....	31
<b>Figure 14</b> : les réactions des alcaloïdes dans les tubes .....	37
<b>Figure 15</b> : Caractéristique des saponosides dans les tubes. ....	38
<b>Figure 16</b> : Caractéristique des sucres réducteurs dans les tubes. ....	39
<b>Figure 17</b> : Révélation de plaque CCM de gel de silice de extrait éthanolique de feuilles et..	42
<b>Figure 18</b> : Révélation de plaque CCM de gel de silice de extrait éthylique de feuilles et tiges de <i>Euphorbia bupleuroides subsp</i> .....	43
<b>Figure 19</b> :Image de la plaque de l'activité anti-moisissures .....	44
<b>Figure 20</b> : pourcentage (%) de répulsion sur papier filtre des extraits éthyliques d' <i>Euphorbia bupleuroides subsp</i> vis-à-vis des adultes de <i>Tribolium Castaneum</i> . ....	45
<b>Figure 21</b> : pourcentage (%) de répulsion sur papier filtre des extraits éthanolique d' <i>Euphorbia bupleuroides subsp</i> vis-à-vis des adultes de <i>Tribolium castaneum</i> .....	46
<b>Figure 22</b> : les inhibitions des souches bactéries après 24h dans l'incubateur.....	50

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1 :</b> Systèmes antioxydatifs chez les végétaux, d'après.... <b>Erreur ! Signet non défini.</b>	
<b>Tableau 2 :</b> tableau représente les souches bactériennes utilisées.....	35
<b>Tableau 3 :</b> Mode de remplissage de la plaque pour l'activité Anti-moisissures.....	30
<b>Tableau 4 :</b> Résultats de recherche des alcaloïdes .....	37
<b>Tableau 5 :</b> Résultats de recherche des flavonoïdes.....	38
<b>Tableau 6 :</b> Résultats de recherche des saponosides. ....	38
<b>Tableau 7:</b> Résultats de recherche des saponosides. ....	39
<b>Tableau 8 :</b> Résultats de recherche des glucides .....	39
<b>Tableau 9 :</b> Résultats de recherche des sucres réducteurs.....	39
<b>Tableau 10:</b> Résultats des réactions de caractérisation des différents chimiques recherchés dans les différents extraits de <i>Euphorbia bupleuroids subsp.</i> ....	40
<b>Tableau 11 :</b> Aspects et rendements massique (%) des extraits obtenus .....	41
<b>Tableau 12 :</b> Le taux d'infection des échantillons de la tomate traité par extraits de plante <i>Euphorbia bupleuroids</i> et éthanol ,éther,cuivre . ....	44
<b>Tableau 13 :</b> Classement de extrait éthélique de <i>Euphorbia bupleuroids</i> subs selon leur propriété de répulsion sur les adultes de <i>Tribolium castaneum</i> .....	45
<b>Tableau 14 :</b> Classement de extrait éthanolique de <i>Euphorbia bupleuroids</i> sups selon leur propriété de répulsion sur les adultes de <i>Tribolium castaneum</i> .....	46
<b>Tableau 15 :</b> les inhibitions des souches bacteriès des extraits éthanoliques.....	49

## **Abréviation**

ADN	Acide désoxyribose nucléique.
AMM	Autorisation de mise sur le marché.
CCM	La chromatographie sur couche mince.
CP	Composés phénoliques.
Ef	Ethanol - feuille.
EFEr	Euphorbia feuilles-éther.
EFEt	Euphorbia feuilles-éthanol.
EOA	espèces oxygénées activées.
Et	Ethanol- tige.
ETEr	Euphorbia tiges-éther.
ETEt	Euphorbia tiges-éthanol.
FID	Ionisation de flamme.
GC	Gaz chromatographie
HA	Phase aqueuse.
HE	Huile essentielle.
HPLC	Chromatographie liquide.
MH	Muller Hinton.
MS	masse spectrométrie.
MS	Spectromètre de masse.
OMS	Organisation mondiale de la santé.
PM	Plantes médicinales.
ROS	Espèces réactions de l'oxygène.
SOD	Superoxydes dimutases.
UV	Ultra-violet.



# Introduction

## **Introduction**

Au cours des décennies passées, l'intérêt public pour les thérapies naturelles a considérablement augmenté dans les pays industrialisés. L'importation annuelle rapportée à l'échelle mondiale des plantes pharmaceutiques constitue une moyenne de 400.000 tonnes d'une valeur de 1,224 millions de dollars. Le commerce international est dominé par seulement quelques pays. L'utilisation de ces plantes comme médicaments est une tradition de longue date. Elle remonte pratiquement au commencement de l'humain (El houad et *al.*, 2018). Dans le monde, les plantes ont toujours été utilisées comme médicaments. Les médicaments à base de plantes sont considérés comme peu toxiques et doux par rapport aux médicaments pharmaceutiques (Dibong et *al.*, 2011).

En Algérie, les plantes médicinales forment un groupe relativement important mais avec un nombre modeste d'espèces étudiées pour une ou plusieurs activités biologiques ou d'un point de vue phytochimiques. Parmi les nombreuses plantes médicinales encore non étudiées qui peuplent la riche flore algérienne, réservoir inestimable de molécules bioactives, nous avons sélectionné une espèce végétale du Genre *Euphorbia bupleuroides subsp.* Appartenant à la famille de *Euphorbiaceae* pour une étude phytochimiques et biologique.

Pour la réalisation de cette étude nous avons divisés le travail en trois chapitres :

- Le premier chapitre est consacré à une synthèse bibliographie sur la phytothérapie, l'espèce étudiée et les insectes utilisés dans notre étude.
- Le deuxième chapitre est consacré aux différentes tests et techniques pour évaluer l'activité antibactérienne, anti insecticide, antimoisissure et aussi le criblage phytochimiques.
- Le troisième chapitre est consacré à la présentation et la discussion des résultats obtenus.

# Chapitre I

Généralités sur les plantes  
médicinales

## **Chapitre I : Synthèse bibliographique**

### **1. Généralité sur les plantes médicinales**

Les plantes médicinales (PM) sont utilisées depuis toujours comme une source pour le traitement de maladies et l'amélioration de la santé humaine (Azmir et *al.*, 2013). L'organisation mondiale de la santé (OMS) a estimé que 80 % des habitants de la planète s'appuient principalement sur les médicaments traditionnels pour leurs soins de santé primaires et que la majorité implique l'utilisation d'extraits de plantes (Farnsworth et *al.*, 1985).

PM font partie de notre quotidien. On les retrouve dans nos aliments, les produits pharmaceutiques, les cosmétiques, les parfums, les colorants... Dans les aliments, ils sont couramment utilisés pour leur goût, leur couleur et leur saveur, notamment des propriétés antioxydants, antimicrobiennes, médicinales et nutritionnelles (Peter et *al.*, 2012).

Une plante médicinale est une plante utilisée pour ses propriétés thérapeutiques. Cela signifie qu'au moins une de ses parties peut être employée dans le but de se soigner.

Leur efficacité relève de leurs composés, très nombreux et très variés en fonction des espèces, et qui présentent des effets thérapeutiques différents. Exemples: l'absinthe (troubles de la digestion); le lin (constipation). Selon l'OMS, plus de 20000 plantes utilisées dans le monde pour ses propriétés médicinales, seulement 2000 à 3000 plantes ont été étudiées au niveau scientifique. On appelle plante médicinale toute plante qui renferme un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies (Aili et *al.*, 1999, cités par Boughara, 2016) ; et parfois toxique selon son dosage. Les plantes médicinales représentent une source considérable et permanente pour l'extraction de principe actif.

Les plantes médicinales sont des drogues végétales au sens de la Pharmacopée européenne dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Il est peu fréquent que la plante soit utilisée entière, le plus souvent, il s'agit d'une ou de plusieurs parties qui peuvent avoir chacune des utilisations différentes (Vercauteren, 2012).

Les plantes médicinales représentent autant de gisements non encore explorés de molécules biologiques, qui peuvent être à l'origine « d'écoproduits » pour les quelque cinq mille espèces de végétaux vasculaires de la Guyane et ouvrir de nouveaux marchés qui contribueront par leur valorisation au développement économique au même titre que d'autres produits forestiers. Considérant que les raisons économiques sont plus fortes que les convictions idéologiques, les écologistes, en particulier anglo-saxons, ont développé ces dernières années une argumentation économique se voulant plus percutante que celle avancée jusqu'alors. Les travaux d'évaluation économique de la diversité biologique se sont multipliés dès le début des

années 1990 (Principe 1991 ; Levêque&Glachant 1992), tendant à démontrer que les efforts financiers nécessaires à la préservation de la diversité biologique se justifient non seulement pour des raisons éthiques mais aussi économiques. L'argumentation porte en particulier sur la valeur monétaire potentielle que l'on peut attribuer aux substances thérapeutiques qui restent à découvrir dans les régions tropicales à forte diversité biologique.

La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde entier possèdent des vertus thérapeutiques, car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme.

On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie: elles présentent en effet des avantages dont les médicaments sont généralement démunis (Chevallier, 2001).

### **1.1. Phytothérapie et utilisation des plantes médicinales**

Le terme «phytothérapie» est dérivé de deux racines grecques, « photon » et «thérapie», signifiant respectivement «plante» et "traitement".

La phytothérapie est une discipline allopathique qui utilise des plantes, des parties de plantes ou des préparations à base de plantes (Wichtl et Anton, 2003), qu'elles soient ingérées ou utilisées en application externe, pour prévenir et traiter certains troubles fonctionnels et/ou pathologiques. Depuis 1987, la phytothérapie est reconnue comme une discipline à part entière par l'Académie de médecine (Institut Européen des Substances Végétales, 2008). Il ne faut pas confondre cette pratique avec la phytopharmacie, qui désigne l'utilisation de substances pour traiter les plantes, telles que les pesticides, les fongicides, les herbicides et les insecticides.

On distingue deux types de phytothérapies, le premier est la phytothérapie traditionnelle qui utilise des plantes pour traiter les symptômes d'une affection en se basant sur l'expérience empirique. Elle est recommandée pour les pathologies saisonnières, les troubles psychosomatiques, digestifs ou dermatologiques. La seconde est la phytothérapie clinique qui est une approche globale du patient, où le traitement est déterminé en fonction de l'examen clinique et de l'environnement du patient (Prescrire, 2007 ; Moreau, 2003)

### **1.2. Substance bioactive**

Substance bioactive est une molécule ayant une utilité thérapeutique préventive ou curative pour l'homme ou l'animal. Cette molécule est contenue dans une drogue végétale ou une préparation à base de cette dernière. La drogue végétale est considérée comme un principe actif dans son ensemble, quels que soient les composants qui ont un effet thérapeutique, qu'ils soient connus ou non (Pelt, 1980).

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées par les plantes autotrophes. Ces métabolites sont généralement caractérisés par leurs

faibles concentrations dans les tissus végétaux (généralement quelques pourcents du carbone total) (Newman et Cragg, 2012). Ces derniers n'exercent donc pas de fonction directe au niveau des activités fondamentales de la plante. Leur absence n'entraîne pas une mort immédiate mais peut cependant limiter la survie, la fécondité ou l'apparence d'un organisme (Guignard, 1996).

Les métabolites secondaires sont biosynthétisés à partir de métabolites primaires et jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement, contribuant ainsi à la survie de l'organisme dans son écosystème. Ils ont essentiellement pour rôle d'accroître la compétitivité de l'organisme qui les biosynthétisés en lui conférant un avantage sur d'autres organismes (Coffiet *al.*, 2012).

### **1.2.1. Classification des métabolites secondaires**

Les métabolites secondaires dépassant actuellement 100 000 substances identifiées, ils appartiennent à trois grandes familles :

- Les composés aromatiques ou polyphénols (acides phénoliques, flavonoïdes, anthocyanidines, tanins) et les quinones.
- Les trapézoïdes et leurs dérivés.
- Les alcaloïdes.

Les composés phénolique peuvent être regroupés en de nombreuses classes qui se différencient d'abord, par la complexité du squelette de base ensuite, par les degrés de modification de ce squelette (degrés d'oxydation, d'hydratation, de méthylation...) et enfin, par les liaisons possibles de ces molécules de base avec d'autres molécules : glucides, lipides, protéines, autres métabolites secondaires pouvant être ou non des CP (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

#### ➤ **Polyphénols**

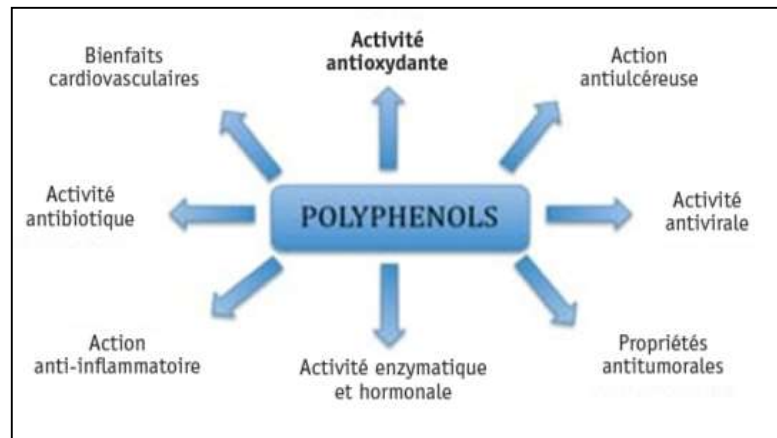
Les composés phénoliques naturels proviennent essentiellement de la lignine des végétaux supérieurs (Martin & Haider, 1971). Les lignines de Gymnospermes et d'Angiospermes peuvent, du fait de leurs différences de composition, être distinguées par l'étude de leurs produits d'oxydation (Hedges & Dale, 1979).

Les phénols peuvent avoir une origine anthropique. Les sources anthropiques principales des phénols dans les milieux aquatiques sont généralement les industries pétrolières et les raffineries, les industries pharmaceutiques, les fonderies et les poudreries (Boyd & Carlucci, 1993). La nature et la distribution des composés phénoliques obtenus dans chaque échantillon dépendent donc de l'origine de la phase particulière, des phénomènes physico-chimiques et biologiques subis par celle-ci ainsi que de son degré de dégradation (Motamed & Texier, 1999). Les polyphénols sont synthétisés par les plantes et constituent un groupe

important de substances naturelles présentes dans le règne végétal. A ce jour, les scientifiques en ont identifié plus de 8000, allant de molécules simples à des composés hautement complexes. Ils sont regroupés en différentes classes aux noms sibyllins d'acides cinnamiques, d'acides benzoïques, de flavonoïdes, de lignines et de lignines, de coumarines, de stilbènes, de tanins. Les polyphénols sont naturellement présents dans notre alimentation sous différentes formes telles que les vitamines A, C ou E, les carotènes et certains minéraux comme le sélénium et le zinc. On les retrouve en plus grandes quantités dans les fruits, les légumes et les céréales, ainsi que dans des boissons telles que le thé, le café et le vin. Parmi les nombreuses propriétés bénéfiques présentées par les polyphénols (décrites en figure 1), On retrouve l'activité antioxydante. L'activité ou potentiel antioxydant d'une molécule est sa capacité à diminuer ou empêcher l'oxydation d'autres substances chimiques. Ces réactions d'oxydation peuvent produire des radicaux libres qui, s'ils se trouvent en excès dans notre organisme, peuvent dégrader nos cellules et entraîner des réactions en chaîne destructrices susceptibles de provoquer différentes maladies. Les antioxydants sont des molécules capables d'interagir sans danger avec les radicaux libres et de mettre fin à la réaction en chaîne avant que les cellules ne soient endommagées (Massaux, 2012).

La solubilité des composés phénoliques dépend de leur nature chimique dans la plante, qui varie de composés simples à fortement polymérisés. Les matières végétales peuvent contenir des quantités variables d'acides phénoliques, phénylpropanoïdes, anthocyanines, et tanins. Cette diversité structurale est responsable de la grande variabilité des propriétés physico-chimiques influençant l'extraction des polyphénols. Entre autre, la solubilité des composés phénoliques est affectée par la polarité du solvant utilisé. Par conséquent, il est très difficile de développer un procédé d'extraction approprié à l'extraction de tous les composés phénoliques de la plante (Mahmoudi, Khali, & Mamoudi, 2013). Les polyphénols constituent une grande classe chimique. Ces métabolites secondaires des végétaux disposent d'une extrême variété de structures et d'activités biologiques. Actuellement, les études portant sur les polyphénols connaissent un grand essor. Une grande partie d'entre elles a été réalisée afin d'informer et de sensibiliser les consommateurs et les pouvoirs publics sur l'intérêt des fruits et légumes riches en polyphénols, antioxydants naturels aux forts potentiels antioxydants et cytoprotecteurs. A titre d'exemple, plusieurs enquêtes épidémiologiques ont montré les effets bénéfiques de la consommation des fruits et des légumes ayant une forte concentration en composés phénoliques dans la prévention des maladies liées au stress oxydant telles que les maladies cardiovasculaires, les maladies cérébraux vasculaires, les maladies métaboliques et le cancer un des effets

protecteurs des antioxydants alimentaires contre les maladies liées au stress oxydant es dû à leur contribution dans le maintiend'homéostasie redox des cellules (Bouayed et *al* .,2008).



**Figure 1** : propriétés des polyphénols (Massaux, 2012)

➤ **Terpènes et huiles essentielles**

Les terpènes sont des hydrocarbures formés par la combinaison de plusieurs unités isoprène ( $C_5H_8$ ). Ils sont synthétisés au sein du cytoplasme de la cellule végétale ; leur synthèse se fait dans la voie de l'acide mévalonique à partir de l'acétyl CoA. Les terpènes contiennent un squelette hydrocarboné qui peut être réarrangé en une structure cyclique par les cyclases. Les terpènes les plus courants sont les monoterpènes ( $C_{10}H_{16}$ ) et les sesquiterpènes ( $C_{15}H_{24}$ ), mais des chaînes plus longues, comme les diterpènes ( $C_{20}H_{32}$ ), les triterpènes ( $C_{30}H_{48}$ ), etc. Sont également présentes dans la cellule végétale. Parmi les terpènes, le p-caryophyllène, le limonène, le terpinène, le sabinène et le pinène sont les plus connus. La plupart des terpènes ne possèdent pas une activité antimicrobienne inhérente élevée. Le p-caryophyllène, l'un des composants les plus importants de l'HE de thym, ne présente pas d'activité antimicrobienne contre de nombreux pathogènes à Gram négatif. D'autres terpènes, tels que le limonène, l' $\alpha$ -pinène, le B-pinène, l' $\gamma$ -terpinène 8-2-carène, le (+) sabinène et l' $\alpha$ -terpinène ont montré une activité antimicrobienne très faible ou nulle contre 25 genres de bactéries. Ces tests *in vitro* indiquent que les terpènes présentent une activité antimicrobienne inefficace lorsqu'ils sont utilisés comme composés singuliers (Nazzaro, *et al.*, 2013).

Origine de l'huile essentielle de térébenthine désigne le composé terpénique huileux issu de l'hydro distillation de la gomme de pin. Il est également appelé composé terpénique, terpènes de pin, oléorésine de pin, térébenthine de Bordeaux... Du fait de son odeur agréable, cette HE est largement utilisée dans l'industrie pharmaceutique, celle des parfums, des additifs alimentaires... Elle aromatiser de nombreux produits chimiques d'usage courant (produits

ménagers et longtemps considérés comme métabolites secondaires, les constituants volatils ont un rôle encore mal défini dans la plante. Nous nous contenterons d'énumérer ici quelques hypothèses. Indépendamment des théories avancées, il semble que les compositions très variées des huiles essentielles autorisent des messages complexes et sélectifs si bien que chercher un rôle propre à chaque constituant paraît illusoire.

D'après Verschaffelt, 1910, les essences constituent un moyen de défense contre les prédateurs en modulant les comportements trophiques de ceux-ci vis à vis des plantes. Les constituants des huiles essentielles sont considérés par LUTZ comme des modérateurs des réactions d'oxydation intramoléculaire protégeant la plante contre les agents atmosphériques. Selon lui, certains de ces composés se comportent aussi comme source d'énergie à la suite d'une baisse de l'assimilation chlorophyllienne (Lutz, 1940). Bouquet considère que certains de ces produits seraient des composés intermédiaires du métabolisme et qu'ils se trouveraient à l'état libre durant certaines périodes en relation avec l'activité végétale de la plante (Bouquet, 1972).

Les travaux de NICHOLAS ont montré que les mono et sesquiterpènes peuvent jouer des rôles aussi importants dans la relation des plantes avec leur environnement. C'est le cas du 1,8-cinéole et du camphre qui inhibent la germination des organes infectés ou la croissance des agents pathogènes issus de ces organes (Nicholas, 1973). ERMAN dégage lui, le rôle incontestable des huiles essentielles dans la pollinisation et la dispersion des diaspores grâce à leur pouvoir attracteur sur les insectes pollinisateurs, relation d'une grande importance écologique et physiologique (Erman, 1985). BRUNETON estime que la volatilité et l'odeur marquée de ces essences en font des éléments de la communication chimique (Bruneton, 1987). Enfin, une mise au point de CROTEAU montre que les huiles volatiles auraient en réalité un rôle de mobilisateur d'énergie lumineuse et de régulateur thermique au profit de la plante. Elles réguleraient la transpiration diurne en absorbant les rayons ultraviolets par leurs constituants insaturés. La présence et la teneur des plantes en huile essentielle seraient donc en rapport avec la photochimie (Croteau, 1986).

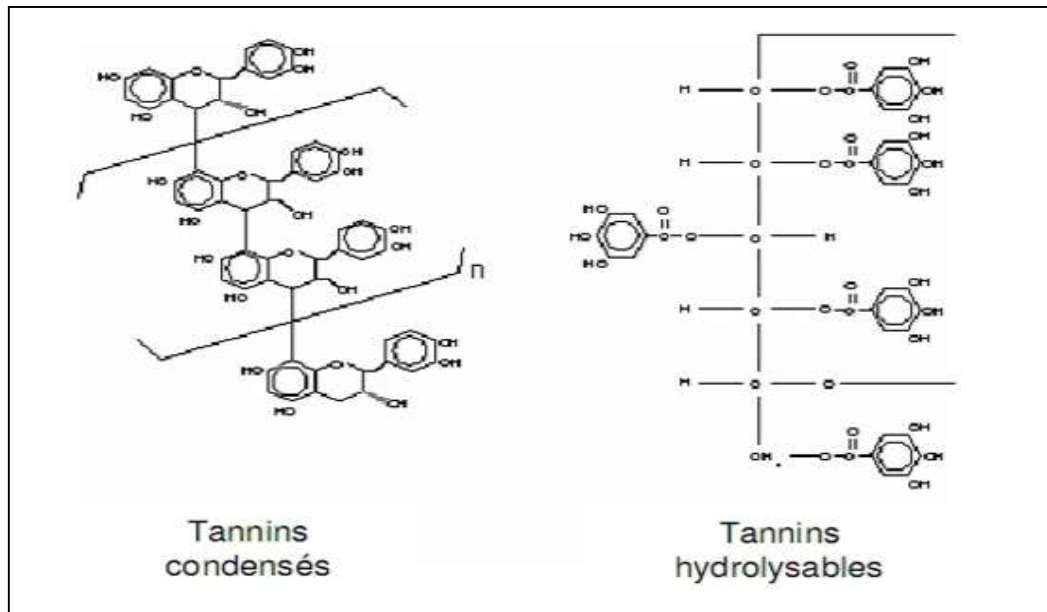


Figure 2: Structure chimique des tanins.

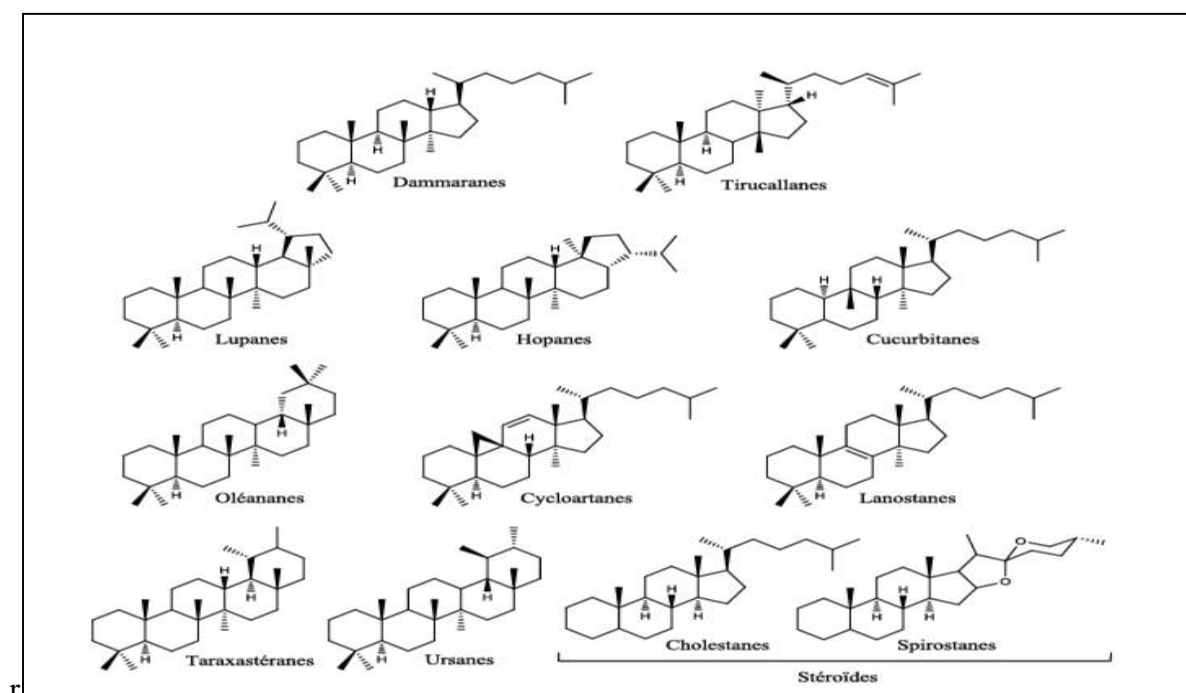
➤ **Les saponosides**

Le saponoside (ou saponine) est un hétéroside généralement d'origine végétale formé d'une génine de type triterpène ou stéroïde appelée sapogénine, possédant un ou des groupements osidiques. Les saponosides sont un vaste groupe de glycosides, largement distribués chez les plantes supérieures, leurs propriétés tensio-actives les distinguent des autres glycosides. Ils se dissolvent dans l'eau pour former des solutions moussantes colloïdales par agitation (Tyler et *al.*, 1981). Ils sont capables d'agir par la perméabilité des membranes cellulaires.

Les saponosides sont généralement connues en tant que composés non-volatils, tensio-actifs, elles sont largement distribués dans la nature, survenant principalement dans le règne végétal (Lasztity et *al.*, 1998; Oleszek, 2002; Hostettmann et Marston, 2005). Le nom « saponine » est dérivé du mot latin *sapo*, qui signifie « savon », parce que les molécules de saponoside forment des solutions moussantes quand on les mélange avec de l'eau. Structurellement et chimiquement, ce sont des molécules glycosidiques triterpéniques et stéroïdiques. Cette combinaison structurelle d'éléments polaires et non polaires (caractère amphiphile), explique leur comportement de savon dans les solutions aqueuses (Oleszek, 2002). Les saponosides ont un large éventail de propriétés, qui incluent leur goût doux et amer (Grenby, 1991; Kitagawa, 2002; Heng et *al.*, 2006), des propriétés émulsifiantes à travers leur capacité de former des mousses (Price et *al.*, 1987), et des propriétés pharmacologiques telles que les effets analgésiques et antidépresseurs, d'extrait méthanolique de quelques espèces appartenant au genre *Zygophyllum*, (Attelé et *al.*, 1999), des propriétés hémolytiques (Oda et *al.*, 2000; Sparg et *al.*, 2004), ainsi que des activités antimicrobiennes, insecticides,

molluscicides (Sparg et *al.*, 2004). Les saponosides ont de nombreuses applications, on les retrouve dans les boissons et les confiseries, ainsi que dans les cosmétiques (Price et *al.*, 1987; Petit et *al.*, 1995; Uematsu et *al.*, 2000) et dans les produits pharmaceutiques (Sparg et *al.*, 2004).

Leur diversité structurelle est énorme, par conséquent, lorsque le terme " saponoside" est employé, il doit continuer à refléter une certaine valeur dans la classification du produit naturel, et il doit être défini plus précisément. Parce que les connaissances des structures chimiques des produits naturels (par exemple des saponosides) et leurs voies biosynthétiques, ont considérablement avancé, il est devenu possible, de nos jours d'avoir une classification plus précise. Ces progrès ont stimulé la classification des produits naturels à partir de la voie biosynthétique de leur squelette de carbone (Devon et Scott, 1972; Connolly et Hill, 1991; Xu et *al.*, 2004). En outre la classification peut être basée sur les transformations ultérieures de la voie de biosynthèse des principaux squelettes de ces carbones, tels que des réarrangements mineurs, type d'oxydation, homologation des modèles, ou de dégradation, conduisant au réarrangement, seco/homo/ni-composés. Plusieurs commentaires ont été publiés au cours des deux dernières décennies, en mettant l'accent sur la biosynthèse, l'isolement, la structure, élucidation, et les activités biologiques des saponines Kulshreshtha et *al.*, 1972; Mahato et *al.*, 1992 ; Mahato et Nandy, 1991 ; Mahato et Sen, 1997; Tan et *al.*, 1999; Connolly et Hill, 2000; Sparg et *al.*, 2004). (Chemat & Lucchehesi, 2005) Les cosmétiques (Price et *al.*, 1987; Petit et *al.*, 1995; Uematsu et *al.*, 2000) et dans les produits pharmaceutiques (Sparg et *al.*, 2004).



**Figure 3** : structure des 11 principales classes des squelettes de saponines et leurs dérivés.

➤ **Alcaloïdes**

Pour certaines plantes on notera la présence d'alcaloïdes de plusieurs groupes ou celle de deux sortes d'alcaloïdes du même groupe. Il existe aussi des alcaloïdes qui participent à la fois de deux groupes de noyaux : pyridine et pyrrole pour la nicotine, indolecisoquinoléine pour des bases figurant surtout dans les Apocynacées et les Huihiacées (yohimbine, réserpine, etc.), indole et tropane pour la gelsémine selon sa formule la plus récente. De tels corps doivent être mentionnés dans la série la plus représentative de leurs caractères. Une association très curieuse juxtapose phénanthrène et isoquinoléinc (noyau aporphinc). On en rencontre plusieurs cas, mis en évidence sur le tableau à cause de leur analogie extrême. Indispensable, dans la mesure où leur répartition parmi les plantes peut être significative. Il est normal de considérer les hases de structure simple trouvées, parfois abondamment, dans les végétaux comme des ébauches d'alcaloïdes, des protoalcaloïdes, suivant l'expression de Pictet. C'est le cas des méthyla-mines (Mercuriales, Aubépine), de la tyramine (Ergot de Seigle, Chardon Marie), de l'oxytyrayamine (Genêt à halais), de la choline (nombreux Champignons, Noix d'Arec, Strophanthus, Ballote, etc.), de la bélaïne (Betterave, Lyciets). Tous les autres corps rentrant dans la définition que nous avons données ont des alcaloïdes. Presque tous comportent des hétérocycles figurant tels quels dans la molécule ou juxtaposés selon des assemblages plus ou moins complexes. Il en est très peu qui soient de nature acyclique ou dont l'azote se trouve fixé sur une chaîne latérale. (Bézanger, 1958).

Les métabolites secondaires, dont les alcaloïdes sont inégalement répartis parmi les plantes, et varient qualitativement et quantitativement au sein des organes végétatifs d'une même plante. Ils sont produits dans un organe, tissu ou type cellulaire spécifique à des stades particuliers du développement de la fleur, du fruit, de la graine ou de la plantule. Ils sont souvent synthétisés dans une partie de la plante et stockés dans une autre. Les feuilles, les écorces et les racines sont le siège par excellence de la biosynthèse et même du stockage des métabolites secondaires responsables des propriétés biologiques de la plante. On distingue les alcaloïdes vrais dérivant d'acides aminés et comportant un atome d'azote dans un système hétérocyclique. Ce sont des substances douées d'une grande activité biologique, même à faibles doses. Ils apparaissent dans les plantes, soit sous forme libre, soit sous forme d'un sel, soit comme N oxide. Les protoalcaloïdes qui sont des amines simples, dont l'azote n'est pas inclus dans un hétérocycle. Ils dérivent aussi d'acides aminés. Les pseudo-alcaloïdes ne sont pas dérivés d'acides aminés. Ils peuvent cependant être indirectement liés à la voie des acides aminés par

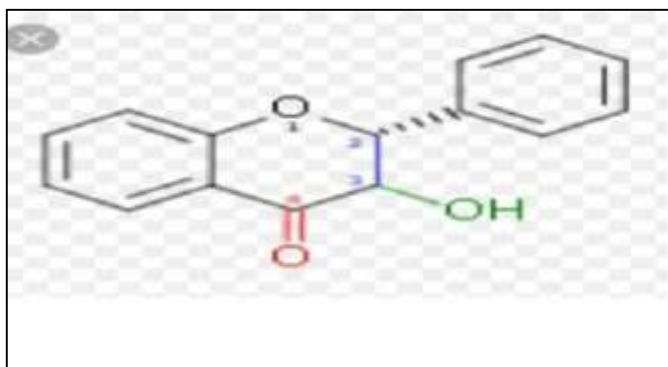
l'intermédiaire d'un de leurs précurseurs, ou d'un de leurs postcurseurs (dérivés). Les plantes de la famille des Solanaceae, des Apocynaceae et des Rubiacée sont pour la plupart des plantes riches en divers alcaloïdes. Les alcaloïdes interviennent dans les mécanismes de défense des plantes contre les herbivores. La solanine, la caféine, chaconine, l'aconitine sont par exemple des alcaloïdes présents dans les graines, les feuilles et les fruits de différentes plantes où elles agissent comme des défenseurs naturels. En effet, elles sont toxiques pour les insectes, paralysant ou tuant ceux qui s'en nourrissent (Yiyang *et al.*, 2014).

➤ **Flavonoïdes**

Les composés phénoliques ou Les polyphénols sont des molécules organiques synthétisées par les végétaux lors du métabolisme secondaire, possédant un ou plusieurs cycles aromatique, avec un ou plusieurs groupes hydroxyle (Liu RH, 2004). Ils constituent les principes actifs de nombreuses plantes médicinales. On les trouve, d'une manière générale, dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organes: racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruit (Dehak K, 2013). Les polyphénols jouent un rôle important dans les interactions de la plante avec son environnement physico-chimique et biotique en particulier dans les relations avec les microorganismes symbiotique ou pathogène (Macheix *et al.*, 2005). En plus de leur rôle dans les plantes, les composés phénoliques dans notre alimentation offrent des avantages pour la santé associés à un risque réduit de maladies chronique, possèdent des propriétés anti-inflammatoire, antiallergique, antioxydants et protègent contre les maladies dégénératives comme les maladies cardiaque et le cancer (Gani A *et al.*, 2012).

Les flavonoïdes 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. Les flavonoïdes sont rencontrés dans les fruits. Les flavonoïdes sont retrouvés également dans plusieurs plantes médicinales. Des remèdes à base de plantes renfermant des flavonoïdes ont été et sont utilisés en médecine traditionnelle par le monde (Ghedira, 2005). Notamment de flavonoïdes. Une trentaine de composés ont été identifiés, dont des acides phénols, des flavones, flavonols et flavonones. Ces substances phénoliques se trouvent dans les sécrétions de bourgeons et exsudats de divers organes des plantes. Elles possèdent certaines activités biologiques : germicide, anti-inflammatoire. Ainsi, des effets bactériostatiques sont-ils attribués à la pinocembrine (flavone) et à la galangine (flavonol). Ces substances pourraient se retrouver dans les miels. Elles peuvent être considérées comme des marqueurs de l'origine florale (Amiot *et al.*, 1989). Les composés phénoliques sont principalement synthétisés à partir des hydrates de carbone via la voie de l'acide Shikimique et la voie de l'acétate, celles de l'acide Shikimique conduisant, après trans-

amination et désamination, aux acides cinnamiques et à leurs dérivés et celles de l'acétate conduisant aux poly-cétoesters ou polyacétates (malonate). La structure des composés phénoliques va du simple noyau aromatique de faible poids moléculaire jusqu'aux tanins complexes de très haut poids moléculaire, et ils peuvent être classés par le nombre et l'arrangement des atomes de carbone qui les composent, en fonction de la nature de leur squelette carbone et en fonction de la longueur de la chaîne aliphatique liée au noyau benzénique (Cheynier *et al.*, 1997). Les composés phénoliques sont capables de se conjuguer à des oses ou à des acides organiques. Cependant les composés phénoliques peuvent être répartis en deux grands groupes : les flavonoïdes et les non-flavonoïdes (Chira *et al.*, 2008).



**Figure 4 :** Structure des flavonoïdes

### **1.3. Différentes méthodes extraction des substances naturelles**

#### **1.3.1. Extraction par Soxhlet**

L'extraction d'une huile essentielles (HE) est nécessairement une opération complexe et délicate. Elle a pour but, en effet, de capter et recueillir les produits les plus volatils, subtils et les plus fragiles qu'élabore le végétal, et cela sans en altérer la qualité. Pour mesurer la difficulté de l'entreprise, il suffit de garder présente à l'esprit la rapidité avec laquelle se dégage, puis disparaît ou se dénature, le parfum d'une fleur, même la plus odorante, lorsqu'on en a froissé les pétales. Une fois la cuticule cireuse des poches épidermiques brisée, l'essence s'en échappe et plusieurs molécules odorantes se dispersent dans l'air ambiant. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau. C'est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des HE.

Dans ce système d'extraction, le matériel végétal est soumis à l'action d'un courant de vapeur sans macération préalable. Les vapeurs saturées en composés volatils sont condensées puis décantées dans l'essencier, avant d'être séparées en une phase aqueuse (HA) et une phase organique (HE). L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques, évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile. De plus, le parfum de l'HE obtenue est plus délicat et la

distillation, régulière et plus rapide, fait que les notes de tête sont riches en esters (Boukhatem, Ferhat, & Kamel, 2019).

Les fractions dites « de tête », fragrances très volatiles dues à des molécules légères, apparaissent en premier. Le plus souvent, une demi-heure permet de recueillir 95 % des molécules volatiles, ce qui suffit aux besoins de l'industrie et de la parfumerie, comme pour la lavande. L'emploi en aromathérapie impose de prolonger l'opération aussi longtemps qu'il est nécessaire afin de récupérer la totalité des composants aromatiques volatils. (Boukhatem, Ferhat, & Kamel, 2019).

## **1.4. Méthodes d'analyse des extraits de plantes**

### **1.4.1. Chromatographie en phase gazeuse**

La chromatographie en phase gazeuse est une des dernières techniques à avoir été employée pour l'analyse des gaz des inclusions fluides. Son principe est basé sur la séparation des composés gazeux par absorption différentielle sur un solide ou un liquide (la colonne chromatographique). Le mélange gazeux à analyser est transporté par un gaz inerte ( $N_2$ , He, Ar...) appelé gaz vecteur. Les caractéristiques physiques du milieu absorbant déterminent la vitesse d'écoulement des gaz, celle-ci dépendant également de la géométrie, de la taille, du poids des molécules gazeuses et de la température de la colonne. Chaque gaz n'est caractérisé que par son temps de rétention. Seule la spectrométrie de masse permet une détermination réelle de la nature des gaz (Curney, Pagel, & Touret, 1976).

Le rôle de la chromatographie est de séparer les constituants d'un mélange. La chromatographie en phase gazeuse est réservée à l'analyse de composés relativement volatils et thermiquement stables. Le chromatographe en phase gazeuse est constitué de trois modules : un injecteur, une colonne capillaire dans un four et un détecteur. Il existe différents types de détecteurs mais le spectromètre de masse tend aujourd'hui à supplanter tous les autres car c'est le seul à fournir des informations structurales sur les composés séparés par chromatographie (Bouchonnet & Libong, 2004).

### **1.4.2. Chromatographie sur couche mince**

La chromatographie sur couche mince est un procédé d'analyse au cours duquel les substances à séparer migrent suivant une direction déterminée. La vitesse de déplacement des substances dépend de leur affinité pour la phase mobile organique d'une part et des forces d'adsorption dues à la phase stationnaire d'autre part (Kalla, 2012).

La CCM est très largement appliquée à la séparation de substances appartenant à toutes les séries chimiques, depuis l'ion minéral jusqu'à la particule de virus en passant par tous les

composés de la chimie organique et les substances naturelles contenues dans les êtres vivants. Or, beaucoup de spécialistes et beaucoup d'utilisateurs se font une idée fautive de la chromatographie sur couche mince; fautive parce que trop restrictive, parce que trop bien adaptée à leur cas particulier. Il faut souligner que la définition que l'on peut en donner ne peut être que technologique car, aucun principe nouveau n'est mis en œuvre: ce sont seulement les modalités expérimentales qui sont nouvelles, et il faut bien dire qu'en cela les améliorations des procédés analytiques sont tellement considérables que toutes ces idées simples peuvent être qualifiées de géniales; alors que beaucoup d'autres méthodes analytiques s'acheminent vers l'utilisation d'appareil de plus en plus compliqués, l'analyse chromatographique en accroissant ses possibilités va vers une simplification de plus en plus poussée (Roger, 1968).

#### **1.4.3. Autre méthodes d'analyse**

- Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse GC-MS, HSPME...
- Chromatographie liquide à haute performance HPLC, HPLC-DAD, LCMS, HPLCMS, MSMS...

### **1.5. Activité antimicrobienne :**

En raison de l'effet secondaire des produits chimiques antimicrobiens et de la résistance que les micro-organismes pathogènes établissent contre les antibiotiques, beaucoup d'attention a été prêtée aux extraits bruts des plantes qui commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives. Ils font l'objet d'études pour leur éventuelle utilisation comme alternative pour le traitement des maladies infectieuses (Yakhlef et *al.*, 2011). Les activités antimicrobiennes des extraits de plantes dépendent de la nature et de la structure des composés phénoliques. Par leur groupe hydroxyle, les composés phénoliques ont une capacité de se lier aux protéines des membranes bactériennes pour former des complexes. Ainsi, plusieurs études ont mis en évidence les activités antimicrobiennes des extraits de plantes provenant de divers organes comme les feuilles, les graines et les fleurs. Les composés antimicrobiens des plantes peuvent inhiber la croissance bactérienne par différents mécanismes. En effet, on montre que l'action antimicrobienne des huiles essentielles et de leurs extraits se déroule en trois phases:

- Attaque de la paroi bactérienne par les extraits, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires.
- Acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure.
- Destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie. Les antimicrobiens peuvent donc avoir une valeur clinique importante dans le traitement des souches microbiennes résistantes.

En effet, On révéler que les huiles végétales et leurs extraits ont été utilisés dans plusieurs produits comme des agents antimicrobiens y compris les produits alimentaires, les produits cosmétiques et les produits pharmaceutiques aussi bien dans la médecine alternative et les thérapies naturelles. Les micro-organismes qui ont montré de grandes zones d'inhibition observées par la méthode de diffusion sur milieu gélose. L'activité antimicrobienne a été évaluée par la méthode de diffusion dans la gélose (Aouadhi et *al.*, 2013). La gélose MH a étéensemencée par inondation avec soit 2 ml de l'inoculum bactérien à environ 0,5 Mac Ferland soit avec la suspension de *C. gallicans* diluée à 10<sup>-3</sup>, l'excès a été éliminé. Puis, les boites ont été séchées 15 minutes sous la hotte à flux laminaire à la température ambiante, ensuite des puits ont été réalisés dans la gélose. Enfin, 50  $\mu$ l de l'extrait aqueux ont été déposés et les boites incubées à 37°C/24h. Les activités antibactériennes ont été évaluées en mesurant, à l'aide d'un pied à coulisse, le diamètre de la zone d'inhibition induite par les extraits ou les antibiotiques. Chaque test a été réalisé 2 fois (Yalla et *al.*, 2016).

De la même manière, plusieurs auteurs ont signalé que les souches qui présentaient de grandes zones d'inhibition (méthode de diffusion) ne sont pas toujours les plus sensibles car la taille de la zone d'inhibition ne reflète pas l'efficacité antibactérienne du produit testé. Elle peut être affectée par la solubilité et l'évaporation de l'extrait (Aouadhi et *al.*, 2013).

### **1.6. Activité anti moisissure**

De manière générale, les composés antioxydants peuvent piéger les radicaux libres et augmenter la durée de conservation en retardant le processus de peroxydation des lipides, qui est l'une des principales raisons de la détérioration des produits alimentaires et pharmaceutique pendant le traitement et le stockage. (Ak & Gülçin, 2008) Les aliments sont exposés à la détérioration par les bactéries et les moisissures et subissent des modifications du goût, de leur couleur et par conséquent la perte de la quantité des nutriments et de la sécurité de ces aliments. L'utilisation des produits chimiques constitue la technique la plus utilisée pour lutter contre les moisissures nuisibles. Cependant en raison des nombreux dangers que ces substances causent, l'organisation mondiale de la santé (OMS) a interdit l'usage de certains fongicides chimiques, c'est pour ça l'utilisation des plantes comme source naturelle des substances anti moisissures pourraient être une alternative naturelle aux conservateurs artificiels (Himed et *al.*, 2020).

### **1.7. Activité insecticides**

Les infestations d'insectes et d'acariens sont l'une des principales causes de la détérioration et de la baisse de la valeur marchande des denrées entreposées. Malgré les progrès réalisés au niveau des méthodes de gestion appliquées durant l'entreposage et la diversité des produits chimiques (fumigatoires, produits de contact, etc.), les ravageurs animaux continuent à provoquer d'importants dégâts au niveau des stocks. Cette situation découle en grande partie de la capacité propre à ces ravageurs de s'adapter, de se multiplier et de se reproduire sous des conditions relativement exposées. Ainsi, il a été démontré la résistance des insectes à de nombreuses molécules chimiques (Sinha & Watters, 1985). Cette grande adaptabilité leur permet également de se développer dans des milieux écologiques très différents (Bourarach, Sekkat, & Lamnaouer, 1994).

L'utilisation des insecticides à base de plantes médicinales, constitue une méthode biologique, prometteuse pour la lutte contre les leishmanioses. En effet, les plantes se caractérisent par une sélectivité importante vis à vis des espèces de vecteurs, par une biodégradabilité et un respect de l'environnement (Diaz, Boussaa, & Boumezzough, 2022).

Les plantes médicinales à activité insecticide, pourraient substituer les insecticides

chimiques, en présentant des avantages écologiques et économiques importants (Diaz, Boussaa, & Boumezzough, 2022).

## **2. Présentations de l'espèce étudiée**

### **2.1. Généralité sur les familles *Euphorbiacées***

Les Euphorbiacées sont des Angiospermes de la classe des Dicotylédones, Il existe plus de 10000 espèces d'Euphorbiacées (The Plant List, 2013). Ils sont présents en nombre dans le Sahara septentrional, principalement dans des zones chaudes et tempérées où l'on retrouve des euphorbes aciformes d'Afrique ou d'Amérique.

En France, on peut trouver deux genres, à savoir Euphorbe et Mercuriale, selon Savolainen (2000). Il s'agit de végétaux qui peuvent prendre la forme d'arbres, de buissons, de lianes ou d'herbacées, et qui sont souvent caractérisés par la présence de latex. Ces plantes ont généralement des propriétés toxiques dues à leur teneur en alcaloïdes et en tanins.

### **2.2. Le genre *Euphorbia***

Les plantes du genre *Euphorbia* sont largement répandues au Sahara septentrional ainsi qu'en Europe. Elles se caractérisent par la présence de diterpénoïdes et de triterpénoïdes en tant que métabolites secondaires majeurs (Giner et al., 2000), elles possèdent de nombreuses propriétés biologiques intéressantes anti-cancer, telles que : antinéoplasiques (Tanaka et al., 2000), antiprolifératives (Cateni et al., 2000), antioxydants et cytotoxicité (Aslantürk et al., 2013) et régulation de la résistance multi drogue (Vasas et al., 2012)

### **2.3. Espèce *Euphorbia bupleuroides*.**

*Euphorbia bupleuroides* (Kralik) Maire (1939) est une Euphorbiaceae spontanée, une herbe à feuilles simples qui pousse dans les montagnes rocheuses trouvée dans la région des Aurès en Algérie (ben Saci et al. 2015 ; Quezel et Santa, 1963). C'est une plante médicinale endémique d'Algérie et utilisée comme ancien remède pour enlever les épines et traiter les verrues. Une décoction de racine est connue pour être utilisée à des fins anti-inflammatoires en Algérie (Haba et al., 2007, 2013).

Les plantes *E. bupleuroides* se caractérisent par leur latex liquide blanc très toxique, une toxicité également présente dans les graines utilisées autrefois comme laxatif. (Aichour et al., 2015).



Figure 5 : *Euphorbia bupleuroides* . (1-Port ; 2-Feuille ; 3-Fruit), Aflou, Photos K.Rebbas.

#### 2.4. Habitat et distribution géographique

*E. bupleuroides* est une plante de la famille des Euphorbiaceae, qui pousse naturellement dans la région des Aurès en Algérie (ben Saci et *al.* 2015), mais également dans les régions subtropicales d'Afrique de l'Est, d'Amérique du Sud, d'Asie de l'Est et d'Inde. Cette espèce est connue pour sa capacité à développer rapidement sa biomasse dans les zones semi-désertiques. (Maugh, 1976).

#### 2.5. Classification systématiques

Webster (1987) propose une autre classification et reconnaît cinq sous-familles Euphorbiaceae: phyllanthoïdeae, oldfieldioideae, Acalyphoideae, crotonoideae et Euphorbiacée. Selon Savolainen (2000), l'espèce *Euphorbia bupleuroides subsp L.* classé comme suit :

- **Taxon:** Rhizophytes.
- **Embranchement:** Spermaphytes.
- **Sous-embranchement:** Angiospermes.
- **Classe:** Dicotylédones.
- **Sous-classe:** Dialypétales.
- **Série:** Thalamiflores.
- **Sous-série:** Méristémones.
- **Ordre:** Tricoques.
- **Famille:** Euphorbiaceae.
- **Sous-famille:** Euphorbiaceae.

- **Genre:** *Euphorbia*.
- **Espèce:** *Euphorbia bupleuroides* subsp L.

## 2.6. Description botanique

Selon Maire (1957) *E. bupleuroides* est une espèce de la famille des Euphorbiaceae, originaire de la région méditerranéenne caractérisée par :

- ✓ **Morphologie :** *Euphorbia bupleuroides* . est une plante vivace de petite taille, atteignant en général une hauteur de 20 à 40 cm. Elle possède une tige dressée, souvent ramifiée à partir de la base, et des feuilles alternes, linéaires, de couleur verte.
- ✓ **Inflorescence:** Les fleurs sont regroupées en cyathes (inflorescences caractéristiques des *Euphorbia*), qui sont disposés en cymes terminales. Les cyathes sont de couleur jaune verdâtre et mesurent environ 6 mm de diamètre.
- ✓ **Floraison:** La floraison a lieu de mars à mai.

## 2.7. Travaux antérieurs et l'usage thérapeutique

L'espèce *Euphorbia bupleuroides* se distingue par la présence des diterpénoïdes et triterpénoïdes, des métabolites secondaires caractéristiques, qui lui confèrent de nombreuses propriétés biologiques intéressantes pour lutter contre le cancer, notamment des effets anti tumoraux, antiprolifératifs, antioxydants, cytotoxiques et modulateurs de la multi résistance. Cette plante est également utilisée comme ancien remède pour éliminer les épines et traiter les verrues. En Algérie, la décoction des racines est couramment utilisée pour ses propriétés anti-inflammatoires (Aichour et *al.*, 2015).

## 3. Présentation des insectes utilisés

La *tribolium Castaneum*, est le petit ver de farine de blé, tribolium ou tribolium rouge de farine, est un insecte de farine du ténébrionidé, à distribution cosmopolite. Cette famille appartient à l'ordre des coléoptères, des dérivés d'ailes durcies et cornées. Les membres de la famille du ténébrionidé se développent principalement dans la farine et autres denrées alimentaires riches en amidon.

Cette insecte a été surnommé < punaise du son > car c'est un ravageur des produits céréaliers moulus, comme la farine et les céréales. Bien qu'il ne puisse manger des grains entiers, ce coléoptère se nourrit de grain. Les insectes dégagent une forte odeur et favorisent la moisissure des grains, ce qui engendre des pertes commerciales énormes. Les principaux dommages causés sont la moisissure de la farine mais aussi la présence de nombreux cadavres et larves. L'insecte peut aussi s'attaquer à divers produits céréaliers, par exemple les pâtes, les mélanges à gâteaux, les biscuits, etc. le cycle de vie de ce coléoptère dure 7 à 12 de semaines et l'adulte peut vivre

jusqu'à 3 ans. L'insecte prolifère très rapidement, la femelle peut pondre 2 à 3 œufs par jour. Cela fait que lors d'une infestation, ils se retrouvent en très grand nombre. de la plupart le fait que *tribolium Castaneum* peut voler, il est capable d'infester plusieurs endroits. Cet insecte fait partie des deux espèces les plus abondantes et les plus nuisibles pour les produits céréaliers, l'autre étant *tribolium confuse*, le coléoptère de la farine brune.



**Figure 6 :** Les adultes de *Tribolium Castaneum* dans le blé dur.

# **Chapitre II**

## **Matériels et méthodes**

## Chapitre II : Matériels végétales

### 1. Matériels

#### 1.1. Matériel végétal

Le Matériel végétal est constitué de la plante *Euphorbia bupleuroides subsp. Luteola* (Euphorbiaceae) qui ont été récoltées à Laghouat (province de Laghouat en Algérie (Altitude, 777 m. Coordonnées (long/lat.), 2°52'60'' E-33°47'60''N. Altitude : 777m) en avril 2021.

L'identification taxonomique du matériel végétal a été confirmée par le Pr. Khalaf. RABBAS du Département de SNV de l'Université de M'sila, à l'aide de Flore d'Algérie (Quezel et Santa 1962), et un spécimen d'Herbie a été archivé à l'Herbie de Université de M'sila.

##### 1.1.1. Préparation des échantillons

Les échantillons (feuilles, tiges) sont rincées et séchées dans un endroit sec, aérées à l'abri de la lumière pendant deux semaines et broyées à l'aide d'un broyeur.



**Figure 7 :** Matières végétales séchées (A: les feuilles, B: Les tiges).

L'identité de cette plante a été confirmée au laboratoire. Les tests de caractérisations chimiques ont été réalisés sur la poudre préalablement préparées à partir des organes de la plante à l'aide des réactifs caractéristiques. Le principe de la caractérisation chimique consiste à révéler par l'analyse qualitative des extraits issus des différents organes de *Euphorbia bupleuroides subsp.*, la présence des familles chimiques (El haoudet et *al.*, 2018).

Les extraits obtenus sont échantillonnés pour les tests pharmacologiques puis également utilisés pour les analyses phytochimiques.

## **1.2. Matériel animal**

L'élevage de masse de l'insecte *tribolium Castaneum* est effectué dans un bocal en plastique contient 1000 g de semoule de blé dur dans le laboratoire ; température de 20 à 25° C et une humidité relative comprise entre 65% et 70%.

## **2. Méthodes expérimentales**

### **2.1. Criblage phytochimiques**

Le screening phytochimiques est un ensemble de tests effectués soit sur la poudre, soit sur l'infusé à 5%. Ces tests nous permettent d'avoir une idée sur la présence ou l'absence de certains métabolites primaires et secondaires. Les molécules mises en évidence sont les polyphénols totaux (Galliques et catéchiques, les anthocyanes, les leuco-anthocyanes, les flavonoïdes), les composés terpéniques (Saponosides), les composés azotés (Alcaloïdes), les sucres réducteurs et les glucides (Bouchenak, *et al.*, 2020).

Il s'agit d'une analyse qualitative basée sur des réactions de coloration et/ou de précipitation en vue de mettre en évidence les grands groupes chimiques. A cet effet, plusieurs tests ont été utilisés sur deux types d'extraits de la plante étudiée.

- **L'extrait éthanolique :** Consiste à introduire 5 mg d'extrait sec de matériel végétal (Feuilles, Tiges) dans 50 ml d'éthanol puis agité jusqu'à ce qu'il se dissolve.
- **L'extrait éthylique :** Consiste à introduire 5 mg de extrait sec de matériel végétal (Feuilles, Tiges) dans 50 ml de éther de pétrole puis agité jusqu'à ce qu'il se dissolve.

### **2.2. Les tests du criblage phytochimiques**

- **Détection des alcaloïdes**

#### **Test de Dragendorff/ Kraut**

Dans un tube à essai on met quelque ml du l'extrait avec 1 ou 2 ml du réactif de Dragendorff. Le résultat positif est l'apparition d'un précipité brun rougeâtre.

- **Détection des glucides**

#### **Test Starck**

On met l'extrait dans 5 ml de solution de KOH à 5%. Le résultat positif est l'apparition d'une coloration cinaire.

➤ **Détection des sucres réducteurs**

**Test de Fehling A et B**

Dans un tube à essai on met 0.5 ml du l'extrait avec 0.5 ml du Fehling A et 0.5 ml du Fehling B, puis on bouillit pendant 2 min. Le résultat positif est l'apparition d'un précipité rouge.

➤ **Détection de composés phénoliques**

**Test d'iode**

Dans un tube à essai, on met dans un tube à essai, on met 1mL d'extrait avec quelques gouttes de Sol d'iode Dilué. Le résultat positif est l'apparition d'une couleur rouge passagère.

➤ **Détection des Flavonoïdes**

**Test de réactif alcalin**

Dans un tube à essai, on met 1mL d'extrait avec 2mL de solution NaOH à 2% (on ajoute quelques gouttes de l'HCl dilué). Le résultat positif est l'apparition d'une couleur jaune intense, devient incolore par addition d'acide dilué.

➤ **Détection des Saponosides**

**Test d'huiles**

Dans un tube à essai, on met 1 ml d'extrait avec 3 ml de l'eau distillée et quelques gouttes d'huiles. Le mélange est ensuite refroidi et agité vigoureusement pendant 2 minutes. La formation d'une mousse ou moins importante indique la présence de saponosides.

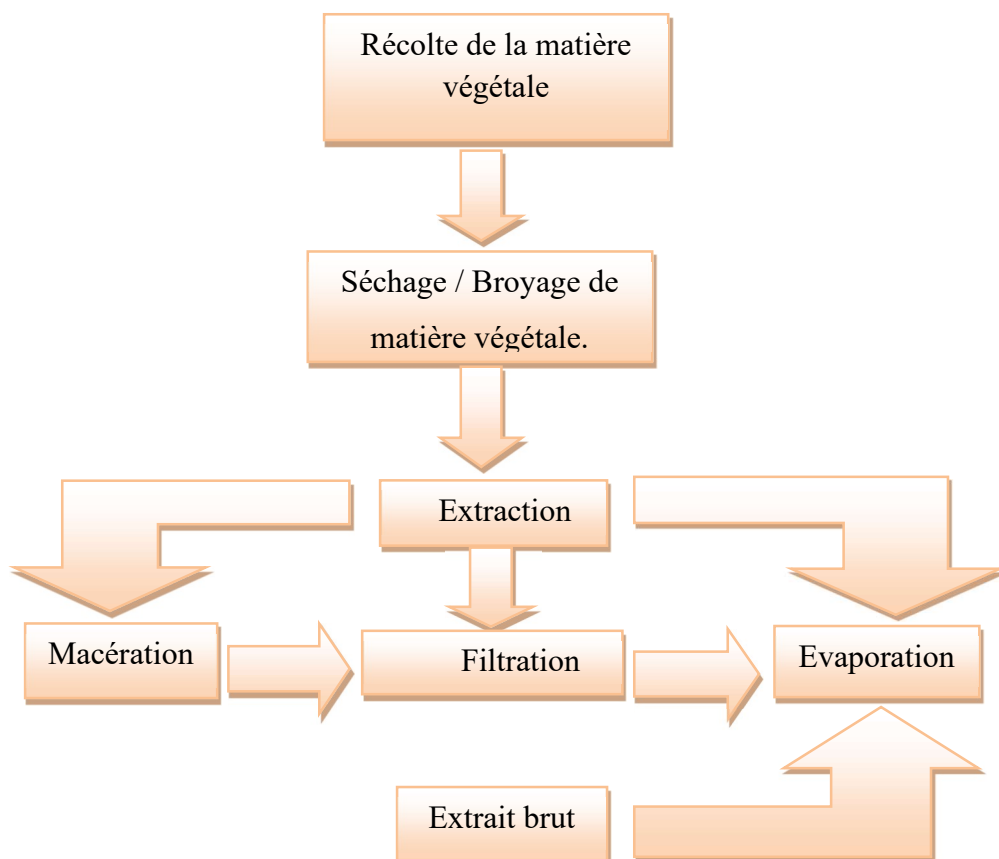
**2.3. L'extraction**

L'extrait est préparé par dissolution de 20 g de la matière végétale dans 200 ml de solvant (éthanol, éther de pétrole). Après une macération de 24 heures sous agitation continue à température ambiante, le mélange est filtré. L'opération est répétée trois fois avec renouvellement du solvant toutes les 24 heures. Les trois fractions filtrées sont regroupées et évaporées à sec (Bentabet, Boucherit-Othmani, & Boucherit, 2014).



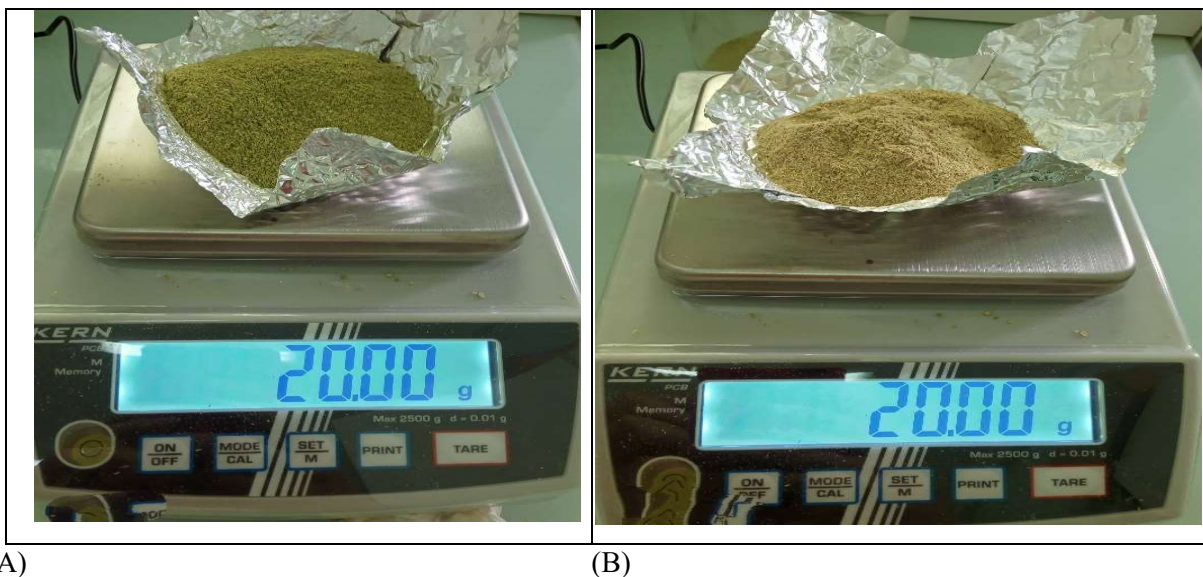
**Figure 8 :** Image indique la méthode de macération de la matière végétale (photo original)

L'extraction est une étape très importante avant l'analyse quantitative et qualitative proprement dite. Afin d'étudier les propriétés biologiques *in vitro* d'*Euphorbia bupeuroides* *subsp* la préparation suivante a été réalisé :



**Figure 9:** Protocole de préparation des extraits.

Les feuilles et les tiges des matières végétales ont été séchées à l'air. Des extraits individuels à l'éthanol et à l'éther de pétrole de feuilles et de tiges ont été préparés par macération (3 fois pendant 24 h) à 25 C. Après filtration, le solvant a été éliminé sous pression réduite. Les rendements d'extraction ont été donnés.



**Figure 10:** Matière végétale en poudre (A) les feuilles, (B) les tiges.

#### **2.4. Préparation des extraits par Soxhlet**

20 g du matériel végétales (Les feuilles et les tiges) en poudre ont été extraits dans un appareil Soxhlet avec de 200 ml l'éther de pétrole. L'extrait obtenu a été évaporé en un liquide visqueux à 40°C sous pression réduite.

Deux quantités de 20g de chaque poudre (feuilles, tiges) ont été mises à Une extraction par macération dans 100 ml d'éthanol et 100 ml du éther de pétrole (Soxhlet).



**Figure 11:** Montage de type Soxhlet

### 3. Détermination du rendement d'extractions

Le rendement en pourcentage (%), est défini comme étant le rapport entre la masse d'extrait et celle de la plante sèche en poudre. Il est calculé par la formule suivante :

$$R (\%) = 100 m/m_0$$

**R** : Rendement en pourcentage (%).

**m**: Masse d'extrait brut.

**m<sub>0</sub>** : Masse de la plante sèche en poudre.

### 4. Analyses chromatographie par CCM

Le principe de la chromatographie sur couche mince repose sur la séparation des substances chimiques par migration et adsorption sur un support ou phase stationnaire polaire, dans une phase mobile ou éluant, en fonction de leur nature, du pouvoir éluant de la phase mobile, du pouvoir adsorbant du support. La phase stationnaire est une couche de gel de silice 60F<sub>254</sub> fixée sur une plaque en aluminium 20x20 cm. L'éluant ou système de migration est un mélange de solvants (Aissa Jazy, Haidara, & Sanogo, 2018). 2 µl de chaque extrait organique sont analysés sur chromatoplaque (silica gel 60 F254, support rigide en aluminium, Merck) par différents gradients de solvants de migration. Après séchage, les chromatogrammes sont révélés soit dans le visible soit sous UV/366 nm avec ou sans révélateurs appropriés (Mamyrbekova-Bekro *et al.*, 2013).

La plaque est mise en contact avec la phase mobile dans la cuve jusqu'à migration de la phase mobile à 0,5 cm du bord supérieur de la plaque. Différents systèmes solvants sont utilisés, la lecture des résultats des CCM se fait à l'aide d'une lampe UV (à 254 et 356 nm).

Nous avons utilisé 3 systèmes de solvants pour les extraits éthanolique :

- le système1 BAW: Butanol/ Acétate/ L'eau distillée (5-4-1).
- Le système2: Chloroforme/ Acétone/ Méthanol (7-7-0.5).
- le système3: Heptane/ Acétate (1-7).

Et pour les extraits éthyliques nous avons utilisé un système:

- Heptane et Acétate (6-2).

Après la révélation sous lampe UV à 365 nm et 254 nm et dans une chambre noir.

## **5. Evaluation de l'activité Anti-moisissures**

De manière générale, les composés antioxydants peuvent piéger les radicaux libres et augmenter la durée de conservation en retardant le processus de peroxydation des lipides, qui est l'une des principales raisons de la détérioration des produits alimentaires et pharmaceutiques pendant le traitement et le stockage.(Ak & Gülçin, 2008) Les aliments sont exposés à la détérioration par les bactéries et les moisissures et subissent des modifications du goût, de leur couleur et par conséquent la perte de la quantité des nutriments et de la sécurité de ces aliments. L'utilisation des produits chimiques constitue la technique la plus utilisée pour lutter contre les moisissures nuisibles. Cependant en raison des nombreux dangers que ces substances causent, l'organisation mondiale de la santé (OMS) a interdit l'usage de certains fongicides chimiques, c'est pour ça l'utilisation des plantes comme source naturel des substances anti-moisissures pourraient être une alternative naturelle aux conservateurs artificiels (Himed et *al.*, 2020)

### **5.1. Principe de l'activité Anti-moisissures**

Cet est a été effectuée dans le but d'activité antifongiques des extraits étudiés Après l'application des extraits étudiés (ETEt, EFET, ETEr, EFER) sur le concentrée de tomate et l'observation visuelle pendant une période 15 jour.

### **5.2. Test du sauce tomate**

L'évaluation de l'activité Anti-moisissures a été déterminée selon la méthode de (Akroum & Rouibah, 2020).Les extraits d'*Euphorbia bupleuroides* ont été dissous dans le méthanol et éther de pétrole pour préparer les différentes concentrations, sachant que la concentration de la solution mère d'extrait est de 160 mg/ml.

Tout d'abord, nous préparons la solution de tomates, qui se compose de 10 g de tomates broyées, en y ajoutant 20 ml d'eau distillé. On prépare des solutions 10g d'extrait sec de plante dans 2 ml d'éthanol), après agitation dans un tube, puis on fait une dilution dans quatre tubes de concentrations différentes(10/5 /2,5/1,25) et la même chose avec l'extrait d'éther On prend une microplaque de 96 puits puis on met dans chaque puit le même quantité, et dans les quatre puits des deux premières colonnes on ajoute 160 mlà une concentration on complète la colonne avec différentes concentrations,(10/5 /2,5/1,25) et les troisième et quatrième colonnes avec l'extrait de l'éther et les différentes concentrations verticalement. On met dans la neuvième colonne uniquement la solution de tomate comme témoin, la dixième colonne est l'éthanol, l'avant-dernière colonne est le cuivre, et la dernière est l'éther comme l'indique (Tableau 02). Les résultats ont été mesurés en calculant :

Pourcentage d'infiction = (Nombre total de puits pour un extrait / Nombre de puits infectés pour un extrait) × 100

**Tableau 1** : Mode de remplissage de la plaque pour l'activité Anti-moisissures.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12				
A	Sauce tomate + l' extrait éthanolique (tiges de la plante )		Sauce tomate +l' extrait éthylique (tiges de la plante)		Sauce tomate+l' extrait éthanolique (feuilles de la plante)		Sauce tomate +l' extrait éthylique (feuille de la plante )		Sauce tomate (Témoin)		Sauce tomate et solvant éthanolique		Sauce tomate et Cu SO <sub>4</sub>		Sauce tomate et solvant éthylique	
B																
C																
D																
E																
F																
G																
H																

- La plaque ensuite est incubée pendant 15 jours dans un réfrigérateur.
- Suivi chaque 3 jours.

## **6. Evaluation de la cytotoxicité de l'extrait**

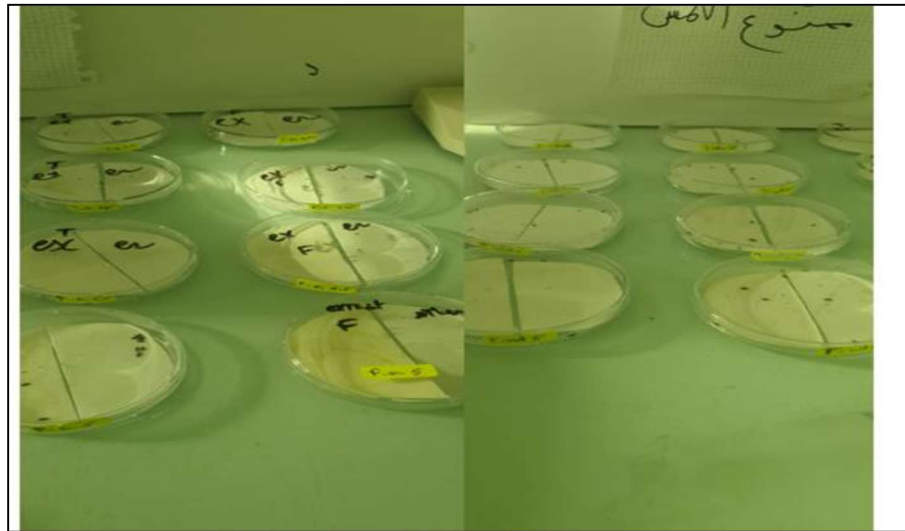
### **6.1. Répulsive des extraits**

L'effet répulsif des extraits éthanolique et éthyliques de la plante Euphorbe (racines, feuilles) contre un insecte *Tribolium Castaneum* a été évalué selon deux méthodes :

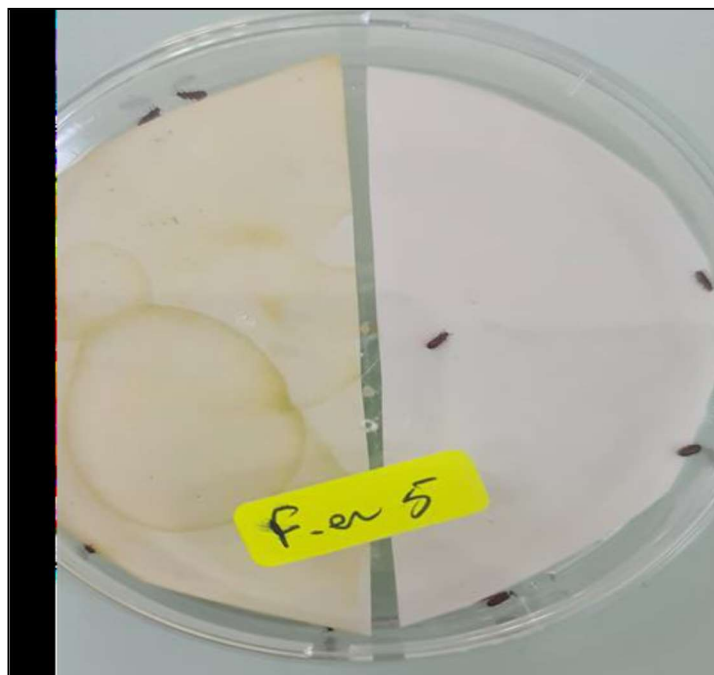
#### **3.1.1. Evaluation de la toxicité des extraits par effet contact**

La méthode de la zone préférentielle sur papier filtre Le papier filtre de 8 cm a été coupé en deux parties égales, et quatre doses d'un extrait différent ont été préparés par dilution dans de l'éthanol et de l'éther dans les proportions (10/5/2,5/1,25). Nous avons mis les papiers filtres dans des boîtes de Pétri et soudé les deux moitiés du disque avec du ruban adhésif. A l'aide d'une micropipette, 1ml de chaque solution a été réparti uniformément sur une moitié du disque, tandis que l'autre moitié ne rencontrait que les solutions (éther et éthanol).Après évaporation complète pour le solvant, nous avons mis un groupe de 10 insectes *Tribolium Castaneum* jusqu'à deux jours vieux au centre de chaque disque et dans les boîtes de pétri quatre répétitions ont été faites pour chaque dose de concentration différente (ce processus que nous faisons sur chaque extrait différent (feuilles et racines) arrosé dans une solution d'éther et d'éthanol).

Au bout de 2 heures, on a relevé le nombre d'insectes présents sur la partie de disque traitée à l'extrait (Nt) et le nombre de ceux présents sur la partie traitée uniquement au solvant (Nc).



**Figure 12 :** l'activité de répulsivité des extraites



**Figure 13 :** le comptage des insectes sur chaque disque réalisé après 2h (photo original)

Le pourcentage de répulsion (PR) a été calculé en utilisant la formule suivante :

$$\text{Pourcentage de répulsion (PR)\%} = (\text{NC}-\text{NT}/\text{NC}+\text{NT})\times 100$$

NC : le nombre d'insectes présents sur la partie de disque traité uniquement avec solvant.

NT : le nombre d'insectes présents sur la partie traité avec la solution de l'extrait.

Classes	Intervalle de répulsion	Propriété de la substance traitée
Classes 0	PR<0,1%	Non répulsive
Classes 1	10 - 20%	Très faiblement répulsive
Classes 2	20 - 40 %	Faiblement répulsive
Classes 3	40-60%	Modérément répulsive
Classes 4	60 – 80%	répulsive
Classes 5	80 - 100%	Très répulsive

### 3.1.2. Evaluation de la toxicité des extraits par effet inhalation

Nous apportons des flacons stériles et préparons des extraits de plante traités à l'éther et à l'éthanol de différentes concentrations (10/5/2,5/1,25) mg/ml. Des papier-filtres de 4 cm de diamètre sont traités chacun avec 1 ml d'une solution des extraits différents. Après évaporation du solvant, chaque papier-filtre est placé dans le couvercle d'un flacon de 4 cm de diamètre et 7 cm de hauteur. Le bouchon du flacon dans lequel nous avons placé 5 insectes de *Tribolium Castaneum* est vissé. Au bout de 2h nous ventilons les bouteilles et les refermons, après 24h de l'exposition aux vapeurs des extraits, les insectes sont transférés dans des boîtes de pétri contenant 20 g de blé respectivement non traité et placés dans l'étuve.

Il a été observé que les insectes présents dans l'extrait traité à l'éthanol mouraient après seulement deux heures de mise en place, les insectes présents dans l'extrait d'éther ne sont pas morts après plus de six jours d'être placés dans le plat de bière.

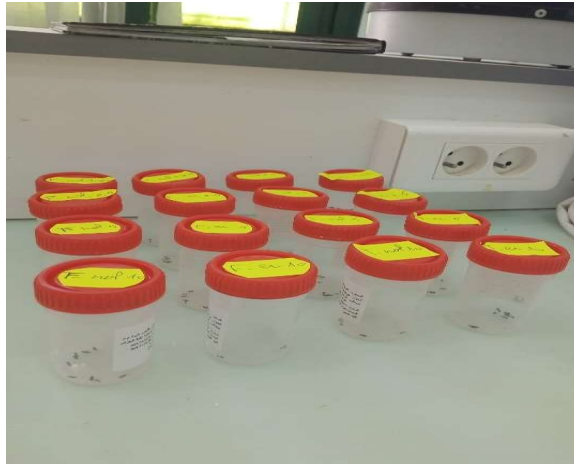


Figure 14 : Exposition des insectes aux extraits par effet inhalation



Figure 15 : Elevages de de *Tribolium Castaneum*

## 4. Activités antibactériennes des extraits de la plante

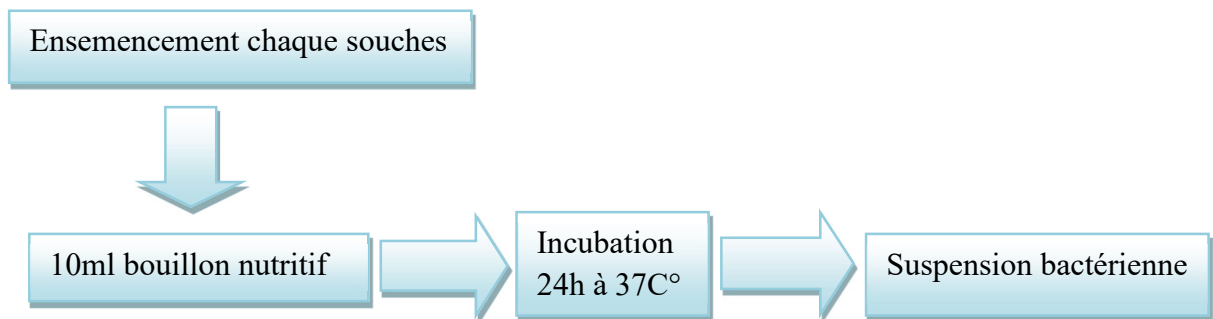
### 4.1. Préparation des milieux de culture

La gélose Muller Hinton stérile prête à l'usage sont coulée dans des boîtes de pétri Stériles de 90 mm de diamètre à raison de 4mm d'épaisseur répartie uniformément dans les Boîtes.

#### 4.1.1. Milieu de Mueller Hinton (MH)

C'est un milieu non sélectif pour l'étude de la sensibilité ou la résistance des germes Pathogènes envers les antibiotiques et les sulfamides. Il constitue également un excellent Milieu de base pour la fabrication de géloses au sang (Gachkar et *al.*, 2007).

#### 4.1.2. Activation de la souche bactérienne



#### 4.1.3. Méthode de diffusion sur milieu gélosé

##### ➤ Culture des bactéries

On fait couler la gélose de MH dans des boîtes de pétri tout en vérifiant l'absence de l'eau à la surface, sinon on laisse sécher. L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage sur boîtes de pétri, un écouvillon est trempé dans la suspension bactérienne de 24h d'incubation (10<sup>8</sup> UFC/ml), puis frotter sur la totalité de la surface gélosée, l'écouvillon est rechargé à chaque fois qu'on ensemence plusieurs boîtes de pétri avec les souches expérimentées.

##### ➤ La conservation des boîtes de pétri

Toutes les boîtes ont été laissées pendant 15 min à température ambiante pour permettre la diffusion des extraits et puis incubées à 37 °C pendant 24 heures.

##### ➤ Après l'incubation

L'effet de chaque extrait se traduit par l'apparition autour de disque d'une zone circulaire transparente correspondant à l'absence de la croissance. Plus le diamètre de cette zone est grand plus la souche est sensible. Les diamètres des zones d'inhibition développées autour des disques ont été mesurés.

#### 4.2. Evaluation de l'activité antibactérienne :

Les plantes contiennent de nombreux composés doués d'une action antimicrobienne, Ces constituants comprennent les composés phénoliques, les flavonoïdes, les huiles essentielles et les triterpénoïdes (Rojas *et al.*, 1992), le pouvoir antimicrobien des extraits de Plantes est tributaire de leurs compositions chimiques (Ben Sassi *et al.*, 2007 ; Naili *et al.*, 2010).

L'évaluation qualitative de l'activité antimicrobienne des extraits d'*Euphorbia bupleuroides subsp* sur les bactéries :

**Tableau 2 :** tableau représente les souches bactériennes utilisées.

Souche	Code
<i>E. coli</i>	ATCC 8739
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853
<i>streptococcus thermophiles</i>	ATTC 8190
<i>streptococcus thermophiles</i>	ATTC 201828T
<i>Salmonella typhimurium</i>	ATTC 14028

Qui sont des bactéries été faite par la méthode des aromagrammes, une méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé MH. Le pouvoir antimicrobien est obtenu par la mesure des diamètres des zones d'inhibition (mm).

- L'aromatogramme consiste à rechercher la sensibilité des souches vis-à-vis des Extraits de feuilles et tiges d'*Euphorbia bupleuroides subsp*. Macérés dans un solvant.

Ils ont classé les diamètres des zones d'inhibition (D) de la croissance microbienne en 5 Classe :

- Non inhibitrice :  $D < 10$  mm
- Légèrement inhibitrice :  $11\text{mm} \leq D \leq 16$  mm
- Modérément inhibitrice :  $16\text{mm} \leq D \leq 20$  mm
- Fortement inhibitrice :  $21\text{mm} \leq D \leq 29$  mm
- Très fortement inhibitrice :  $D \geq 30$  mm

Les diamètres des zones d'inhibition observée autour les disques imprégnés dans différents extraits à tester vis-à-vis de bactéries (*E. coli* et *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *streptococcus thermophiles*, *Fusarium Oxysporum f.sp. lycopersici*, *Salmonella*) après 24 heures d'incubation à 37°C.

# **Chapitre III**

Résultats et discussions

## Chapitre III : Résultats et discussions

### 1. Criblage « screening » phytochimiques par réactions colorées

L'analyse phytochimique réalisée a permis de constater la présence des six grands groupes chimiques (Alcaloïdes, flavonoïdes, glucides, sucres réducteurs, composés phénolique, flavonoïdes et saponosides). Cependant, les alcaloïdes ne semblent pas être présents dans les trois extraits.

Selon leur intensité les réactions qui se produisent sont classées de : négative (-) jusqu'à franchement positive (+++).

#### 1.1. Recherche des alcaloïdes

Les réactions caractéristiques des alcaloïdes ont donné des résultats positifs avec les quatre extraits après utilisation des réactifs appropriés (figure 16).

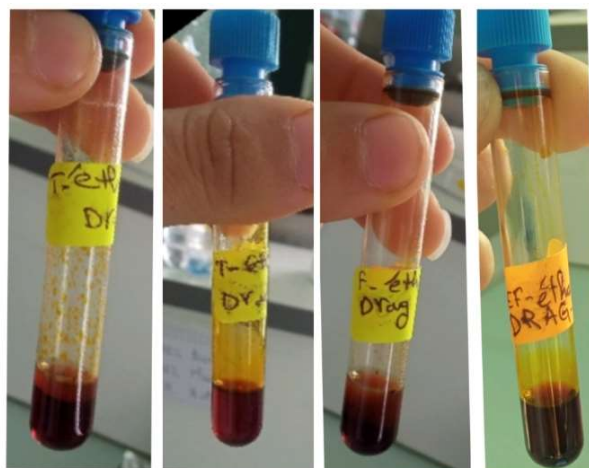


Figure 16: les réactions des alcaloïdes dans les tubes

Tableau 3: Résultats de recherche des alcaloïdes

	Extrait éthanolique		Extrait éthylique	
	Feuilles	Tiges	Feuilles	Tiges
<b>Alcaloïdes</b>	++	+++	+++	+

Les résultats obtenus permet de confirmé la présence des alcaloïdes dans les quatre extraits. Cependant, les extraits de tiges éthanolique et feuilles éthylique sont les plus riches de ses molécules.

#### 1.2. Recherche des flavonoïdes

La caractérisation des flavonoïdes dans les extraits a montré que ces composés phénoliques sont fortement présents dans les deux extrait séthyliques étudiés. Cependant, les extraits éthanolique sont absentent. (Tableau 04).

**Tableau 4 :** Résultats de recherche des flavonoïdes

	Extrait éthanolique		Extrait éthylique	
	Feuilles	Tiges	Feuilles	Tiges
<b>flavonoïdes</b>	-	+	-	+

Les résultats obtenus montrent que les tiges possèdent différentes classes de flavonoïdes.

### 1.3. Recherche des saponosides

Après agitation, la mousse persistante dans les deux tubes des tiges et le tube de feuilles éthanolique indique la présence de saponosides. On peut donc déduire que les saponosides sont absents dans le tube de l'extrait éthylique de la feuille.



**Figure 17 :** Caractéristique des saponosides dans les tubes.

**Tableau 5 :** Résultats de recherche des saponosides.

	Extrait éthanolique		Extrait éthylique	
	Feuilles	Tiges	Feuilles	Tiges
<b>Saponosides</b>	+	++	-	+++

Les résultats obtenus ont montré que seul l'extrait feuilles éthylique ne renferme pas de saponosides (**figure 14**).

### 1.4. Recherches des composés phénoliques

La caractérisation des composés phénoliques dans les extraits a montré que ces composés phénoliques sont fortement présents dans les quatre extraits étudiés. (**Tableau 06**).

**Tableau 6 :** Résultats de recherche des composés phénoliques .

	Extrait éthanologique		Extrait éthylique	
	Feuilles	Tiges	Feuilles	Tiges
<b>Composés phénoliques</b>	+++	+	++	++

On peut donc conclure que les composés phénolique condensés sont présent considérablement dans les extraits de la plante étudié.

### 1.5. Recherche des glucides

Les résultats obtenus pour les quatre extraits sont résumés dans le tableau ci-dessous :

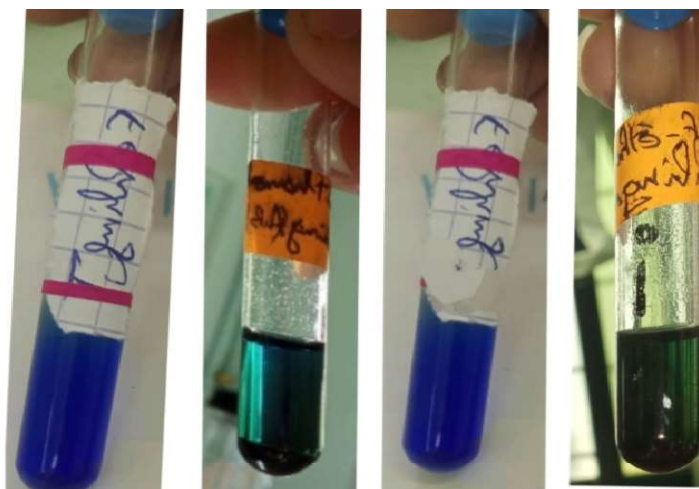
**Tableau 7 :** Résultats de recherche des glucides

	Extrait éthanologique		Extrait éthylique	
	Feuilles	Tiges	Feuilles	Tiges
<b>Glucides</b>	++	++	+	+

Les résultats obtenus permet de confirmé la présence des glucides dans les 4 extraits. Cependant, les extraits d'éthanologique sont le plus riche de ses molécules.

### 1.6. Recherche des sucres réducteurs

Les réactions caractéristiques des sucres réducteurs ont donné des résultats positifs avec les extraits éthanologique après utilisation des réactifs appropriés (**figure 15**).



**Figure 18 :** Caractéristique des sucres réducteurs dans les tubes.

Les résultats obtenus pour les quatre extraits sont résumés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau 8 :** Résultats de recherche des sucres réducteurs

	Extrait éthanologique		Extrait éthylique	
	Feuilles	Tiges	Feuilles	Tiges
<b>Sucres réducteurs</b>	+++	++	-	-

On peut donc déduire que les sucres réducteurs sont absents dans les 2 extraits éthanoliques. Cependant, les extraits éthyliques sont absents. (**Tableau 09**).

Afin de résumer le criblage phytochimique de la plante, le tableau 12 récapitule les résultats obtenus pour les différents tests élaborés et montre la présence ou l'absence des composés pour chaque extrait :

**Tableau 9** : Résultats des réactions de caractérisation des différents chimiques recherchées dans les différents extraits d'*Euphorbia bupleuroides subsp.*

Classes recherchées	Extrait éthanolique		Extrait éthylique	
	Extrait feuilles	Extrait tiges	Extrait feuilles	Extrait tiges
Alcaloïdes	++	+++	+++	+
Flavonoïdes	-	+	-	+
Saponosides	+	+++	-	++
Composés phénolique	+++	++	++	+
Glucides	++	++	+	+
Sucres réducteurs	+++	++	-	-
+++ : réaction fortement positive ; ++ : réaction moyennement positive ; + : réaction faiblement positive ; - : réaction négative.				

Les résultats du screening phytochimique réalisé sur les extraits d'*E. Bupleuroides subsp* mettent en évidence la présence des composés chimiques qui possèdent des activités biologiques intéressantes. Il s'agit entre autres des flavonoïdes, des glucides, des alcaloïdes, des sucres réducteurs, des saponosides et des composés phénoliques.

## 2. Rendements des extractions

Les extractions successives par des solvants de polarité croissante permettent de séparer les composés de la matière végétale selon leur degré de solubilité dans le solvant d'extraction.

Les différents rendements obtenus, ainsi que les aspects des différents extraits, sont présentés dans le tableau 10 :

**Tableau 10** : Aspects et rendements massique (%) des extraits obtenus

<b>Parties de la plante</b>	<b>Solvants</b>	<b>Aspect</b>	<b>Rendement (%)</b>
<b>Tiges</b>	Ethanol	Visqueux	2.32
	Ether de pétrole	Visqueux	1.66
<b>Feuilles</b>	Ethanol	Visqueux	4.1
	Ether de pétrole	Visqueux	3.68

Les extraits éthanolique ont les rendements les plus élevés par rapport à ceux D'ether de pétrole.

Le rendement en extrait du éthanol et ether de pétrole est plus élevé dans le cas de la partie des feuilles d'*Euphorbia bupleuroides subsp* par rapport les tiges.


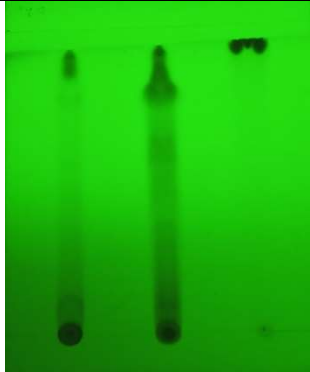
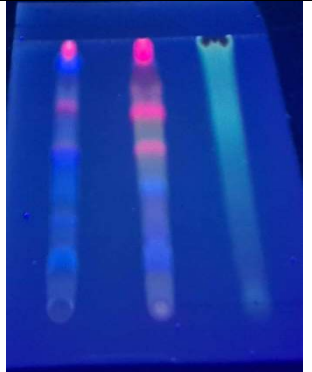

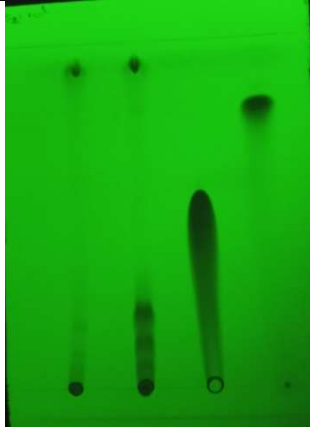
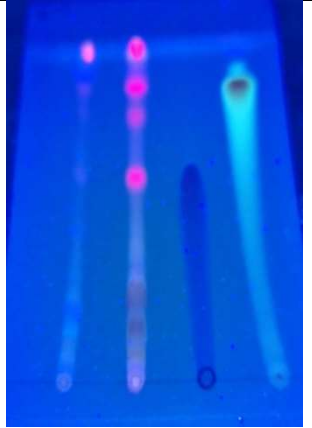

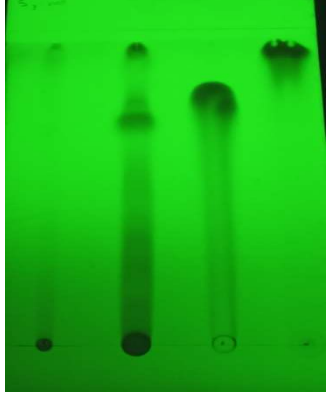
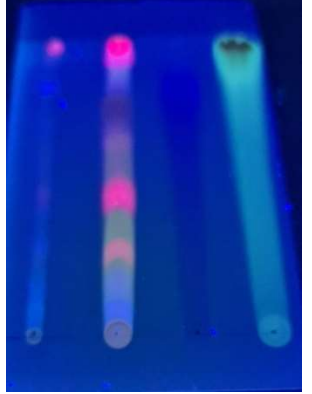
### **3. La bio-autographie**

Pour déterminer l'activité par bio-autographie des extraits d'*Euphorbia bupleuroides subsp*, une chromatographie sur couche mince a été effectuée dont ou la phase stationnaire est le gel de silice et la phase mobile sont des mélanges (pour les extraits éthanolique (Butanol/ Acétate/ L'eau distillée (5-4-1). Chloroforme/Acétone/ Méthanol (7-7-0.5). Heptane /Acétate (1-7)). Et pour les extraits éthylique (Heptane et Acétate (6-2)).

Pour la révélation des plaques les spots ont été visualisés sous la lampe UV à deux longueurs d'ondes 254 nm (révèle les taches non fluorescentes et visible) et 365 nm (révèle les taches fluorescentes).



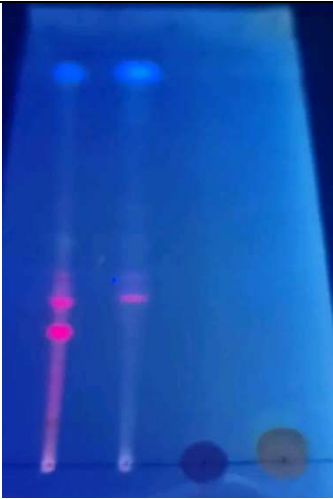
Après le développement par les systèmes et les révélations des plaques par différentes solutions, on a obtenu les chromatogrammes suivant :

➤ Pour les extraits éthanolique

Plante	<i>Euphorbia bupleuroids subsp</i>		
Les extraits	Euph1 (T éthanol) ; Euph2 (F éthanol)		
Révélateurs	Visible	UV à 254 nm	UV à 365 nm
<b>Système1 (BAW) :</b> Butanol, Acétate et L'eau distillée (5/4/1)			
<b>Système2 :</b> Chloroforme, Acétone et Méthanol (7/7/0.5)			
<b>Système3 :</b> Heptane et Acétate (1/7)			

**Figure 19:** Révélation de plaque CCM de gel de silice de extrait éthanolique de feuilles et Tiges d'*Euphorbia bupleuroids subsp*

➤ Pour les extraits éthyliques

Plante	<i>Euphorbia bupleuroids subsp</i>		
Les extraits	Euph (T éther) ; Euph (F éther)		
Révélateurs	Visible	UV à 254 nm	UV à 365 nm
<p><b>Système :</b> Heptane et Acétate (6/2)</p>			

**Figure 20:** Révélation de plaque CCM de gel de silice de extrait éthylique de feuilles et tiges de *Euphorbia bupleuroids subsp*

Les résultats de cette chromatographie sont représentés dans les figures (19-20). Pour les quatre extraits de la plante Euph (T éthanol) ; Euph (F éthanol) Euph (T éther) ; Euph (F éther). Les 4extraits ont manifesté les mêmes taches dans tous les systèmes. On peut remarquer à l'œil nu deux taches de couleur vert claire et marron au milieu de la plaque tandis que la plaque sous UV à 365 nm d'autre tâche très claire ont été identifié.

Cette migration indique que ces taches contiennent des molécules de polarité proche à celle de la phase stationnaire, c'est pourquoi ces derniers ont bien diffusé le long de cette phase.

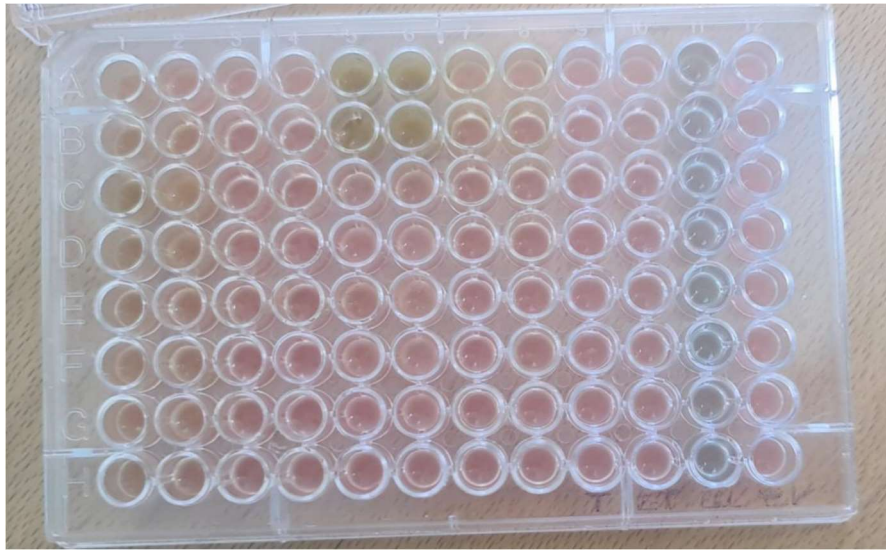
Les deux extraits de l'espèce *Euphorbia bupleuroids* ont présenté des taches qui ne sont pas visible à l'œil nu mais a 245 nm deux tache claire et proche du dépôt ont été observés et le reste de la phase mobile à migrer jusqu'au fond de la plaque.

On peut expliquer cette diffusion des extraits par le fait que les systèmes des solvants utilisé possède une grande polarité tandis que les constituants des extraits étudié sont des substances moins polaires donc il n'ont pas d'affinité pour la phase stationnaire et par conséquent l'éluant va entrainer les composés avec lui.

Après le développement par les systèmes et les révélations des plaques par différentes solutions, les chromatogrammes qu'on a obtenus font apparaître de très nombreuses taches, diversement colorées, voire les figures.

#### 4. Activité anti-moisissures

Ce test a été effectué dans le but d'évaluer l'activité antifongique des extraites après l'application des extraites étudiées (ETE<sub>t</sub>, EFE<sub>t</sub>, ETE<sub>r</sub>, EFE<sub>r</sub>) sur source tomate et l'observation visuelle pendant une période des 15 jours, les résultats sont présentés au-dessous :



**Figure 21** : Image de la plaque de l'activité anti-moisissures

**Tableau 11** : le taux d'infection des échantillons de la tomate traité par extraits de plante *Euphorbia bupleuroids* et éthanol, éther, cuivre.

ET éthanol	EF éthanol	ET éther	EF éther	Tomate (témoin)	Tomate + éthanol	Tomate + cuivre	Tomate + éther
0 %	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%

Les résultats montrent qu'il n'y a aucun changement au niveau des échantillons sur lesquels les extraits (ETE<sub>t</sub>, EFE<sub>t</sub>, ETE<sub>r</sub>, EFE<sub>r</sub>) sont appliqués, et donc tous les extraits de la plante *Euphorbia bupleuroids* subsp ont manifesté une excellente activité anti-moisissures avec un pourcentage de contamination égale 0%.

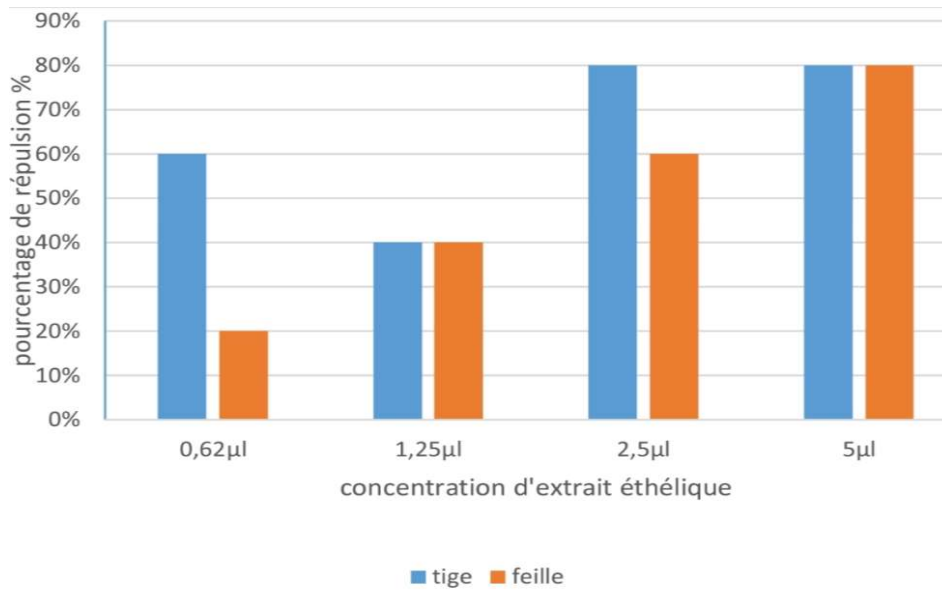
Étant donné que les tomates témoins et les tomates traitées avec des solutions d'éther, d'éthanol et de cuivre n'ont pouri, il se pourrait que notre expérience ait été faite dans un environnement très stérile. Ou le test est invalide.

## 5. Evaluation de la cytotoxicité

### 5.1. Evaluation de la réversibilité des extraits

#### ➤ L'extrait éthylique

Les pourcentage de répulsion des différentes doses d'extrait de *Euphorbia bupleuroides* subs (tige et feuille), sont récapitulés dans le Annexe 01. les différentes doses (0,62/1,25 /2,5/5) de extraite éthylique de *Euphorbia bupleuroides* subs ont occasionné respectivement 60%, 40%, 80%, 80% pour le extraite de tige de la plante et 20%, 40%, 60%, 80% pour feuille de la plante de répulsion vis –à-vis des adultes de *Tribolium Castaneum* (Figure 01) (Annexe 01). Ceci montre clairement que le pourcentage de répulsion augmente en fonction de la dose, l'effet le plus remarquable est enregistré avec la dose 5.



**Figure 14 :** pourcentage (%) de répulsion sur papier filtre des extraits éthyliques d'*Euphorbia bupleuroides* subsp vis-à-vis des adultes de *Tribolium Castaneum*.

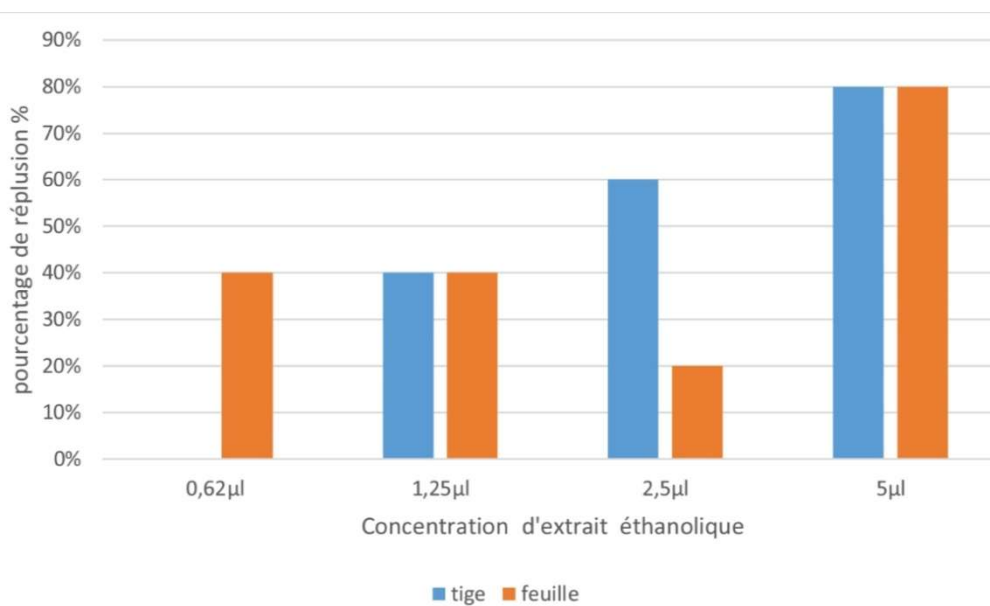
A la lumière de ces résultats, on peut noter que l'extrait de la plante *Euphorbia bupleuroides* subsp a également une activité insecticide à l'égard des adultes de *Tribolium Castaneum* et appartiendrait selon le classement de (McDonald et al., 1970) à la classe 4 (répulsive) avec un taux de répulsion moyen de 65%.

**Tableau 12 :** classement d'extrait éthylique d'*Euphorbia bupleuroides* subsp selon leur propriété de répulsion sur les adultes de *Tribolium castaneum*

<b>l'extrait éthylique</b>	<i>Euphorbia bupleuroides</i>
<b>Taux de répulsion %</b>	65
<b>Classe de répulsion</b>	IV
<b>Effet</b>	répulsive

➤ **L'extrait éthanolique**

Les pourcentage de répulsion des différentes doses d'extrait de *Euphorbia bupleuroids subsp* (tige et feuille), sont récapitulés dans le Annexe 02 .Les différentes doses (0,62/1,25 /2,5/5)de extraite éthanolique de *Euphorbia bupleuroids subsp*ont occasionné respectivement 0% ,40% , 60%, 80% pour le extraite de tige de la plante et 60%, 40% , 20%,40% pour feuille de la plante de répulsion vis –à-vis des adultes de *Tribolium Castaneum* (**Figure 12**) (Annexe 02). Ceci montre clairement que le pourcentage de répulsion augmente en fonction de la dose, l'effet le plus remarquable est enregistré avec la dose 5.



**Figure 15 :** pourcentage (%) de répulsion sur papier filtre des extraits éthanolique d'*Euphorbia bupleuroids subsp* vis-à-vis des adultes de *Tribolium castaneum*

A la lumière de ces résultats, on peut noter que l'extraite de la plante *Euphorbia bupleuroids subsp* a également une activité insecticide à l'égard des adultes de *Tribolium Castaneum* et appartiendrait selon le classement de (McDonald *etal.*, 1970) a la classe3 (modérément répulsion) avec un taux de répulsion moyen de 50%.

**Tableau 13 :** classement de extrait éthanolique de *Euphorbia bupleuroids sups* selon leur propriété de répulsion sur les adultes de *Tribolium Castaneum*

<b>l'extrait éthanolique</b>	Euphorbia bupleuroids
<b>Taux de répulsion %</b>	50
<b>Classe de répulsion</b>	III
<b>effet</b>	modérément répulsion

## **5.2. Evaluation de la toxicité des extraites par effet inhalation :**

La toxicité de l'extrait de *Euphorbia bupleuroids subsp* contre l'insecte *Tribolium Castaneum* a été évaluée par un test d'inhalation en comptant le nombre d'insectes, où les résultats obtenus ont montré qu'il a une excellente efficacité pour tuer les insectes de 100% en une période de deux heures, et la survie des insectes qui ont été exposés à l'éthylène et l'absence d'effet de l'extrait sur son cycle de vie après sa mise en boîte de Pétri contenant du blé après 24h après inhalation et les résultats sont présentés dans Annexe 03.

### **❖ Discussion**

En raison des effets nocifs des insecticides de synthèse sur la santé et l'environnement et du développement de la résistance des parasites, il est nécessaire de développer des stratégies de lutte antiparasitaire alternatives, plus sûres et plus efficaces. Les produits végétaux naturels peuvent être une excellente source alternative pour de nouveaux insecticides. Plante qui possède des propriétés insecticides. Les plantes sont un bon réservoir de produits chimiques génétiques pré-environnementaux. Certains des avantages des marqueurs phytosanitaires sont qu'ils sont sélectivement toxiques, ne se bio accumulent pas et présentent une persistance relativement courte dans l'environnement. Dans cette recherche, nous avons sélectionné l'extrait d'une plante éthiopienne nommée d'après *Euphorbia bupleuroids subsp*. Ce que nous avons obtenu, c'est que l'extrait a un effet sur la mort des insectes, où nous avons trouvé que l'extrait éthanolique a un effet efficace et rapide sur l'extrait éthylique dans les deux expériences 1 dans évaluation de la récursivité des extraits sur papier filtre en l'expérience sur papier, où la mort des insectes de 100% dans l'extrait d'éthanol en un temps très court 2 heure et l'extrait éthérique était le taux de mortalité en termes de jours, où il a fallu une période de 10 jours pour la mort, et cela peut être dû au manque de nourriture et non à cause de l'extrait. Dans la deuxième expérience, Evaluation de la toxicité des extraites par effet inhalation, nous avons présenté les résultats qu'un insecte *Tribolium Castaneum* est mort à 100% en moins de deux heures dans l'extrait éthanolique, et les insectes dans l'extrait éthanolique des flacon stérilisées sont restées vivantes et après 24 Une heure qui ont été placées dans du blé, on constate qu'il a continué dans son cycle de vie normal, et ces résultats peuvent en tirer que l'extrait de la plante *Euphorbia bupleuroids subsp* traité à l'éthanol a un fort effet toxique sur un insecte *Tribolium Castaneum*.

## 6. Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits de la plante

L'activité antibactérienne d'extraits (Ethanolique) d'*Euphorbia bupleuroids subsp* contient bien des composés bioactifs antimicrobiens qui exercent un effet inhibiteur sur la croissance des 6 souches (*E. coli* et *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *streptococcus thermophiles*, *Fusarium Oxysporum f.sp. lycopersici*, *Salmonella*) après 24 heures d'incubation à une température de 37°C.

Les zones d'inhibition calculées pour les six permettent de classer les souches dans la catégorie sensible. Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre. La variation de l'activité antimicrobienne de l'extrait explique les variations de leur composition chimique (Boudjouref, 2011). L'activité antimicrobienne est dépendante des caractères physico-chimiques des composés phytobiotiques et des souches employées (Sari *et al.*, 2006). (Kalembaet Kunicka, 2003) ont établi la corrélation entre la composition chimique et l'activité antimicrobienne, et ils ont classé les molécules chimiques selon leur importance du point de vue activités biologiques comme suit: phénols, alcools, Flavonoïdes, saponosides.

On peut aussi céder cette divergence aux facteurs influençant la composition chimique des plantes. Le pouvoir antimicrobien de l'extrait de plantes est tributaire de leurs compositions chimiques (Ben Sassi *et al.*, 2007 ; Naili *et al.*, 2010). De son côté, Dar *et al.*, (2012) associent l'efficacité antimicrobienne de l'extrait éthanolique d'*Euphorbia bupleuroids subsp* à leurs teneurs en composés phénoliques, et selon (Mukherjee, 2009) les flavonoïdes sont riches en rutine, en quercétine, connus par leur puissant pouvoir antimicrobien. Les travaux de nombreux auteurs ont montré que les plantes réagissent au milieu environnant et qu'au cours de leur vie, la composition chimique de leurs métabolites pouvait évoluer. Les extraits des végétaux sont donc très fluctuants dans leur composition, de la période de récolte ainsi de l'organe considéré. Selon (Balansard, 2007), en fonction de la date de la récolte il y'aura des variations très importantes dans la composition chimique et donc dans l'efficacité biologique. La maturité ou l'état phénologique de la plante au moment de la récolte sont difficiles à vérifier et à contrôler (Dethier, 1996). Sur une même tige, les feuilles ou les fleurs n'apparaissent pas simultanément et suivant leur âge, n'ont pas la même composition (Touche, 1997).

Ne faut pas oublier que le produit actif qui se présente dans la plante peut être soit actif sans être métabolisé et aura ainsi une activité *in vitro* et *in vivo*, soit actif après métabolisation et dans ce cas il sera inactif *in vitro* et actif *in vivo* (Chaouche, 2014).

La méthode utilisée pour l'évaluation de l'activité antibactérienne influe aussi sur les résultats (Natarajan *et al.*, 2005 ; Fazeli *et al.*, 2007). De plus, la méthode d'extraction et les solvants utilisés pour l'extraction pourraient être à l'origine de ces résultats car Hayouni et

al.,(2007) ont montré que la méthode d'extraction et la nature du solvant peuvent influencer l'activité antibactérienne des composés phénoliques des plantes.

Nous avons observé que parmi les souches testées, souches *E. coli* et *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *streptococcus thermophiles*, *Fusarium Oxysporum f.sp. lycopersici*, *Salmonella* qui sont des bactéries, montrent une sensibilité au l'extrait.

Il est observé que les différentes souches microbiennes étudiées réagissent différemment à l'extrait testé. L'extrait éthanolique du genre *Euphorbia bupleuroides subsp* présente un effet positif sur six bactéries le tableau et la figure représentent les résultats.

**Tableau 14** : les inhibitions des souches bactéries des extraits éthanolique

Les souches bactéries	Diamètres d'inhibition des extraits éthanolique	
	Tiges	Feuilles
<i>E. coli</i> ,	16 mm	18 mm
<i>Staphylococcus aureus</i>	12 mm	10 mm
<i>Salmonella</i>	18 mm	10 mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8 mm	7 mm
<i>Fusarium Oxysporum f.sp. lycopersici</i>	12 mm	7 mm
<i>streptococcus thermophiles</i>	12 mm	6 mm

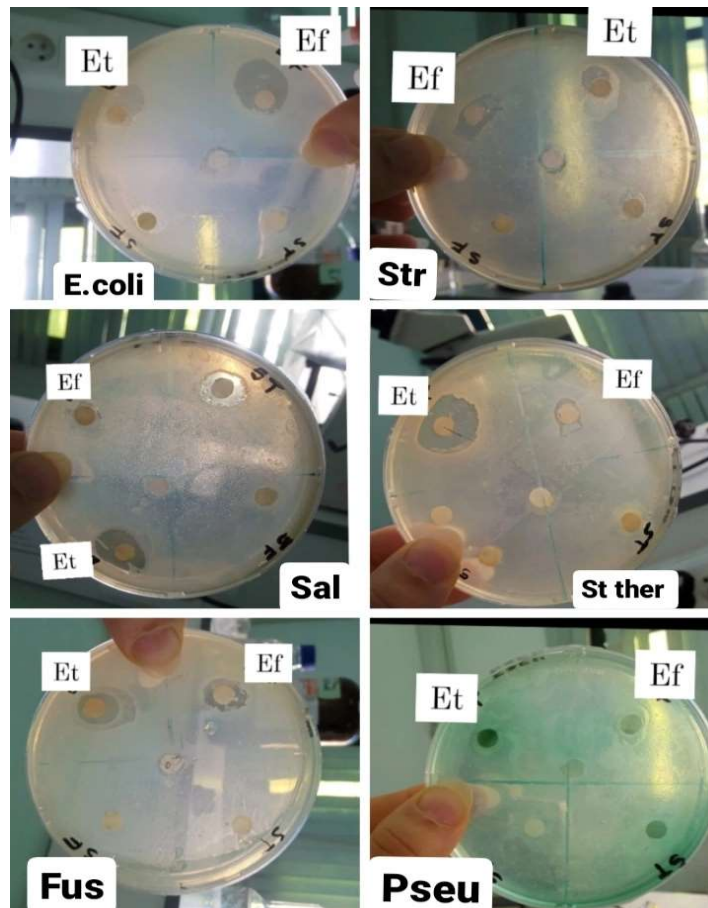


Figure 16 : les inhibitions des souches bactéries après 24h dans l'incubateur

D'après les résultats obtenus, nous remarquons qu'indépendamment de la nature de l'extrait, les bactéries possèdent une forte résistance. Cette résistance est en relation avec la nature de leurs membranes externes (imperméable à la plupart des agents biocides) (Faucher et Avril, 2002)

Enfin, l'activité antimicrobienne est dépendante des caractères physico-chimiques des composés phytobiotiques et des souches employées (Sari *et al.*, 2006). Kalemba et Kunicka,(2003) ont établi la corrélation entre la composition chimique et l'activité antimicrobienne, et ont classé les molécules chimiques selon leur importance du point de vue activités biologiques comme suit: phénols, alcools, flavonoïdes, éther.

# Conclusion

### Conclusion

Les plantes médicinales étaient toujours une source inépuisables de structures complexes et diverses vu un rôle que peuvent jouer certains composés purs dans beaucoup d'applications.

Les plantes synthétisent plusieurs substances des métabolites secondaires. Ces molécules peuvent avoir différents effets chez les insectes : répulsif, attractif, perturbateur du développement, inhibiteur de reproduction, etc.

Au cours de ces dernières années, et face à une législation de plus en plus restrictive sur l'application des insecticides, la recherche de phytoinsecticides s'inscrit dans une stratégie particulièrement adapté aux exigences du consommateur tout en préservant l'environnement.

Notre travail a pour objectif d'évaluer les activités biologiques et phytochimiques des extraits éthanœiques et éthylique de la plante *Euphorbia bupleuroids*. Cette étude a permis d'obtenir les résultats suivants :

- Les résultants du screening phytochimiques réalisé sur les extraits d'*E. bupleuroids subsp* mettent en évidence la présence des composés chimique qui possèdent des activités biologique intéressantes. Il s'agit entre autre des flavonoïdes, des glucides, des alcaloïdes, des sucres réducteurs, des saponosides et des composés phénolique.
- Les résultats de la chromatographie sur couche mince explique la diffusion des extraits par le fait que les systèmes des solvants utilisé possède une grande polarité tandis que les constituants des extraits étudiés sont des substances moins polaires donc il n'ont pas d'affinité pour la phase stationnaire et par conséquent l'éluant va entrainer les composés avec lui.
- Tous les extraits de la plante *Euphorbia bupleuroids subsp* ont manifesté une excellente activité anti-moisissures avec un pourcentage de contamination égale 0.
- La toxicité de l'extrait d'*Euphorbia bupleuroids subsp* contre l'insecte *Tribolium Castaneum* a été évaluée par un test d'inhalation en comptant le nombre d'insectes, où les résultats obtenus ont montré qu'il a une excellente efficacité pour tuer les insectes de 100%.
- D'après les résultats obtenus, nous remarquons qu'indépendamment de la nature de l'extrait, les bactéries possèdent une forte résistance. Cette dernière est en relation avec la nature de leurs membranes externes (imperméable à la plupart des agents biocides).

Il serait également très instructif d'explorer la composition chimique de l'extrait et de tester l'effet isolé et synergique des différentes constitutions des différents extraits de cette espèce végétale.

# Références Bibliographique

**Références bibliographiques**

1. Aouadhi, C., Ghazghazi, H., Hasnaoui, B., & Maaroufi, A. (2013). Comparaison de l'activité antifongique d'extraits méthanolique de trios plantes collectées du nord-ouest de la Tunisie. *Microbiol. Hyg. Alim* , 25 (73), 12-13.
2. Bougandoura, N., & Bendimerad, N. (2012). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp. Nepeta* (L) Briq. *Nature et Technologie* (09), 14.
3. Bourarach, K., Sekkat, M., & Lamnaouer, D. (1994). Activité insecticide de quelques plantes médicinales du Maroc. *Agron. Vet* , 14 (3), 32.
4. Curney, M., Pagel, M., & Touret, J. (1976). *Bulletin de la société française de minéralogie et de cristallographie*. Paris: Masson.
5. Diaz, J., Boussaa, S., & Boumezzough, A. (2022). Effet des extraits des feuilles de *Lantanacamera* et *ocimum basilicum* sur la dynamique des populations naturelles de phébotomes (Diptera: Psychodidae) dans des foyers de leishmaniose cutanée au Maroc. *Revue des Sciences Infirmières et Techniques de Santé* , 1 (2).
6. Favier, A. (2006). Stress oxudant et pathologies humaines. 64 (6), 390.
7. Ignatiadis, I., Schmitter, J. M., Guiochon, G., & Chromatogr, J. (1982). 246, 23.
8. Kalla, A. (2012). Etude et volorisatondes prncipes actifs de quelques plantes du sud algérien: *pituranthosscoparius*, *Ranthriumadpressum* et *Traganumnudatum*. 28. Constantine, Universitementouri, Algérie.
9. Omar Sarr, S., Dior Fall, A., Gueye, R., Diop, A., Diatta, K., Diop, N., et al. (2015). Etude de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Vitex doniana* (Verbenacea). *international journal of biological and chiminal sciences*. , 9 (3), 1264.
10. Picemail, J., Lecomye, J., Collet, E., Catiaux, J. P., & Dfraise, J. O. (2003). Stress oxidant,antioxydant etexecice physique. *Médecine Interne* , 8, 56.
11. RH, Z., H, M., & Fadila, M. (2018). Stress oxydatif : évaluation du pouvoir antioxydant de quelques plqntes médicinales. *Médecine translationnelle* , 24 (2), 134.
12. Schmitter, J. M., Ignatiadis, I., Guiochon, G., & Chromatogr, J. (1982). 248, 203.
13. Sen, S., & Chakraborty, R. (2011). The role of antioxidants in human health. *Oxidative stress* , 16-17.
14. Sinha, R. N., & Watters, F. L. (1985). Insectes nuisibles des minoteries, des silos-élevateurs, des usines à provendes et méthodes de désinfestation. Direction Générales de la Recherche Agriculture Canada.

15. Toppner, K., Hansen, D., & Herbig, E. (2014). Ultrapure water for HPLC analysis: the role of ultrapure water. GIT Verlag , 17, 3-4.
16. Tounsi, A. (2020). Evaluation de l'activité antioxydante et de l'effet anticorrosif des extraits phénoliques de plantes locales ( plantago ciliata et thymelia microphylla). Le diplôme de docteur en sciences , 6. Ouargla, Chimie, Algérie.
17. Tranchant, J. (1995). Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse. Masson.
18. Vangronsveld, J., Mocquot, B., Mench, M., & Clijsters, H. (1997). Biomarqueurs en écotoxicologie/ Aspects fondamentaux. Paris: Masson.
19. Yakhlef, G., Laroui, S., Hambaba, L., Aberkane, M. C., & Ayachi, A. (2011). Evaluation de l'activité antimicrobienne de Tymus vulgaris et de laurus nobilis , plantes utilisées en médecine traditionnelle. Ethnopharmacologie (9), 209.
20. Yala, J. F., Ntsameso-Mve-Mba, V., Azzizet Isembe, Y., Lepengue, N. A., & Souza, A. (2016). evaluation in vitro de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux d'Eryngium foetidum récolté dans la ville de Franceville. Journal of applied biosciences , 103, 9889.
21. Zbadi, R., Mohti, H., & Moussaoui, F. (2018). Stress oxydatif : évaluation du pouvoir antioxydant de quelques plantes médicinales. Médecine translationnelle , 24 (2), 134.
22. Amiot, M. J., Aubert, S., Gonnet, M., & Tacchi, M. (1989). Apidologie. Les composés phénoliques des miels : étude préliminaire sur l'indentification et la quantification par familles , 2 (20), 116-117.
23. Attia, A. (1999). Triterpenoidal saponins from the aerial parts of Zygophyllum coccineum L. and Zygophyllum fabago L. Pharmazie. Antiproliferative triterpene saponins from trevesia palmata (54) , 931-932.
24. Bégin, D., & Gérin, M. (1998). Les grandes familles de solvants organiques utilisations et aspects physico-chimiques. (éd. Masson). New york, United states: logiciel développé par le united states environmental protection agency of commercialisé par la société technical database servises.
25. Berthod, A., Billardillo, B., & Geoffroy, S. (1999). Polyphnol in countwrrent vbromatography (éd. Analisis . EDP. Sciences).
26. Bézanger, L. B. (1958). les alcanoides des plantes. Bulletin de la société Botanique de france , 268-270.
27. Bouayed, J., Ramma, H., Younes, C., Dicko, A., & Soulimani, R. (2008). caractérisation et bioévaluation des polyphénoles : nouveaux domaines d'application en santé et nutrition. phytonutrition expérimental , 71-72.

28. Boukhatem, M., Ferhat, A., & Kamel, A. (2019, Août 03). Méthodes d'extraction et distillation des huiles essentielles. *Revue Agrobiologia* , 9 (2) , 1654-1655. ALger, Département de Biologie et Physiologie cellulaire, Faculté des sciences de la vie, Algerie.
29. Boyd, T., & Carlucci, A. F. (1993). Degradation rates of substituted phenols by natural populations of marine bacteria. *Aquatic Toxicol* (25), 71-82.
30. Cannolly, J. D., & Hill, R. A. (1991). *Dictionary of terpenoides* .Chapman and hall (Vol. 1).
31. cannolly, J. D., & Hill, R. A. (2000). Triterpenoids. (17) , 463-464.
32. Chemat, f., & Lucchehesi, M. (2005). Extractions assistees par micro-onde des huiles essentielle et des extraits aromatiques. *J.Soc.Ouest-Africa.Chim.* , 78-80.
33. Cheynier, V., Fulcrand, H., Sarni, P., & Moutounet, M. (1997). application des techniques analytiques a l'etude des composés phynoliques :An analysis of the nucleotide seques from the plastid gene rbcL. 528-589.
34. Chira, K., Suh, C., & Saucier, P. L. (2008). Les polyphénoles du raisin. *Phytothérapie* , 75-76.
35. Curent, s. (2019). procédés de chauffage par micro-ondes: approches expérimentales et numériques des intractions avec les produits alimentaires. *Microwave heating processes : experimental and numerical approaches to intractions with food products* .
36. Devon, T. k., & Scott, I. A. (1972). *Handbook of naturally occurring compounds*.
37. Ghedira, K. (2005). Les flavonoides :structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Pharmacognosie* (4:162-169), 162.
38. Grenby, T. (1991). intense sweeteners for the food industry: an overview. *trend food sci technol* (2) , 2-6.
39. Hedges, J. I., & Dale, C. M. (1979). The characterization of plant tissues by their lignin oxidation products. *Geochim* (43), 1803-1807.
40. Heng, L., Vinchen, J. P., Koningsveld, v. G., Legger, L., Gruppen, H., Boekel, v., et al. (2006). Bitterness of saponins and their content in dry peas. *Food Agric* (86) , 1225-1226.
41. Hostettman, K., & Marston, A. (2005). *Chemistry and pharmacology of natural products. saponines* . Cambirge, Cambridge University Press.
42. Kitagawa, J. (2002). A natural sweetener and an important ingrediand in chinese medecine. *Licorice root* (74) , 1189-1190.
43. Kulshreshtha, M. J., Kulshreshtha, D. K., & Rastogi, R. P. (1972). the triterpenoids . *Phytochemistry* , 11 , 2369-2370.
44. Lasztity, I., Hidvegi, M., & Bata, A. (1998). Saponins in in food. (14) , 371.

45. Macheix, J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique , 200.
46. Mahato, S. B., Pal, B. C., & Nandy, A. K. (1992). structure elucidation of two L. Affre J.D .Thomson , M. Debusscle. 118-309.
47. Mahmoudi, S., Khali, M., & Mamoudi, N. (2013). Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleurs d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Nature et Technologie. B-Sciences Agronomiques et biologiques* (09), 35.
48. Martin, J. P., & Haider, K. (1971). The chemical nature of humic acid. *Soil Sci* , 111 (1), 54-63.
49. Massaux, G. (2012). Polyphénols: des alliés pour la santé. *Abeilles* (149), 1.
50. Mercier, B., Prost, J., & Prost, M. (2009). L'huile essentielle de terebenthine et sa partie la plus volatile (a- et B-pinènes): une revue bibliographique. *International journal of occupational medicine and environmental health* , 22 (4), 2.
51. Mohanto, S. B., Nandy, A. k., & Roy, G. (1991). triterpénoides .*phytochemistry*. (31), 2199-2249.
52. Mohato, S. B., & Sen, S. (1997). Advances in triterpenoid research. *Phychemistry* , 1185-1186.
53. Motamed, B., & Texier, H. (1999). Soucre et caractéristique des composés phénoliques dans l'estuaire de la seine. *Oceanologica Acta* , 23 (2), 168.
54. Nazzaro, F., Fratianni, F., Martino, L. D., Coppola, R., & Feo, V. d. (2013). Effet of essential oil on pathogenic bacteria. *Pharmaceuticals* (6), 1454.
55. Oda, K., Matsuda, H., Murakami, T., Katayama, S., Ohgitani, T., & Yoshikawa, M. (2000). Adjuvant and haemolytic activities of 47 saponins derived from medicinal and food plants. *Biological Chemistry* (381) , 67-68.
56. Oleszek, W., & Stochmal, A. (2002). triterpène saponines and flavonoïdes in the seeds of trifolium species . *Phytochemistry* (61) , 165.
57. Petit, P. R., Sauvaire, Y. D., Hillaire-Buys, D. M., Leconte, O. M., Baissac, Y. G., Posin, G. R., et al. (1995). Steroid saponins from fenugreek seeds: extraction, purification and ecology. 674-675.
58. Price, K. R., Johnson, I. T., & Fenchwick, G. (1987). the chimistry and biological signifiante of saponins in foods and feedstuffs. (26) , 27-135.
59. Schroder, H. (2010, Octobre). Exposition aux solvants organiques en milieu professionnel: quel risque pour le cerveau. pp. 76-77.

60. Spag, S., Light, M., & Van staden, J. (2004). Biological activities and distribution of plant saponins. *Journal of Ethnopharmacology* (98), 117-118.
61. Stanillas, G. D., & Jean Claude, A. (2010). Extraction liquide-liquide: théorie, application, difficultés. *Annalis de toxicologie analytique*, 22 (2), 51-52. Boulevard, France.
62. Tan, N., Zhou, J., & Zhao, S. (1999). Advances in structural elucidation of glucoronide oleanane type triterpene carboxylic acid 3,28-O-bisdesmosides. *Phytochemistry*, 153-154.
63. Tyler, N., J., & Gusta, D. (1981). the influence of nitrogen, phosphorus and potassium on the cold acclimatation of winter wheat (*Triticum aestivum* L). *Canadian Journal of plant Sciences*, 61 (4), 879.
64. Uematsu, Y., Hirata, K., & Saito, K. (2000). spectrophotometric determination of saponin in *Yucca* extract used as food additive. (83), 1451-1453.
65. Xu, R., Fazio, G. C., & Matsuda, P. T. (2004). On the origins of triterpenoid skeletal *Eclipta alba*. *Phytochemistry* (Vol. 65).
66. Yinyang, J., Mpondo, M. E., Tchata, M., Ndjib, R., Mvogo, O. P., & Dibong, S. (2014, March 04). les plantes à alcanoides utilisées par les populations des la ville de Douala (Cameroun). *Journal of Applied Biosciences*, 6603-6604.
67. Newman, D. J., Cragg, G. M. (2012). Natural Products As Sources Of New Drugs Over The 68. 30 Years from 1981 to 2010. *J. Nat. Prod.* Vol. (75): 311-335.
69. Guignard, J. L. (1996). *Biochimie Végétale*. Ed. Masson, Paris. France. 274 P.
70. Coffi, R., Philippe, E. T., ZannouBoukari, Et Glitho, I. (2012). Efficacité Des Composés Métabolites Secondaires Extraits Des Folioles Du Palmier A Huile.
71. Crozier, A., Clifford, M.N. and Ashihara, H. (2006) *Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet*. Blackwell Pub., Oxford, Ames, Iowa, xii, 372 p.
72. Sarni-manchado, P., & Cheyner, V. (2006). *Les polyphénols en agroalimentaire*, 1ère édition. TEC et DOC, Paris: 1.
73. Lutz, 1940 : Lutz, 1940. *Bulletin de la Société de plantes à huile essentielle*. *Chimicaland Biology*. 22, pp 497.
74. Bouquet A., 1972. *Pantes médicinaux du Congo-Brazzaville : Uvariopsis, Pauridiantha, Diospyros*. ORSTOM. Paris.
75. Nicholas, 1973: Nicholas H. J., 1973. *Phytochemistry. Organic metabolites*, Vol. 2, Yonkers, New York.

76. Erman, 1985: Erman W. F., 1985. Chemistry of monoterpenes, part B, Marcel Dekker, New York. European Journal of Pharmacology. 1991; 201:35-39
77. Erman, 1985: Erman W. F., 1985. Chemistry of monoterpenes, part B, Marcel Dekker, New York. European Journal of Pharmacology. 1991; 201:35-39
78. Bruneton J., 1987. Eléments de phytochimie et de pharmacognosie. Technique et Documentation, Lavoisier, Paris, France.
79. Croteau, 1986: Croteau F., 1986. Biochemistry of monoterpenes and sesquiterpenes of entretien, peintures, vernis, caoutchoucs, insecticides...). The Essential Herbs: spices and medicinal plants; Recent advances in botany horticulture and pharmacology. Vol. 1, Craken, Simon, Oryx Press, Phoenix.
80. Liu M., Yin H., Liu G., Dong JJ. Qian ZH. Miao JL., 2014. Xanthohumol, a Prenylated Chalcone from Beer Hops, Acts as an alpha-Glucosidase Inhibitor in Vitro. J Agric Food Chem; 62:5548–54.
81. Dhak K., 2013. Méthodes d'extraction et de séparation des substances naturelles. Université Kasdi Merbah Ouargla.
82. Gani Adil., Wani SM., Masoodi FA and Gousia Hamees., 2012. Whole-Grain Cereal Bioactive Compounds and Their Health Benefits: A Review. Department of Food Science and Technology, University of Kashmir, India.
83. Aichour, S. (2015). Etude chimique d'une Euphorbiaceae: Euphorbia bupeuroides. université el haj Lakhdar , 288. Batna, Algérie.
84. Aissa Jazy, M., Haidara, M., & Sanogo, R. (2018). Chromatographie sur couche mince et activité antiradicalaire d'extraits de Pupalia Lappacea (L.) Juss. Amarathaceae. European Scientific journal , 14 (3), 142-143.
85. Bentabet, N., Boucherit-Othmani, Z., & Boucherit, K. (2014). Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de Fredolia aretiodes de la région de Béchar en Algérie. Pharmacognosie , 2.
86. Bouchenak, O., Yahiaoui, K., Benhabyles, N., Laoufi, R., Arab, k., Toubal, S., et al. (2020, 06 20). criplage phytochimique et évaluation du pouvoir antioxydant des feuilles de communis L. et RHAMNUS ALATERNUS L. agrobiologia , 1751. Boumerdes, faculty of science University m'hamed Bougara-Boumerdes-Algérie, L'ALGERIE.
87. El haoud, H., Boufellous, M., Berrani, A., Tazougart, H., & Bengueddour, R. (2018, October 25). Screening phytochimique d'une plante medicinale: Mentha Spicata L. American Journal of innovation Research and Applied Sciences , 227.

88. Mamyrbekova-Bekro, J. K., Boua, B. B., Kouassi, K. C., & Békro, Y. (2013). Sur l'analyse qualitative et pharmacologique de 2 plantes anti-hypertensives utilisées à N'gramanssabo eb Côte d'Ivoire. *Nature et Technologie* , 08, 2.
89. Sivakumar, G., Gopalasatheeskumar, K., Gowtham, K., Sindhu, E., Raj, K. A., Rajaguru, B., et al. (2020). Phytochemical analysis, Antioxidant and Antiarthritic activities of different solvent extract of *Aegle marmelos* L. *Research Journal of Pharmacy and Technology* , 13 (6), 2759-2763.
90. Gachkar, L., Yadegari, D., Rezaei, M.B., Taghizadeh, M., Astaneh S.A., Rasooli, I, 2007. Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chem.*, 102: 898-904
91. Rojas A., Hernandez L., Pereda-Miranda R., Mata R, (1992) Screening for antimicrobial activity of crude drug extracts and pure natural products from Mexican medicinal plants. *J. Ethnopharmacology*. 35: 275-283.
92. Ben Sassi A., Harzallah-Skhiri F., and Aouni M, (2007). Investigation of some medicinal plants from Tunisia for antimicrobial activities. *J. Pharmaco. Bio.* 45 (5): 421–428.
93. Naili M.B., Alghazeer O.A., Saleh N.A., Al-Najjar A.Y, (2010). Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia campestris* (Astraceae) and *Ziziphus lotus* (Rhamnaceae). *Arab. J. Chem.* 3: 79–84.
94. Boudjouref M, (2011). Etude de l'activité antioxydant et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. P-51.
95. \_Sari M., Biondi D. M., Kaâbeche M., Mandalari G., D'Arrigo M., Bisignano G., Saija
96. A., Daquino C., Roberto G, (2006). Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of several populations of Algerian *Origanum glandulosum* Des f. *Flavour and Fragrance Journal*. 21: 890-898.
97. \_Kalembe D, Kunicka A, (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry*. 10: 813-829.
98. \_Ben Sassi A., Harzallah-Skhiri F., and Aouni M, (2007). Investigation of some medicinal plants from Tunisia for antimicrobial activities. *J. Pharmaco. Bio.* 45 (5): 421–428.
99. Naili M.B., Alghazeer O.A., Saleh N.A., Al-Najjar A.Y, (2010). Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia campestris* (Astraceae) and *Ziziphus lotus* (Rhamnaceae). *Arab. J. Chem.* 3: 79–84.
100. Dar, S. A., Ganai, F. A., Yousuf, A. R., Balkhi, M.-H., Bhat, T. M., & Sharma, P, (2012). Pharmacological and toxicological evaluation of *Urtica dioica*. *Pharmaceutical Biology*, 51(2), 170–180.

## *Références Bibliographique*

---

101. Mukherjee P.K., Houghton P.J, (2009).Evaluation of herbal medicinal products. ThePharmaceutical Press. 519p.
102. Balansard G., (2007) Analyse critique des protocoles pharmacologiques utilisés pour la recherche d'extraits et de substances pures d'origine végétale à propriétésAntibactérienne ou antiparasitaire. Revue ethnopharmacologie.42.
103. Dethier M, (1996). Contribution à l'étude des plantes aromatiques du Burundi, Thèse de doctorat, Université de Montpellier II, 275 p.
104. Touche J, (1997). Représentativité et reproductibilité des extraits de végétaux Aromatiques.
105. Tita, I., Mogusam, G.D, (2009). Ethnobotanical inventory of medicinal plants from the south-west of Romania, Pharmacia, 57 (2): 141-156.
106. Chaouche T. M, (2014). Contribution à l'étude des activitésantioxydants et antimicrobiennes des extraits de quelques plantes médicinales. Thèse de Doctorat EnBiologie Option : Biochimie. Université de Tlemcen. 122 pages.
107. Natarajan, D., Britto J. S., Srinivasan, K., Nagamurugan, N., Mohanasundari, C.&Perumal, G, (2005).Antibacterial activity of Euphorbia fusiformis– a rare medicinal HerbJournal of Ethnopharmacology.102: 123-126.
108. Fazeli F., Ghorbanli M., Niknam V, (2007): Effect of drought on biomass, protein content, lipid peroxidation and antioxidant enzymes in two sesame cultivars. BiologiaPlantarum, 51:98–103.
109. Hayouni E A., Abedrabba M., Bouix M., Hamdi M, (2007). The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities *in vitro* of Tunisian.

# Annexe

## Annexe

Annexe1 : Nombre d'adultes *Tribolium Castaneum* recensées dans les deux moitiés de papier filtre (T; la zone traité et N; la zone non traité) traité à différentes doses d'extraits éthylique de Euphorbia .et le pourcentage de répulsion de chaque dose.

Concentration Le temps	feuille								Tige							
	0.62		1.25		2.5		5		0.62		1.25		2.5		5	
	T	N	T	N	T	N	T	N	T	N	T	N	T	N	T	N
Jour01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Jour04	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Jour07	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Jour10	8	2	7	3	9	1	9	1	6	4	9	1	7	3	8	2
Pourcentage de répulsion%	60%		40%		80%		80%		20%		40%		60%		80%	

Annexe2 : Nombre d'adultes *Tribolium Castaneum* recensées dans les deux moitiés de papier filtre (T ; la zone traité et N ; la zone non traité) traité à différentes doses d'extraits éthanolique de Euphorbia .et le pourcentage de répulsion de chaque dose.

Concentration Le temps	Feuille								tige							
	0.62		1.25		2.5		5		0.62		1.25		2.5		5	
	T	N	T	N	T	N	T	N	T	N	T	N	T	N	T	N
Jour01	8	2	7	3	6	4	7	3	5	5	7	3	8	2	9	1
Jour04	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Jour07	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Jour10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pourcentage de répulsion%	60%		40%		20%		40%		0%		40%		60%			

Annexe3 : Nombre d'adultes *Tribolium Castaneum* enregistré dans l'évaluation de la toxicité de l'extrait d'Euphorbia bupleuroids subsp par l'effet de l'inhalation en termes de temps.

	feuille								Tige							
	0.62		1.25		2.5		5		0.62		1.25		2.5		5	
	Er	Et	Er	Et	Er	Et	Er	Et	Er	Et	Er	Et	Er	Et	Er	ET
Jour01	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10
Jour04	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Jour07	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Jour10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0



## Résumé

Afin de valoriser et exploiter le patrimoine végétal dans plusieurs domaines pharmaceutiques, médicale agro-alimentaire. L'objectif de notre étude est d'évaluer l'activité biologique de des extraits préparés à partir des feuilles et des tiges d'*Euphorbia bupleuroides subsp* (Activité antimoississure, antioxydant et antimicrobienne) et la détermination de certains composés phytochimiques et leur teneur en molécules bioactives. Les tests de criblage phytochimique ont révélé sa richesse en composés phytochimique. Les extraits éthanöiques et éthyliques riches en polyphénols et des flavonoïdes sont effectuées par La chromatographie sur couche mince (CCM).

L'évaluation antimoississure de nos extraits réalisée par la méthode de la plaque de sauce tomate a montré que les extraits exercent une excellente réaction.

L'étude de l'activité anti-insecticide a été effectué par d'inhalation en comptant le nombre d'insectes, où les résultats obtenus ont montré qu'il a une excellente efficacité pour tuer les insectes et par effet contact, on peut noter que les extraits de la plante a également une activité insecticide à l'égard des adultes de *Tribolium Castaneum*, car la majorité des insectes sont mortes à l'effet des deux extraits éthanölique et éthylique.

L'activité antibactérienne; D'après les résultats obtenus, nous remarquons qu'indépendamment de la nature de l'extrait, les bactéries possèdent une forte résistance. Cette résistance est en relation avec la nature de leurs membranes externes (imperméable à la plupart des agents biocides).

Nos résultats peuvent être considérés comme prometteurs et justifient la poursuite des recherches, entre autres, sur l'identification des composants anti-insecticides antimoississure et antimicrobiens dans les extraits actifs.

**Mots clés:** *Euphorbia bupleuroides subsp*, les extraits, Activité antimoississure, antioxydant, antimicrobienne, insecticide, *Tribolium Castaneum*.

## Abstract

In order to enhance and exploit the plant heritage in several pharmaceutical, medical and agro-food field. The objective of our study is to evaluate the biological activity of extracts prepared from the leaves and stems of *Euphorbia bupleuroides subsp* (Antimold, antioxidant and antimicrobial activity) and the determination of certain phytochemical compounds and their content of bioactive molecules. Phytochemical screening tests revealed its richness in

phytochemical. the ethanoic and ethylic extracts rich in polyphenols and flavonoids was carried out by thin layer chromatography (TLC).

The anti-mold evaluation of our extracts carried out by the tomato sauce plate method showed that the extracts exert an excellent reaction. The study of the anti-insecticide activity was carried out by inhalation by counting the number.

The study of anti-insecticide activity was carried out by inhalation by counting the number of insects, Where the results obtained showed that it has an excellent efficiency in killing insects and by contact effect, we can note that the extracts of the plant also has an insecticidal activity with regard to the adults of *Tribolium Castaneum*, because the majority of the insects died with the effect of the two ethanoic and ethylic extracts.

Antibacterial activity; According to the results obtained, we notice that independently of the nature of the extract, the bacteria have a strong resistance. The resistance is related to the nature of their outer membranes (impermeable to most biocidal agents).

Our results can be considered promising and justify further research, among others, on the identification of anti-insecticidal, anti-mold and anti-microbial components in the active extracts.

**Key word:** *Euphorbia bupleuroides subsp*, extracts, Antimold, antioxidant, antimicrobial activity, insecticidal, *Tribolium Castaneum*.

#### ملخص

من أجل تعزيز واستغلال التراث النباتي في العديد من المجالات الصيدلانية والطبية والزراعية الغذائية. الهدف من دراستنا هو تقييم النشاط البيولوجي للمستخلصات الخضرة من أوراق وسيقان (*Euphorbia bupleuroides subsp*) نشاط مضاد للتعفن، مضاد للأكسدة ومضاد للميكروبات وتحديد بعض المركبات الكيميائية النباتية ومحتواها من الجزيئات النشطة بيولوجياً. أظهرت اختبارات الفحص الكيميائي النباتي ثرائه بالمركبات النباتية. تم إجراء المستخلصات لإثباتية وإثباتية الغنية بالبولىفينول والفلافونيدات بواسطة كروماتوغرافيا الرقيق.

أظهر التقييم المضاد للتعفن لمستخلصاتنا التي تم إجرائها بطريقة صفيحة صلصة الطماطم أن المستخلصات

تمارس تفاعلاً ممتازاً.

تمت دراسة النشاط المضاد للحشرات عن طريق حساب عدد الحشرات، حيث أظهرت النتائج التي تم الحصول

عليها أن لها كفاءة ممتازة في قتل الحشرات وبتأثير التلامس يمكن ملاحظة أن مستخلصات المبيدات الحشرية للنبته له

أيضاً نشاط مبيد حشري فيما يتعلق بالبالغين من (*Tribolium Castaneum*)، حيث ماتت غالبية الحشرات من تأثير المستخلصين الإثنوليين والإيثيليين

نشاط مضاد للجراثيم، وفقاً للنتائج التي تم الحصول عليها، نلاحظ أنه بغض النظر عن طبيعة المستخلص، تتمتع

البكتيريا بمقاومة قوية. ترتبط هذه المقاومة الطبيعية أغشيتها الخارجية (غير منفذة لمعظم عوامل المبيدات الحيوية).

يمكن اعتبار نتائجنا واعدة وتبرر إجراء مزيد من البحث، من بين الأمور الأخرى، حول تحديد المكونات المضادة

للحشرات والعفن والميكروبات في المستخلصات النشطة

**كلمات مفتاحية** *Euphorbia bupleuroids subsp*، المستخلصات، نشاط مضاد للتعفن، مضاد للأوكسدة، مضاد

للميكروبات، *Tribolium Castaneum*، المبيدات الحشرية،