

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE des Sciences.

DEPARTEMENT des sciences de
la Nature et de la Vie.

N°.....



DOMAINE : Sciences de la Nature et
de la Vie.

FILIERE : Biotechnologies.

OPTION : Biotechnologies Végétales.

Mémoire présenté pour l'obtention
Du diplôme de Master Académique

Par

MESSEHEL Latifa, NECHE Amal et SAIADEN Chahinez.

Intitulé :

**Evaluation de l'activité biologique des différents
Extraits du *Echium creticum* L. et *Euphorbia bupleuroides* subsp. L. .**

Soutenu devant le jury composé de :

BOUNAR Rabah	Pr.	Université de Msila	Président
GHADBANE Mouloud	Pr.	Université de Msila	Rapporteur
MEDJEKAL Samir	Pr.	Université de Msila	Examineur.

Année universitaire: 2022 / 2023



DEDICACE :

*A celui qui m'a indiqué la bonne voie...à mon père, Que dieu
Le protège. J'espère que je serai toujours à la Hauteur*

De ses espérances.

Ce mémoire est l'aboutissement De ces efforts.

A celle qui m'a attendu avec amour Les fruits de

Sa patience. Que dieu me la protège...à ma mère,

Qui m'a soutenue et entouré avec beaucoup d'affection.

A celui qui m'a toujours encouragé A mon marié Kamal qui

Est toujours à mes coté pour m'encourager, et mes copines Amel,

Chahinez et Imane

A mes anges mes sœurs et mon seul frère Mohammed que Dieu me

Les garde.

Enfin à toute A tous mes collègues de promotion et a

Toutes mes amies. Et à tous ceux qui ont

Contribué de près ou de loin pour

Que ce travail soit réalisé.

Latifa•



DEDICACE :

Je dédie ce modeste travail :

*A mes très chers parents. Aucun hommage ne pourrait être
à la hauteur de l'amour dont ils ne cessent de me combler.*

Que dieu leur procure bonne santé et longue vie Inchallah.

*A mon futur mari Souhaib qui est toujours à mes côtés,
qui m'a aidé et encouragée*

A mes soeurs surtt ma sœurs marwa

A mes copines : latifa, chahinez et imane.

Enfin à toute A tous mes collègues de promotion

et a toutes mes amies. Et à tous ceux qui ont

contribué de près ou de loin pour

que ce travail soit réalisé.

Amal.

DEDECACE

Je dédie ce modeste travail :

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, à toi mon père.

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; maman que j'adore.

Aux personnes dont j'ai bien aimé la présence dans ce jour, à mes frères oussama et aboud ; mes soeur Ahlam, malika, warda, noura et fatima je dédie ce travail dont le grand plaisir leurs revient en premier lieu pour leurs conseils, aides, et encouragements.

Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient toujours à mes côtés, et qui m'ont accompagné durant mon chemin d'études supérieures, mes aimables amis, collègues d'étude, et sœurs de cœur, toi ma belle saadia, imane et mes trinôme Latifa el Amal et toute sa famille.

*A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible,
je vous dis merci.*

Chahinez.

REMERCIEMENTS :

*Il est primordial de remercier « **ALLAH** » le Tout-Puissant de tout ce qu'il nous apporte dans la vie et de nous avoir donné la force et le courage pour réaliser ce travail.*

*Nous tenons tout d'abord à exprimer notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à notre promoteur, **Pr. GHADBANE Mouloud**, pour son savoir-faire, ses conseils, sa compétence, sa patience, son enthousiasme et l'attention particulière avec laquelle elle a suivi et dirigé ce travail.*

*Nos respects et notre reconnaissance vont au **Pr. BOUNAR Rabah**, pour avoir accepté de présider ce jury ainsi que sa disponibilité, son précieux aide qui trouve ici le témoignage de notre profonde considération.*

*Nous tenons à remercier **Pr. MEDJEKAL Samir**, d'avoir accepté d'examiner ce mémoire, et également pour sa disponibilité à notre égard.*

*Nous sommes essentiellement reconnaissantes à tout le personnel des laboratoires de département Scinces de la Nature et de la Vie, pour le climat sympathique et familiale dans lequel le travail a été réalisé. Particulièrement, je tiens à remercier les ingénieurs de laboratoire : **Laila, Samiha, Fairouze et Akribe fadila** .*

Nos sentiments de reconnaissance vont à toute personne ayant participé de près ou de loin dans la réalisation de notre travail.

Merci à tous ...

Sommaire

Résumé:.....	i
Liste des abréviations :	ii
Liste des figures.....	iii
Liste des tableaux :	iii
Introduction :	1
Chapitre I. Recherche bibliographique :	2
I.1. Plantes médicinales:	2
I.2. La famille de Borraginacées.....	2
I.2.1. Description botanique.....	2
I.2.2. Distribution des bourraches	3
I.2.3. Utilisation traditionnelle des bourraches	3
I.2.4. Genre <i>Echium</i>	3
I.2.5. <i>Echium creticum</i>	4
I.3. <i>Euphorbiaceae</i>	5
I.3.1. Description botanique.....	6
I.3.2. Distribution des <i>Euphorbiaceae</i>	6
I.3.3. Utilisation traditionnelle des <i>Euphorbiaceae</i>	6
I.3.4. Genre <i>Euphorbia</i>	7
I.3.5. <i>Euphoria bupleuroides subsp. L.</i>	7
I.4. Activité biologique	9
I.4.1. Activité antioxydant	9
I.5. Activité antibactérienne	9
Chapitre II. Matériel et méthodes :	10
L'Objectif :	10
II.1. Matériel végétal.....	10

II.2.	Extraction des substances bioactives.....	10
II.2.1.	Macération.....	10
II.2.2.	Evaporation.....	11
II.2.3.	Rendement.....	12
II.3.	Tests de screening phytochimique.....	12
II.3.1.	Sucre réducteurs.....	12
II.3.2.	Composés phénoliques.....	13
II.3.3.	Alcaloïdes.....	13
II.3.4.	Flavonoïdes.....	13
II.3.5.	Saponines.....	13
II.3.6.	Quinones.....	13
II.4.	Chromatographie.....	14
II.4.1.	Principe de chromatographie sur couche mince (CCM).....	14
II.4.2.	Protocole de chromatographie sur couche mince (CCM).....	14
II.5.	Activités biologiques des extraits d' <i>Echium creticum L.</i> et d' <i>Euphorbia bupleuroides subsp. L.</i>	15
II.5.1.	Activité antioxydant :.....	15
II.5.2.	Activité antibactérienne.....	16
II.5.3.	Analyse statistique.....	16
Chapitre III.	Résultats et discussion.....	17
III.1.	Rendement des extraits.....	17
III.2.	Résultats des tests.....	18
III.3.	Etude chromatographique par CCM.....	19
III.4.	Résultats de l'activité antioxydant.....	23
III.4.1.	Détermination de l'activité anti-radicalaire des extraits.....	23
III.4.2.	Détermination IC50.....	24
III.5.	Activités antibactériennes des extraits de <i>E. creticum</i> et <i>E. bupleuroides</i>	26

Conclusion :	29
Références bibliographiques :	30

ملخص:

ركزت هذه الدراسة الكيميائية النباتية على استخدام النباتات الطبية *Echium creticum L.* و *Euphorbia bupleuroides subsp.* في المجالات الطبية والصيدلانية. كانت الأهداف الرئيسية هي توصيف المركبات الكيميائية الموجودة في هذه النباتات ، وتقييم نشاطها المضاد للأكسدة والبكتيريا ، واستكشاف طرق جديدة للتطبيق. تم الحصول على المستخلصات الميثانولية والإيثانولية لهذه النباتات عن طريق الاستخراج واستخدمت لدراسة تأثيرها المضاد للأكسدة باستخدام طريقة DPPH ، وكذلك تأثيرها على ثلاث سلالات بكتيرية: *E. coli* و *Staphylococcus* و *Pseudomonas*. أظهرت النتائج تباينات في المحصول بين النباتين ، مع أفضل محصول تم الحصول عليه من المستخلص الميثانولي لنبات *E. creticum* (13.2%) وأدنى محصول من المستخلص الإيثانولي لـ *E. bupleuroides subsp.* (8%). أظهر تحليل المركبات الموجودة في المستخلصات وجود سكريات مختزلة ، صابونين ، فلاونويدات ومركبات فينولية. أظهرت المركبات الفينولية ارتباطاً مع النشاط المضاد للبكتيريا ، على الرغم من أن مستخلص *E. bupleuroides* أظهر نشاطاً أعلى قليلاً من مستخلص *E. creticum* ضد سلالة المكورات العنقودية. علاوة على ذلك ، أظهرت المستخلصات نشاطاً كبيراً كمضاد للأكسدة ؛ وتشير هذه النتائج إلى أن مستخلص بكتريا *E. creticum L.* نشاطاً أقوى مقارنة بمستخلص *E. bupleuroides subsp L.* تشير هذه النتائج إلى الإمكانيات العلاجية للنباتات المدروسة في المجال الطبي وتضمن مزيداً من البحث لاستكشاف تطبيقاتها بشكل أكبر.

الكلمات المفتاحية: *Echium creticum L.* ، *Euphorbia bupleuroides subsp. L.* ، نشاط مضاد للأكسدة، نشاط مضاد للبكتيريا

Abstract:

This phytochemical study focused on the use of the medicinal plants *Echium creticum L.* and *Euphorbia bupleuroides subsp.* in the medical and pharmaceutical fields. The main objectives were to characterize the chemical compounds present in these plants, to evaluate their antioxidant and antibacterial activity, and to explore new ways of application. The methanolic and ethanolic extracts of these plants were obtained by extraction and used to study their antioxidant effect using the DPPH method, as well as their effect on three bacterial strains: *E. coli*, *Staphylococcus* and *Pseudomonas*. The results showed yield variations between the two plants, with the best yield obtained from the methanolic extract of *E. creticum* (13.2%) and the lowest yield from the ethanolic extract of *E. bupleuroides subsp.* (8%). Analysis of the compounds present in the extracts revealed the presence of reducing sugars, saponins, flavonoids and phenolic compounds. Phenolic compounds showed a correlation with antibacterial activity, although the extract of *E. bupleuroides* showed a slightly higher activity than the extract of *E. creticum* against the *Staphylococcus* strain. Moreover, the extracts demonstrated significant antioxidant activity; these results suggest that the extract of *E. creticum L.* exhibits stronger activity compared to the extract of *E. bupleuroides subsp L.* These results suggest the therapeutic potential of the studied plants in the medical field and warrant further research to further explore their applications.

Keywords: *Echium creticum L.*, *Euphorbia bupleuroides subsp. L.*, antioxidant activity, antibacterial activity

Résumé:

Cette étude phytochimique s'est concentrée sur l'utilisation des plantes médicinales *Echium creticum L.* et *Euphorbia bupleuroides subsp.* Dans les domaines médical et pharmaceutique. Les objectifs principaux étaient de caractériser les composés chimiques présents dans ces plantes, d'évaluer leur activité antioxydante et antibactérienne, et d'explorer de nouvelles voies d'application. Les extraits méthanoliques et éthanoliques de ces plantes ont été obtenus par extraction et utilisés pour étudier leur effet antioxydant en utilisant la méthode DPPH, ainsi que leur effet sur trois souches bactériennes : *E. coli*, *Staphylococcus* et *Pseudomonas*. Les résultats ont montré des variations de rendements entre les deux plantes, avec le meilleur rendement obtenu à partir de l'extrait méthanolique d'*E. creticum* (13,2%) et le rendement le plus faible à partir de l'extrait éthanolique d'*E. bupleuroides subsp.* (8%). L'analyse des composés présents dans les extraits a révélé la présence de sucres réducteurs, de saponosides, de flavonoïdes et de composés phénoliques. Les composés phénoliques ont montré une corrélation avec l'activité antibactérienne, bien que l'extrait d'*E. bupleuroides* ait présenté une activité légèrement supérieure à l'extrait d'*E. creticum* contre la souche *Staphylococcus*. De plus, les extraits ont démontré une activité antioxydante significative ces résultats suggèrent que l'extrait d'*E. creticum L.* présente une activité plus forte par rapport à l'extrait d'*E. bupleuroides subsp L.* Ces résultats suggèrent le potentiel thérapeutique des plantes étudiées dans le domaine médical et justifient la poursuite de recherches supplémentaires pour explorer davantage leurs applications.

Mots clé : *Echium creticum L.*, *Euphorbia bupleuroides subsp. L.*, activité antioxydant, activité antibactériennes,

Liste des abréviations :

PMA : Plante médicinal et aromatique.

CCM : Chromatographie couche mince

Liste des figures

Figure 1- <i>Echium creticum</i> L. Aspect végétatif et florale (Prina et González, 2020).	4
Figure 2- <i>Euphorbia bupleuroides</i> subsp. Luteola (1. Port, 2. Feuille, 3. Fruit), Aflou, Photos K. Rebbas.....	8
Figure 4- les feuilles broyées pour les 2 espèces étudiées (Photos originaux).....	10
Figure 5- Extrait éthanologique de la plante <i>Euphorbia</i>	11
Figure 6- évaporation des extrait des plante (photo original).	12
Figure 7- Tests de screening photochimiques (photo original).	14
Figure 8- Rendement des extraits <i>E. creticum</i> L. et <i>E. bupleuroides</i> subsp. L.,	17
Figure 9- Capacité antioxydant de l'extrait méthanolique de l' <i>E. creticum</i> L.	23
Figure 10- Capacité antioxydant de l'extrait éthanologique de l' <i>E. bupleuroides</i> subsp L.	23
Figure 11- Représentation de l'inhibition de radical DPPH par l'estimation des	25

Liste des tableaux :

Tableau 1- classification systématique du <i>Echium creticum</i> L.	5
Tableau 2- Classification systématique de <i>Euphorbia bupleuroides</i> subsp L.....	8
Tableau 3- Les systèmes de la chromatographie sur couche minces	15
Tableau 4- Les concentrations de l'activité antioxydant:.....	15
Tableau 5- Valeurs de rendement d'extraits <i>E. creticum</i> L. et <i>E. bupleuroides</i> subsp. L.,.....	17
Tableau 6- résultats des tests sur l'extrait d' <i>E. bupleuroides</i> subsp.....	18
Tableau 7- résultats des tests sur l'extrait d' <i>E. creticum</i>	19
Tableau 8- résultats de la chromatographie sur couche mince des extraits <i>E. creticum</i> L. et <i>E. bupleuroides</i> subsp. L.	21
Tableau 9- Diamètre de zone d'inhibition des extraits bruts d' <i>E. creticum</i> L. et <i>E. bupleuroides</i> subsp L. sur la croissance de <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>E. Coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27

Liste des équations :

Equation 1 Formule de calculations de rendement 12



Introduction

Introduction :

L'histoire des plantes médicinales et aromatiques (**PMA**) est associée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples, montre que les plantes ont toujours occupé une place importante en médecine, dans la composition des parfums et dans les préparations culinaires. L'homme utilise les plantes depuis des milliers d'années, pour traiter divers maux. Le monde végétal est à l'origine d'un grand nombre de médicaments (**Lahrech, 2010**).

La plante médicinale est une plante utilisée pour ses propriétés thérapeutiques. Cela signifie qu'au moins une de ses parties (feuilles, tige, racine, etc.) peut être employée dans le but de se soigner. Leur efficacité relève, de leurs composés, très nombreux et très variés en fonction des espèces, qui sont autant de principes actifs différents (**Chadouli, 2012**).


Les extraits de plantes médicinales contiennent une variété de composés Phénoliques auxquels sont attribués diverses activités biologiques dont l'activité antioxydant et antimicrobienne (**Ghazghazi et al., 2013**). L'utilisation d'extraits de plantes et des composés d'origine végétale est des sources précieuses pour la médecine traditionnelle dans le traitement et la prévention d'un large éventail de maladies ; notamment des maladies infectieuses (**Al-Bayati, 2007**)

Les 2 plantes *Echium creticum* L., *Euphorbia bupleuroides subsp* L. qui appartiennent respectivement aux familles Boraginacées, Lamiacées, Astéracées possède des propriétés thérapeutiques. Sont utilisés dans plusieurs domaines comme pharmacologie, cosmétiques et médicament.

Dans ce contexte, notre étude vise deux objectifs :

- Préparation des extraits végétaux (extraits) à partir des (*Echium creticum* L., *Euphorbia bupleuroides subsp* L.)
- Évaluation qualitative et quantitative de ces plantes, et l'étude d'activité antibactériennes, et l'activité antioxydant de trois extraits préparés.

Notre mémoire est structuré en deux parties : la première représente des rappels bibliographiques sur des généralités sur les plantes, est consacré à une présentation botanique des familles. Quant à la deuxième partie, elle présente le matériel, les méthodes utilisées, résultats et discussion, et la conclusion.



Chapitre I :
Recherche
BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I. Recherche bibliographique :

I.1. Plantes médicinales:

Une plante médicinale est une plante qui contient de nombreux principes actifs qui lui confèrent ses propriétés thérapeutiques. Par conséquent, ils sont utilisés par l'homme en médecine ou en santé. Le nombre de plantes utilisées en médecine est estimé à 70 000 (**Daniel, 2006**).

Les plantes aromatiques et médicinales font partie de notre quotidien. On les trouve dans nos aliments, certaines boissons alcoolisées, des médicaments, des cosmétiques, des parfums, des colorants, etc. Dans les aliments, ils sont couramment utilisés pour leur goût, leur couleur et leur saveur, mais ils possèdent également de nombreuses propriétés, notamment des propriétés antioxydants, antimicrobiennes, médicinales et nutritionnelles (**Peter et al., 2012**).

I.2. La famille Borraginacées

Les Borraginacées (La bourrache) sont une famille d'angiospermes comprenant 1600 espèces organisées en 110 genres (**Cohen, 2013**). Il y a des herbes annuelles (*Heliotropium*), des arbustes et des arbres. De manière caractéristique, les tiges et les feuilles sont couvertes de poils durs, ce qui lui donne un aspect rugueux (**Sambamurty, 2005**). Les Boraginacées ont une distribution mondiale. Les espèces de Boraginaceae ont de nombreuses utilisations, mais ont peu d'importance économique, sauf pour certaines plantes ornementales, à bois et tinctoriales. De nombreuses plantes de consoude ont des propriétés médicinales et sont utilisées en médecine traditionnelle pour traiter les plaies, les maladies de la peau, la fièvre, les douleurs thoraciques, etc. (**Neuwinger, 2000**).

I.2.1. Description botanique

La bourrache est une plante annuelle mesurant entre 30 et 80 cm de hauteur. La tige est creuse et velue. Les larges feuilles alternes portent de longs poils hérissés sur toute leur surface, ce qui est propre à la famille des borraginacées. Les parties vertes de la plante dégagent une forte odeur de concombre. Elle produit en abondance de petites fleurs en forme d'étoiles passant du violet au bleu ciel, puis au rose lorsqu'elles commencent à décliner. Celles-ci sont comestibles, mais doivent être détachées du calice velu à cinq sépales et des akènes regroupés en quatre graines au centre de la fleur. La floraison éphémère se renouvelle quotidiennement et s'étale généralement sur deux mois, de la mi-juillet à la mi-septembre au Québec. Les graines brunes

noirâtres dépourvues d'albumen parviennent à maturité de façon graduelle. Les fleurs sont auto-stériles et la pollinisation doit être assurée par les insectes(**Organisme, 2010**).

I.2.2. Distribution des bourraches

Les genres d'arbres sont pantropicales et subtropicales, tandis que les genres d'herbacées sont distribués dans le monde entier bien que particulièrement abondants dans la région Méditerranéenne et en Asie tempérée chaude. Ils se produisent dans un large éventail d'habitats à partir du niveau de la mer à plus de 4.000 mètres d'altitude (**Heywood et al., 2007**).

I.2.3. Utilisation traditionnelle des bourraches

Traditionnellement, on reconnaît un usage médicinal aux fleurs de bourrache auxquelles on attribue des propriétés diurétiques, fébrifuges et sudorifiques. Elles sont également utilisées pour soulager les affections des voies respiratoires et les irritations cutanées.

Les herboristes utilisent les parties aériennes, c'est-à-dire les feuilles, les tiges et les fleurs fraîchement cueillies, en infusion, seules ou en mélange avec d'autres plantes. Cependant, en 1991, la Commission E a estimé qu'il n'existait pas de preuves suffisantes pour reconnaître aux parties aériennes une efficacité thérapeutique (**Blumenthal et al., 2000**).

D'après le Compendium des monographies, l'huile de graine de bourrache serait une source d'acides gras oméga-6 (**Organisme, 2006**). Certaines études ont démontré les bienfaits de l'huile pour soulager les symptômes de la polyarthrite rhumatoïde.

I.2.4. Genre *Echium*

La vipérine (*Echium*) appartient à la famille des borraginacées qui sont des plantes dicotylédones, herbacées et vivaces.

La vipérine est une plante bisannuelle, verte, de 30 à 80 cm de longueur qui peuple les terres non cultivées, terrains caillouteux et les zones côtières. La plante est entièrement recouverte des poils rapides. Elle possède une tige dressée ordinairement très rameuse portant des feuilles hispides de 2 à 25 cm de longueur. Sa longue panicule en forme d'épi regroupe des fleurs de couleurs bleues ou violacées (**Bock, 2012**).

I.2.5. *Echium creticum*

Echium creticum L. est une plante annuelle ou bisannuelles et herbacée appartenant aux Borraginacées famille. Plantes dressées, hispides, couvertes de poils à base tuberculée sur les tiges et les feuilles, de 25 à 90 cm de hauteur avec une à plusieurs tiges florifères, densément feuillues avec des poils rétrorse jaunâtres sur toute leur longueur, accompagnés de trichomes plus gros. Long et patent avec une base blanchâtre tuberculée. Feuilles basales et caulinaires inférieures étroitement oblancéolées, longues de 618 cm. x 12,5 cm de large, plus petites, étroitement elliptiques ou oblongues, feuilles caulinaires sessiles densément hispides avec des bases tuberculées de poils blancs brillants. Inflorescences ramifiées et paniculées. Calice de 79 mm de long en anthèse jusqu'à 1011 mm en fructification. Corolle fundibuliforme, légèrement zygomorphe, de 1540 mm de long, de couleur pourpre intense (Prina et González, 2020).

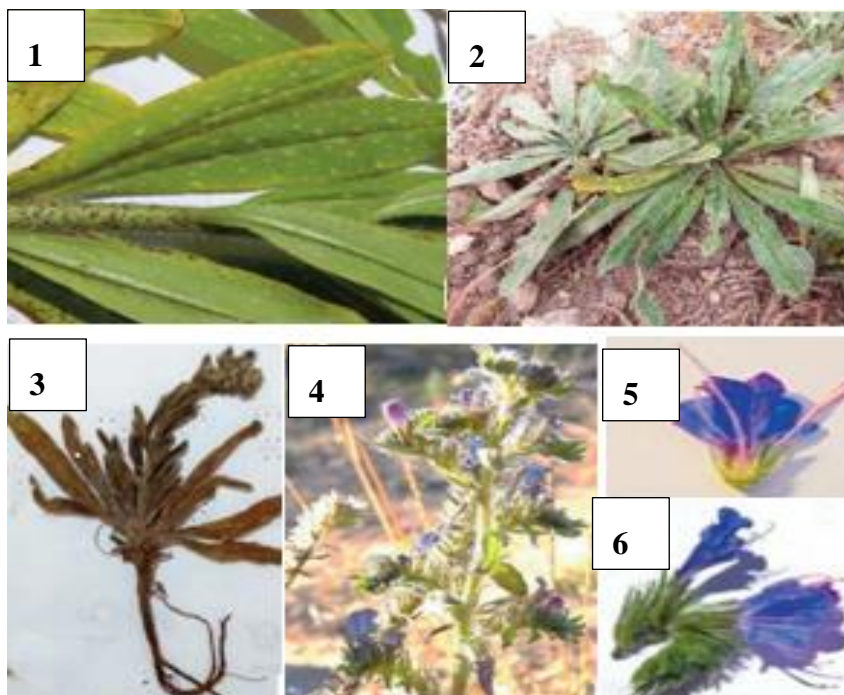


Figure 1- *Echium creticum* L. Aspect végétatif et florale (Prina et González, 2020).

1 : aspect végétatif, 2 : rosette basale, 3 : plante complète, 4 : hampe florale, 5 : fleur en coupe longitudinale et 6 : détail de l'inflorescence.

I.2.5.1. Caractéristiques systématiques

Tableau 1- classification systématique du *Echium creticum* L.

Règne	<i>Plantae</i>
Embranchement	<i>Spermatophyta</i>
Sous-embranchement	<i>Angiosperme</i>
Classe	<i>Dicotylédone</i>
Ordre	<i>Tubiflorae</i>
Famille	<i>Boraginaceae</i>
Genre	<i>Echium</i>
Espece	<i>Echium creticum</i> L.

I.2.5.2. Distribution géographique

Originnaire de la Méditerranée orientale, elle est répartie dans tout le bassin, jusqu'au sud du Portugal dans les champs et les accotements abandonnés (**Valentine et al, 1972**).

I.3. *Euphorbiaceae*

La famille Euphorbiaceae comprend environ 10000 espèces regroupées dans 300 genres (**Ozenda, 1991**). Elle est considérée comme l'une des familles les plus vastes et les plus cosmopolites que compte le sous embranchement des Angiospermes de la classe des Dicotylédones (**Spichiger, 2000**) Ce sont arbres, des buissons, des lianes ou des herbacées, souvent à latex. Il s'agit de plantes généralement toxiques, à alcaloïdes, tanins... ect.

Les Euphorbiaceae poussent partout, sauf dans les régions antarctiques et les sommets des hautes montagnes (**Bruneton, 1996**) Arbres ou buissons, lianes ou plantes succulentes, elles élaborent souvent une matière visqueuse de couleur blanche appelée latex, irritant pour les yeux et provoquant des rougeurs sur la peau. Cette famille est très hétérogène. Les plantes

qui la constituent varient à la fois par leur appareil végétatif ainsi que par la structure de leurs fleurs(**Ozenda, 1991; Bruneton, 1996**).

I.3.1. Description botanique

Les plantes qui la constituent varient à la fois par leur appareil végétatif ainsi que par la structure de leurs fleurs (**Ozenda, 1991; Bruneton, 1996**).

Les feuilles à formes très variables, sont en général longuement pétiolées, alternes, voire plus rarement opposées, simples ou composées, palmatinervées ou pennatinervées, pour certaines espèces, elles sont réduites à des épines. Le limbe est le plus souvent denté. Des glandes sécrétrices sont généralement présentes sur le pétiole, le limbe et la marge du limbe(**Ozenda, 1991 ; Spichiger, 2000**).

Les inflorescences sont très variables puisqu'il s'agit de cymes, de thyrses, de grappes, d'épis ou de panicules, généralement bisexués.

Le fruit est une capsule tricoque à déhiscence loculicide, septicide ou encore un schizocarpe à déhiscence explosive. La graine est albuminée et caronculée (**Ozenda, 1991; Spichiger, 2000**).

Les fleurs sont déclines et rarement isolées, plus souvent groupées en grappes et chez certains genres réunies pour former un dispositif appelé cyathe, comme dans le genre *Euphorbia*.

I.3.2. Distribution des *Euphorbiaceae*

Les *Euphorbiaceae* sont bien représentées au Sahara septentrional dans des régions chaudes et tempérées (euphorbes cactiformes d'Afrique ou d'Amérique). Et en Europe, En France on trouve deux genres : Euphorbe et Mercuriale (**Spichiger,2000**).

I.3.3. Utilisation traditionnelle des *Euphorbiaceae*

Les plantes *Euphorbiaceae* sont largement et universellement utilisées en médecine populaire pour guérir bon nombre de maladies (**Bellakhdar, 1997**). Cette utilisation à grande échelle par les sociétés primitives, en fait un argument prépondérant qui justifie les travaux intensifs de recherches réalisés tant du point de vue phytochimique que pharmacologique. A ce jour, nombre d'espèces sont utilisées en médecine traditionnelle. On citera (**Haba,2008**) :

Chrozophora brocchiana (Vis.) Schweinf. : Les cendres de cette espèce sont employées par les touaregs, particulièrement dans le sud d'Algérie, pour soigner les plaies des dromadaires. Elles s'avèrent plus efficaces que le goudron.

Chrozophora tinctoria L. A. Juss. : Dans la région d'Agadir (Maroc), les graines de cette plante sont utilisées pour leurs propriétés purgatives et émétiques.

Euphorbia antiquorum L. : Cette plante originaire de l'Inde et du Sri Lanka, est utilisée entièrement pour traiter les infections cutanées. Le latex est employé contre la grippe et pour soigner les problèmes des voies respiratoires, principalement la bronchite.

Euphorbia kansui L. : Les racines séchées de cette plante, connues sous le nom de «Kansui » dans la médecine traditionnelle chinoise, sont préconisées comme remède contre le cancer.

Euphorbia cyparissias L. : Les graines de cette espèce renfermant des saponosides, sont utilisées pour leurs propriétés purgatives et anti-inflammatoires.

I.3.4. Genre *Euphorbia*

Présentation du genre *Euphorbia* La famille des *Euphorbiaceae* comprend environ 300 genres et 10000 espèces dont 1600 pour le seul genre *Euphorbia*. Ce dernier est le plus représentatif de cette famille (**Ozenda,1991; Spichiger,2000**). Les plantes du genre *Euphorbia* sont bien représentées au Sahara septentrional et en Europe.

le genre *Euphorbia* accumulent des stérols, des triterpénoïdes et diterpénoïdes (**ohyama et al., 1984**). Ces plantes produisent le latex blanc jaunâtre lorsque les pousses sont rayés (**saigo, 1983**). Les principales composantes du latex d'*Euphorbia* sont triterpènes (**yamamoto et al., 1981**), fissurés ou fermentés et peuvent être utilisés comme combustible (**depeyre et al., 1994**).

I.3.5. *Euphorbia bupleuroides* subsp. L.

C'est la plus grande de la famille des phanérogames, qui sont des plantes vénéneuses : plantes dangereuses pour l'homme et les animaux, cette plante se caractérise par un latex liquide blanc, très toxique, tout comme les graines utilisées autrefois comme laxatif (**Aichour, 2015**).



Figure 2- *Euphorbia bupleuroides subsp. Luteola* (1. Port, 2. Feuille, 3. Fruit), Aflou, Photos K. Rebbas.

I.3.5.1. Caractéristiques systématiques

Tableau 2- Classification systématique de *Euphorbia bupleuroides subsp L.*

Règne	<i>Plantae</i>
Embranchement	<i>Spermatophyta</i>
Sous-embranchement	<i>Angiosperme</i>
Classe	<i>Dicotylédone</i>
Ordre	<i>Tubiflorae</i>
Famille	<i>Euphorbiaceae</i>
Genre	<i>Euphorbia</i>
Espece	<i>Euphorbia bupleuroides subsp L.</i>

I.3.5.2. Distribution géographique

Les espèces du genre *Euphorbia* succulentes sont des arbustes distribués dans les régions subtropicales en Afrique de l'Est, du l'Amérique de sud, Asie de l'Est et en Inde. Ces plantes augmentent leur biomasse rapidement dans les semi-déserts (**Maugh, 1976**).

I.3.5.3. Composition chimique de l'espèce

Le seul travail traitant de la phytochimie de cette espèce est (**Aichour, 2015**), l'extraction des racines des plantes d'*Euphorbia* suivie d'une séparation chromatographique, de 20 métabolites secondaires dont 2 diterpènes, 12 triterpénoïdes et 6 composés phénoliques à partir d'un extrait au dichlorométhane de la racine d'*Escherichia coli*. Bupleuroides, 17 métabolites secondaires ont été identifiés dont 3 nouvelles structures : un diterpène de type phorbol, un triterpène à squelette ergostane et un triterpène cycloalcane. Les 14 composés connus se répartissent en 1 diterpénoïde, 9 triterpénoïdes, 2 coumarines et 2 lignanes. Les extraits d'acétate d'éthyle des racines des espèces d'*E. bupleuroides* ont fourni 3 métabolites secondaires, dont des stéroïdes glycosylés et 2 flavanes.

I.4. Activité biologique

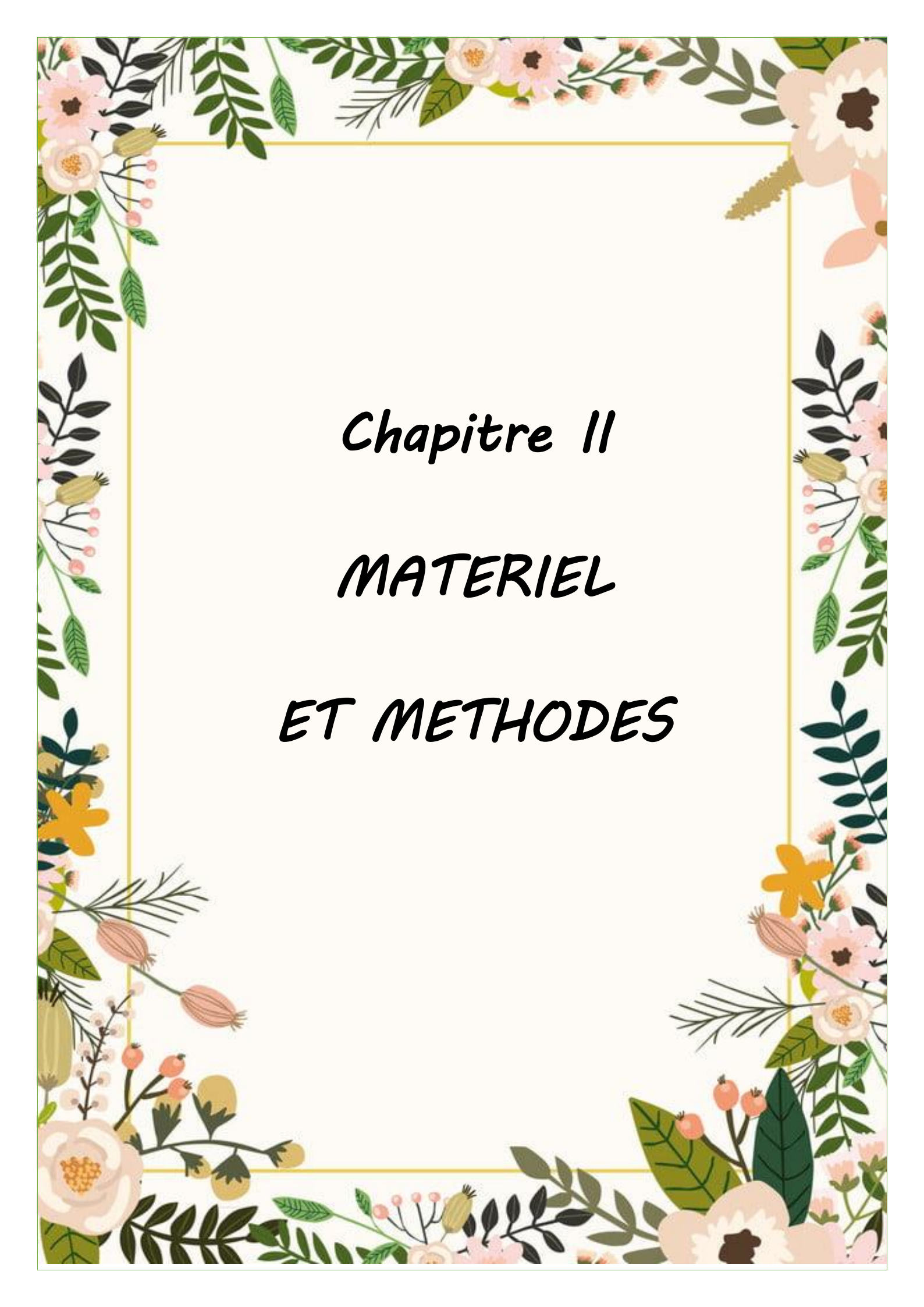
I.4.1. Activité antioxydant

Radicaux libres, espèces réactives de l'oxygène (ROS), stress oxydatif et antioxydants deviennent des termes de plus en plus familiers aux professionnels de santé et même au grand public. Le stress oxydatif est le résultat d'un déséquilibre entre la production de radicaux libres et le système de défense antioxydant (**Fendri et al., 2006**). Ce déséquilibre survient lorsque le système de défense antioxydant est surmené par une augmentation des oxydants ou lorsque l'apport et/ou la production d'antioxydants affaiblit le système de défense (**Kirschvink et al., 2008**).

I.5. Activité antibactérienne

Le terme "agent antimicrobien" désigne toute substance utilisée pour détruire les micro-organismes ou empêcher leur croissance, y compris, agents antibactériens. Les agents antimicrobiens sont utilisés depuis des décennies pour traiter les maladies transmissibles et prévenir les infections (**Cce, 2001**). Le mode d'action de ces agents sur les bactéries, peuvent être : Bactériostatique, lorsque la substance inhibe la multiplication des bactéries ou

bactéricides : lorsque la substance détruit totalement les bactéries.



Chapitre II

MATERIEL

ET METHODES

Chapitre II. Matériel et méthodes :

L'Objectif :

Cette étude expérimentale se divise en deux parties :

- **La 1^{ère} partie:** L'activité antioxydante des différents extraits en utilisant la technique suivante: la réduction du piégeage du radical libre DPPH.
- **La 2^{ème} partie:** Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion de puits.

II.1. Matériel végétal

Nous avons étudié la partie aérienne des plantes *Echium creticum* L. et *Euphorbia bupleuroides subsp L.*

Les parties aériennes de 2 espèces sont broyées par un broyeur pour obtenir les matériaux végétaux finaux.



Figure 3- les feuilles broyées pour les 2 espèces étudiées (Photos originaux)

II.2. Extraction des substances bioactives

II.2.1. Macération

II.2.1.1. Principe

La macération (**l'extraction type solide-liquide (ESL)**) est une opération qui consiste à laisser la poudre du matériel végétal en contact prolongé avec un solvant pour en extraire les principes actifs. C'est une extraction qui se fait à température ambiante.

II.2.1.2. Préparation de l'Extraits bruts par l'extraction type solide-liquide :

Pour préparer l'extrait éthanolique/aqueux pour *Euphorbia bupleuroides subsp L.* et l'extrait méthanolique/aqueux pour *Echium creticum L.*, un échantillon de 50 g de matière végétale a été plongé dans 100 ml de solution 80% d'éthanol et dans 100 ml de solution 80% méthanol respectivement, et 100 ml d'eau distillée pour l'extrait aqueux. Le processus d'immersion a été réalisé pendant 48 heures à température ambiante dans un environnement sombre, et la macération a été répétée trois fois. Le mélange obtenu a ensuite été filtré à travers de la gaze, puis à travers du papier filtre Whatman (n°3).

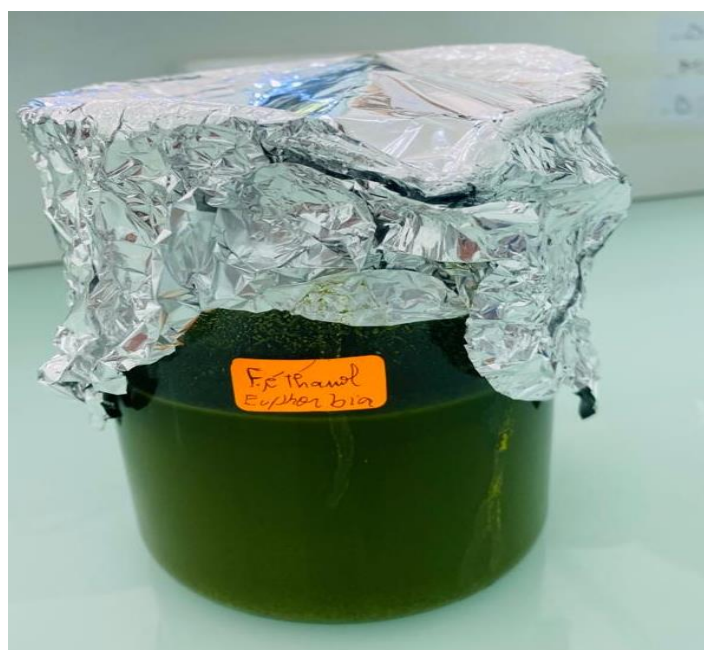


Figure 4- Extrait éthanolique de la plante *Euphorbia bupleuroides subsp L.* (photo original).

II.2.2. Evaporation

Le filtrat résultant a été ajouté et évaporé à sec en utilisant un évaporateur rotatif à une température de 35°C. Les extraits secs ont été conservés au réfrigérateur à 4°C jusqu'à utilisation. Le résidu obtenu est déterminé en poids pour calculer le rendement.



Figure 5- évaporation des extrait des plante (photo original).

II.2.3. Rendement

Le rendement signifie la masse de l'extrait obtenu après évaporation du solvant par rapport à la masse initiale de la graine soumise à l'extraction.

Le pourcentage en extrait bruts sec éthanolique/ méthanolique et aqueux a été calculé par la formule suivante (Carré, 1953) :

Equation 1 Formule de calculassions de rendement

$$R (\%) = M / M_o \times 100$$

R(%) : Rendement exprimé

M : Masse en gramme de l'extrait sec résultant

M_o : Masse en gramme de matériel végétale à traiter

II.3. Tests de screening phytochimique

II.3.1. Sucre réducteurs

Dans un tube à essai on met 1 mL du filtrat (b) avec 1 mL de chacune des solutions de Fehling A et B, puis on bouilli au bain-marie. Le résultat positif est l'apparition d'un précipité rouge (Silva *et al.*, 2017; Singh et kumar 2017).

II.3.2. Composés phénoliques

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 (**Singh et Kumar2017**).

II.3.3. Alcaloïdes

Dans un tube à essai on met 3mL de la solution (de la plante) et on ajoute quelques gouttes de solution iode. Le résultat positif est l'apparition d'une couleur bleue, qui disparaît à l'ébullition et réapparaît au refroidissement (**Bhatt et Dhyani, 2012 ; Basumatary, 2016**).

II.3.4. Flavonoïdes

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 acide dilué (**Audu et al. 2007 ; Singh et Kumar, 2017 ; Gul et al. 2017**).

II.3.5. Saponines

Dans un tube à essai, on met l'extrait aqueux et on ajoute 5 ml l'eau distillée on secoue vigoureusement et on rajoute quelques gouttes ; huile d'olive (on secoue vigoureusement).

Le résultat positif est l'apparition de la mousse (**Gul et al. 2017 ; Kumar et al., 2017**).

II.3.6. Quinones

Dans un tube à essai, on met l'extrait de la plante avec de HCl concentré. Le résultat positif est l'apparition d'une couleur verte (**Basumatary, 2017**).



Figure 6- Tests de screening photochimiques (photo original).

II.4. Chromatographie

La chromatographie est une méthode physique de séparation basée sur les différences d'affinité des substances à analyser à l'égard de deux phases, l'une stationnaire ou fixe, l'autre mobile. Selon la technique chromatographique mise en jeu, la séparation des composants entraînés par la phase mobile, résulte soit de leur adsorption et leur désorption sur la phase stationnaire, soit de leur différente solubilité dans chaque phase.

On peut classer les méthodes chromatographiques selon la nature des phases utilisées ou celles des phénomènes mis en œuvre dans la séparation.

II.4.1. Principe de chromatographie sur couche mince (CCM)

Cette méthode se repose sur la séparation des différents constituants d'un extrait selon leur force de migration dans la phase mobile qui est en général un mélange de solvants, adapté au type de séparation recherché, et leur affinité vis-à-vis la phase stationnaire qui peut être un gel de polyamide ou de silice. Elle nous permet d'avoir les empreintes du contenu poly phénolique et/ou flavonique de l'extrait (Madi, 2009).

II.4.2. Protocole de chromatographie sur couche mince (CCM)

Phase stationnaire : Plaque en aluminium de gel de silice, ces plaques décomposées : 5cm de diamètre, et 10cm de long.

Phase mobile : est un mélange de solvant, adaptée au type de séparation recherchée.

Tableau 3- Les systèmes de la chromatographie sur couche minces

N° de systèmes	Nom de système	Formule de système
1	Butanol, Athyl-Acétate et eau distillée	(5-4-1)
2	Chloroforme, Acetone et methanol	(7-7-0,5)
3	Heptane -Acétate	(1-7)

II.5. Activités biologiques des extraits d'*Echium creticum* L. et d'*Euphorbia bupleuroides subsp. L.*

II.5.1. Activité antioxydant :

Mesure de chaque Extrait 20 mg soit aqueuse et méthanolique/ éthanolique. Ajouter 4 ml de MeOH pour *E. bupleuroides subsp. L.* et Eoh Pour *E. creticum L.* et placer dans le bain marré jusqu'à la solubilité d'extrait. Ajouter 6ml de MeOH/ Eoh, Préparer le DPPH 4mg poudre dans 100 ml MeOH/ Eoh à partir de DPPH on préparer les concentrations et le control suivantes :

Tableau 4- Les concentrations de l'activité antioxydant:

Produits	Extrait (μ l)	Methanol/ Ethanol (μ l)	DPPH (μ l)
Concentration			
10 μl/ml	10	190	800
25 μl/ml	25	175	800
50 μl/ml	50	150	800
100 μl/ml	100	100	800

- Laisser 30 min et mise en control et tarer. Mesure les concentrations avec les répétitions.

L'IC₅₀ ou la concentration inhibitrice de 50 % (aussi appelée EC₅₀ pour Efficient concentration 50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH

- Les IC₅₀ sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés (pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées).

II.5.2. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des extraits préparés, on a utilisé la méthode de diffusion en milieu gélosé. Le principe de cette méthode est d'imprégner des disques de papier Whatman n°1 de 6 mm de diamètre avec les substances à tester. Les disques ont été imprégnés dans différentes solutions (20mg/ml) (solution mère) des extraits dissous dans le diméthylsulfoxyde (DMSO). Une dilution en série de cette solution mère, permet d'obtenir diverses solutions filles (réalisation d'une gamme de concentrations (10mg/ml, 5mg/ml, 2.5mg/ml). Un disque imbibé par le DMSO a été employé en tant que contrôle négatif. Ensuite, ils sont déposés à la surface d'un milieu écouvillonné par une suspension microbienne, gélose Muller-Hinton pour les bactéries, A la fin de la durée d'incubation (18-24h pour les souches bactériennes,) à 37 °C, les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés. Cette méthode d'est préconisée par (Carson *et al.*, 2006)

- La gélose M-H, préalablement fondue au bain marie bouillon, a été coulée en boîte dépeçtrée à une épaisseur de 4mm.
- Les boîtes de M-H refroidies sont inoculées (par inondation) de 1ml d'inoculum de façon à recouvrir toute la surface gélosée.
- Des disques stériles de 6mm de diamètre sont imbibés d'une quantité suffisante (10ml) de chaque extrait.
- Ces disques imprégnés sont alors déposés sur la gélose et les extraits diffusent radialement des disques dans la gélose en formant un gradient de concentration.
- Les boîtes sont fermées et incubées à température ambiante pendant 20 min, ensuite dans une étuve à 37 °C /24 h.

Les souches bactériennes dans notre travail sont fournies par l'Institut Pasteur d'Oran :

E. coli ATCC 8739, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

II. 5.3. Analyse statistique

Les résultats des tests effectués de l'activité antibactérienne sont exprimés en moyenne ± SD (Erreur standard). La différence est déterminée par le test de Tukey pour les comparaisons multiples et la détermination des taux de signification. Les différences sont considérées statistiquement significatives au seuil de 0.05 (P <0.05).



Chapitre III :
RESULTATS
ET
DISCUSSION

Chapitre III. Résultats et discussion

III.1. Rendement Des extraits

Les extraits de deux plantes *E. creticum L.* et *E. bupleuroides subsp. L.*, sont obtenus à partir d'une fine poudre des parties aériennes de ces plantes, en suivant une méthode d'extraction. En réalisant une macération de la poudre dans le méthanol pour *Echium* et éthanol pour *Euphorbia* pendant 24 heures, suivie de l'évaporation, on obtient un extrait brut éthanolique/méthanolique.

Les résultats de cette étude indiquent qu'en utilisant 20 g de poudre de plantes et 100 ml de méthanol/éthanol, nous avons obtenu des extraits méthanolique/éthanolique considérés comme des extraits bruts de couleur verte foncée. Ces extraits peuvent contenir de la chlorophylle, des flavonoïdes, des coumarines, des polyphénols et d'autres composés.

Les rendements sont calculés par rapport au poids total de la poudre de ces plantes, et les deux extraits présentent les rendements dans le **tableau 5** et la **figure 8** suivants :

Tableau 5- Valeurs de rendement d'extraits *E. creticum L.* et *E. bupleuroides subsp. L.*,

Extrait	<i>Echium</i>	<i>Euphorbia</i>
Rendement %	13,2 %	8%

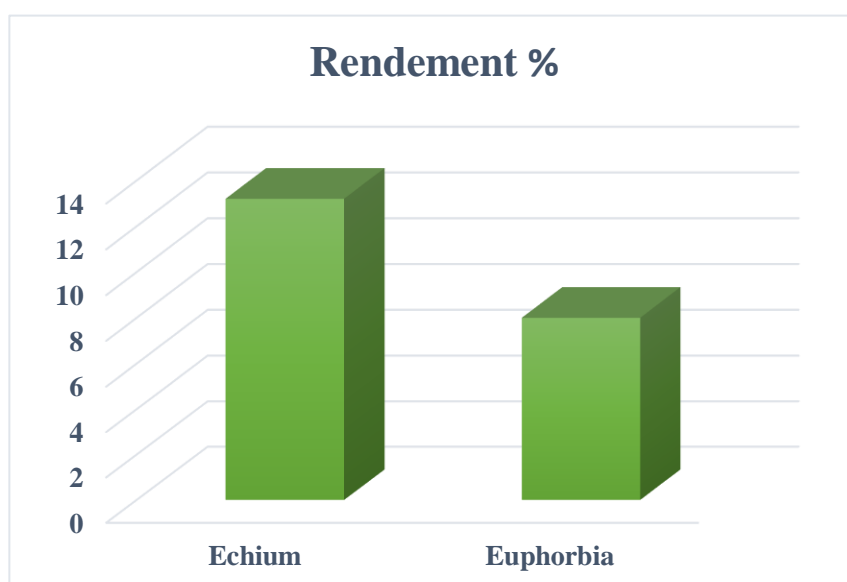


Figure 7- Rendement des extraits *E. creticum L.* et *E. bupleuroides subsp. L.*,

Les résultats dans le **tableau 5** et la **figure 8** obtenus de notre travail indiquent que les extraits des 2 plantes : *E. creticum L.* et *E. bupleuroides subsp.* ont été exprimés en pourcentage de masse d'extrait par rapport à la masse de la plante.

Le rendement le plus élevé a été observé avec l'extrait d'*E. creticum* : **13,2%** qui est celle avec l'extrait d'*E. bupleuroides subsp* **8%**.

III.2. Résultats des tests

Tableau 6- résultats des tests sur l'extrait d'*E. bupleuroides subsp*.

Métabolites secondaire	Résultats positive			Résultats négative
	Forte	Moyenne	Faible	
Sucre réducteur	+++			---
Alcaloïdes	+++			---
Composés phénolique			+++	---
Flavonoïdes		+++		---
Quinones		+++		---
Saponines			+++	---

Tableau 7- résultats des tests sur l'extrait d'*E. creticum*.

Métabolites secondaire	Résulta positive			Résulta négative
	Forte	Moyenne	Faible	
Sucre réducteur	+++			---
Alcaloïdes				+++
Composes phénolique	+++			---
Flavonoïdes	+++			---
Quinones		+++		---
Saponines		+++		---

L'examen photochimiques réalisé sur les parties aériennes des espèces *E. creticum L.* et *E. bupleuroides subsp. L.* a révélé la présence et l'absence des différentes substances.

On a remarqué dans le résultat des tests dans les 2 **tableaux 6 et 7** la présence des composes phénolique, les saponosides, les sucres réducteurs, flavonoïdes avec des différentes concentrations dans les 2 espèces, On a remarqué également l'absence totale alcaloïdes.

III.3. Etude chromatographique par CCM

L'étude chromatographique par CCM permet de séparer les composants présents dans un échantillon en utilisant des différences d'affinité avec la phase stationnaire et la phase mobile. Les résultats d'une étude chromatographique par CCM peuvent varier en fonction des conditions expérimentales utilisées, y compris le choix de la phase mobile et de la phase stationnaire, ainsi que la méthode de révélation des spots.

L'intensité des spots peut refléter la concentration relative des composants dans l'échantillon. Des spots plus intenses peuvent indiquer des composés présents en plus grande quantité, tandis que des spots plus faibles peuvent indiquer des composés présents en moindre quantité


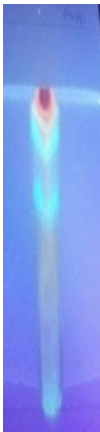



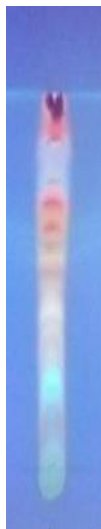
On utilise 3 types de systèmes 1, 2, 3 chaque un contient un mélange de solutions différents. Ces systèmes permirent de distinguer les différents composants qui apparaissent sous forme de taches. Visible sous la lumière de l'UV.

Tableau 8 montre les résultats de la chromatographie sur couche mince des extraits *E. creticum* L. et *E. bupleuroides subsp. L.*

Pour la Plante d'*E. bupleuroides subsp. L.* on observe les taches des couleurs suivantes : violette, bleu, orange, rose.

La deuxième plante est *E. creticum* L. : bleu, rose, violette, jaune.

Tableau 8- résultats de la chromatographie sur couche mince des extraits *E. creticum* L. et *E. bupleuroides subsp. L.*

<i>E. bupleuroides subsp L.</i>		<i>E. creticum L.</i>	
Les extraits	Ethanol	Les extraits	Méthanol
Révélateurs	UV à 365 nm	Révélateurs	UV à 365 nm
<p>Système1(BAW) : Butanole, Acetate et L'eau distillée (5/4/1)</p>		<p>Système1(BAW) : Butanole, Acetateet L'eau distillée (5/4/1)</p>	
<p>Système2 : Chloroforme, Acitone et Méthanol (7/7/0.5)</p>		<p>Système2 : Chloroforme, Acitone et Méthanol (7/7/0.5)</p>	
<p>Système3 : Heptane et Acetate (1/7)</p>		<p>Système3 : Heptane et Acetate (1/7)</p>	

Dans le solvants N°1 Butanole, Acetate et L'eau distillée (5/4/1) :

- L'extraits *E. bupleuroides subsp. L.* Le nombre des spots sont différents. Ils se trouvent une grande et différents distance entre les spots, Nous observons les spots obtenues (7spots) avec des couleurs suivantes : 3 spots rose foncé, 1 spot violette claire, 3 spots bleu (2 spots foncé et spot claire).
- L'extraits *E. creticum L.* Ils se trouvent une différente distance entre les spots, Nous observons les spots obtenues (4spots) avec des couleurs suivantes : 1 spot violette foncé, 2 spots bleu foncé, 1 spot orange claire.

Dans le solvant N°2 Chloroforme, Acitone et Méthanol (7/7/0.5) :

- L'extraits *E. bupleuroides subsp. L.* Les nombres des spots sont des mêmes couleurs rose sont (4 spots foncé) à part un couleur bleu (2 spots très claire), la distance entre les spots sont très variables pour l'extrait brute.
- L'extraits *E. creticum L.* les spots sont différents dans les 8 spots avec des couleurs suivantes : 3 spots rose claire, 1 spot violette foncé, 2 jaune claire, 1 spots bleu claire. Donc l'apparition des spots obtenus sont peu claire et net, leur distance entre eux très variables dans l'extrait brute

Dans le solvant N° 3 Heptane-acétate (1/7) :

- L'extraits *E. bupleuroides subsp. L.* Les spots sont différents dans les 8 spots avec des couleurs suivantes : 2 spots rose foncé, 2 spot violette (spot claire, spot foncé), 2 orange (spot claire, spot foncé), 2 spots bleu (spot claire, spot foncé). Donc l'apparition des spots obtenus est claire et net, leur distance entre eux très variables dans l'extrait brut.
- L'extraits *E. creticum L.* les spots sont différents dans les 8 spots avec des couleurs suivantes : 3 spots rose claire, spot violette claire, spot jaune claire, 3 spots bleu (2 spots claire, spot foncé). Donc l'apparition des spots obtenus sont très claire et net, leur distance entre eux très variables dans l'extrait brut.

D'après les systèmes étudiés (**tableau 8**) le meilleur système, le plus efficace qui nous montrons le résultat des spots de CCM des extraits d'*E. creticum L.* et *E. bupleuroides subsp L.* le système représentent est le système Heptane-acétate (1/7).

III.4. Activité antioxydant (Effet radical-balayage de DPPH)

Dans notre travail nous avons étudié l'activité des extraits de (*E. creticum* L. et *E. bupleuroides subsp*). Antioxydant font référence à toutes substance dans assistance à concentration trapue dans les produits alimentaires et capable détourné l'oxydation en jouant une responsabilité dans anti oxydation comme charognard radical libre considérablement, agent réducteur. Les extraits d'*E. creticum* L. et d'*E. bupleuroides subsp* sont déterminés graphiquement comme c'est présenté dans les (figure 9 et 10).

III.4.1. Détermination de l'activité anti-radicalaire des extraits

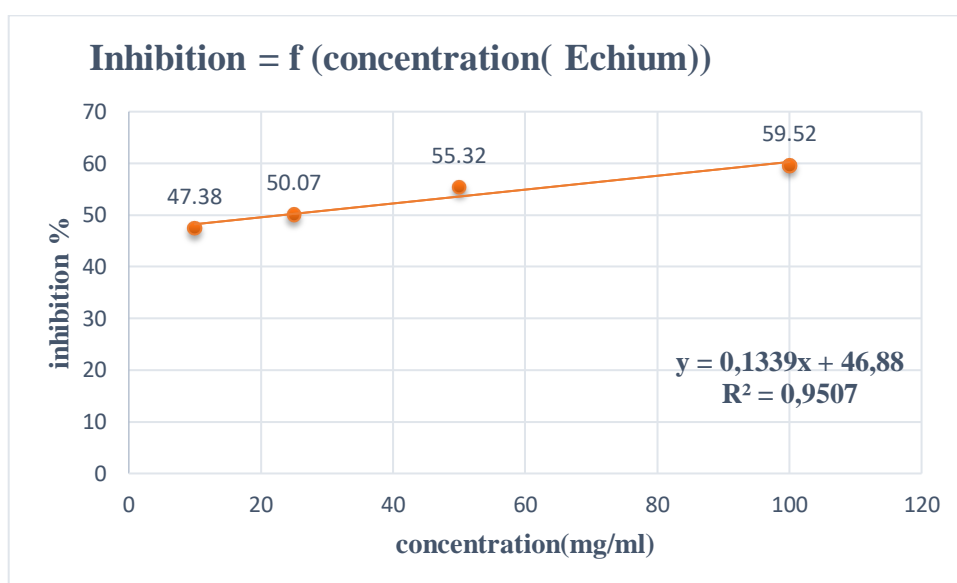


Figure 8- Capacité antioxydant de l'extrait méthanolique de l'*E. creticum* L.

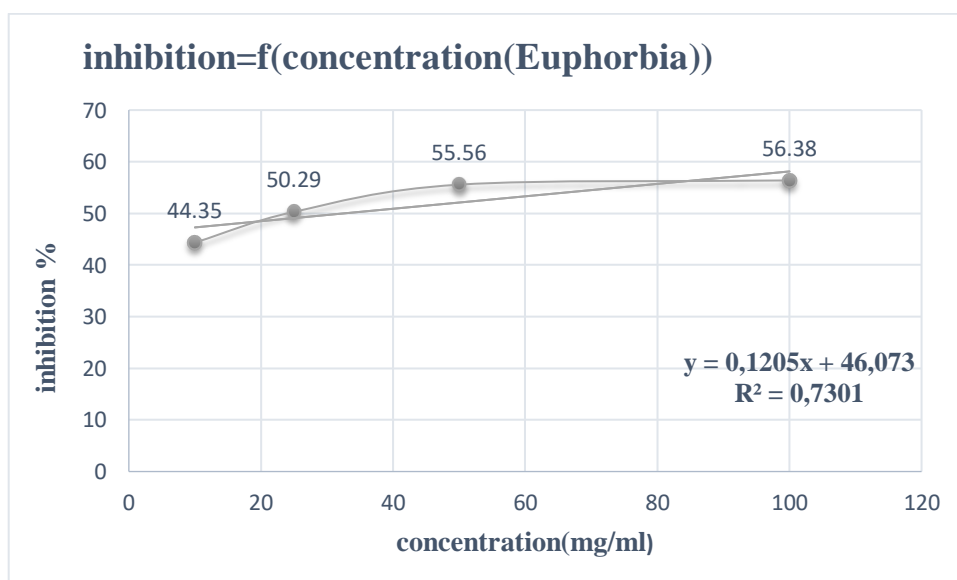


Figure 9- Capacité antioxydant de l'extrait éthanolique de l' *E. bupleuroides subsp* L.

L'activité anti-oxydant des extraits a été évaluée en utilisant le radical libre DPPH.

Les résultats obtenus sont représentés (**figure 9 et 10**) sous forme de droites dont les équations sont les suivants :

■ **Extrait d'*E. creticum* L. :**

$$y = 0,1339x + 46,88$$

$$R^2 = 0,9507$$

■ **Extrait d'*E. bupleuroides subsp* L. :**

$$y = 0,1205x + 46,073$$

$$R^2 = 0,7301$$

Ces équations représentent des droites qui montrent comment les pourcentages d'inhibition varient en fonction des concentrations des extraits. Les coefficients de corrélation (R^2) indiquent le degré de corrélation linéaire entre les variables.

Dans le cas de l'extrait d'*E. creticum*, l'équation indique que pour chaque unité d'augmentation de la concentration (x), le pourcentage d'inhibition (y) augmente de 0,1339 unité. Le coefficient de corrélation élevé ($R^2 = 0,9507$) suggère une corrélation forte et positive entre la concentration et l'inhibition pour cet extrait.

Pour l'extrait d'*E. bupleuroides*, l'équation indique qu'une augmentation d'une unité de la concentration (x) entraîne une augmentation de 0,1205 unité du pourcentage d'inhibition (y). Cependant, le coefficient de corrélation ($R^2 = 0,7301$) est légèrement plus faible, ce qui suggère une corrélation moins forte par rapport à l'extrait d'*E. creticum*.

En conclusion, ces résultats suggèrent que l'extrait d'*E. creticum* L. présente une corrélation plus forte entre la concentration et l'inhibition de la méthode DPPH par rapport à l'extrait d'*E. bupleuroides subsp* L. Cependant, il est important de noter que d'autres facteurs peuvent également influencer l'activité antioxydant, et des études supplémentaires pourraient être nécessaires pour approfondir la compréhension de ces extraits.

III.4.2. Détermination IC50

L'activité antioxydant des extraits a été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre, la lecture faite à longueur d'onde 517nm.

La réduction du radical libre DPPH (2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl) par un antioxydant peut être suivie par spectrométrie UV-Visible, en mesurant la diminution de l'absorbance provoquée par les antioxydants. En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH passe d'une coloration violette à une coloration jaune (**Prior et al., 2005**).

Les valeurs obtenues nous ont permis de tracer la courbe qui représente les variations de pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration d'extrait méthanolique, la détermination graphique de IC₅₀ se fait à partir de la courbe, qui constitue l'activité antioxydante de les extraits éthanolique/méthanolique d'*E. creticum L.* et *E. bupleuroides subsp L.* La valeur IC₅₀ (inhibition concentration 50) présente la concentration d'inhibition nécessaire pour balayer 50% des radicaux libres. L'IC₅₀ est inversement proportionnel à la capacité antioxydante d'un composé, cela veut dire que la valeur de IC₅₀ la plus faible correspond à l'activité anti radicalaire la plus importante. Les valeurs d'IC₅₀ de l'extrait méthanolique d'*E. creticum L.* et de l'extrait éthanolique d'*E. bupleuroides subsp L.* sont déterminées graphiquement comme c'est présenté dans la (**figure 11**).

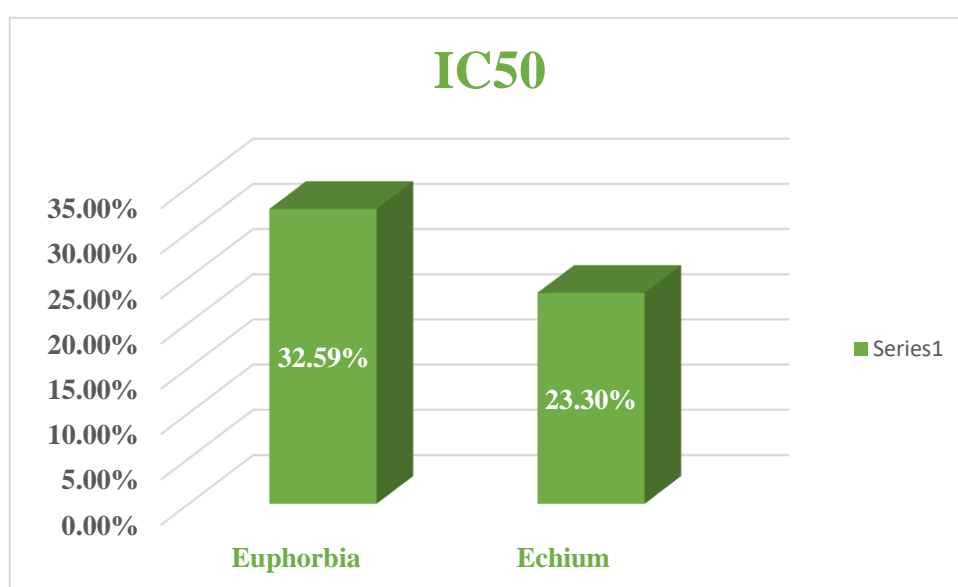


Figure 10- Représentation de l'inhibition de radical DPPH par l'estimation des Valeurs de IC₅₀ déferent extrait d'*E. creticum L.* et *E. bupleuroides subsp L.*

L'analyse des résultats d'IC₅₀ de nos extraits *montrent* que l'extrait de *E. creticum L.* qui donne IC₅₀ = 23.30mg/ml, est la meilleure activité antioxydant par rapport l'extrait d'*E. bupleuroides subsp L.* Qui IC₅₀=32.59 mg/ml. On constate que les 2 extraits présente une bonne activité antioxydant.

Diverses études ont déterminé expérimentalement les capacités des extraits naturels à piéger lesradicaux libres. Cette activité dépend d'un certain nombre de paramètres : la dose, la structure,les substituants et le degré de polymérisation de la molécule (**Belhadj, 2015**).

Plusieurs méthodes ont été utilisées, dans des travaux précédents, pour déterminer l'activité antioxydante des plantes (**Baghiani et al., 2012**). Dans notre travail on a étudé l'effet piègeur des radicaux libres évalué par le test du DPPH, pour évaluer l'activité antioxydante des feuilles d'*E. creticum L.* et *E. bupleuroides subsp L.* Le DPPH est un radical

libre synthétique de couleur violée foncée. C'est le radical le plus utilisé dans l'analyse de l'activité anti-radicalaire des substances bioactives contenues dans les extraits des plantes médicinales (**Kubola et Siriamornpun, 2008**) pour deux raisons :

- Leur absorbance maximale à 517 nm, ce qui permet donc d'évaluer l'activité antiradicalaire, spectrophotométriquement, en mesurant toute diminution d'absorbance de DPPH.
- Leur grande stabilité, par rapport aux radicaux naturels (le radical hydroxyle et l'anion superoxyde) et vis-à-vis d'autres réactions telles que la chélation métallique des ions ainsi que l'inhibition enzymatique (**Locatelli et al., 2010**).

En présence de composés anti-radicalaires capables de donner un électron ou un atome d'hydrogène, le radical DPPH est réduit conduisant donc à leur neutralisation en un composé non radicalaire (DPPH-H) de couleur jaune pâle. De ce fait, la couleur va se changer du violet au jaune et l'absorbance sera diminuée (**Kubola et Siriamornpun, 2008**). L'activité antioxydante des extraits est exprimée en IC50, ce paramètre a été employé par plusieurs chercheurs pour présenter leurs résultats (**Abdulmajed et al., 2005 ; Ranga et al., 2009**).

III.5. Activités antibactériennes des extraits de *E. creticum* et *E. bupleuroides*

Nous avons étudié le pouvoir antibactérien des extraits bruts d'*E. creticum* L. et *E. bupleuroides subsp* L. Par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé (Muller Hinton).

L'activité antibactérienne de nos produits est estimée en terme de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les produits extraits bruts à tester vis-à-vis de 5 germes pathogènes d'origine : *Escherichia coli* ATCC8739, *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, après 24 heures d'incubation à une température adéquate de 37 °C.

Il apparaît que toutes les souches bactériennes testées sont inhibées par les extraits avec des degrés différents.

Les résultats des diamètres des zones d'inhibition (**tableau 9**), montrent que les extraits sont actifs contre l'ensemble des souches testées et le zone d'inhibition avec une concentration de 20mg/ml.

Tableau 9- Diamètre de zone d'inhibition des extraits bruts d'*E. certicum* L. et *E. bupleuroides* subsp L. sur la croissance de *Staphylococcus aureus*, *E. Coli*, *Pseudomonas aeruginosa*

	Zone d'inhibition (mm)			
		<i>Echium</i>		<i>Euphorbia</i>
		20mg/ml		20mg/ml
<i>E. coli</i> ATCC 8739	B	15.3333 ± 0,44	A	23.333 ± 1,11
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 25923.	A	20.6667 ± 0,88	B	19.333 ± 0,88
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 27853	C	11.3333 ± 0,44	C	14.000 ± 0,66

1. *E. coli*

- ✓ L'extrait d'*E. certicum* a montré une zone d'inhibition de 15.3333 ± 0.44 .
- ✓ L'extrait d'*E. bupleuroides* a montré une zone d'inhibition de 23.333 ± 1.11 .

Dans ce cas, l'extrait d'*E. bupleuroides* a démontré une activité antibactérienne supérieure à l'extrait d'*E. certicum* contre la souche *E. coli*.

2. *Pseudomonas*

- ✓ L'extrait d'*E. certicum* a montré une zone d'inhibition de 20.6667 ± 0.88 .
- ✓ L'extrait d'*E. bupleuroides* a montré une zone d'inhibition de 19.333 ± 0.88 .

Dans ce cas, l'extrait d'*E. certicum* a montré une activité antibactérienne légèrement supérieure à l'extrait d'*E. bupleuroides* contre la souche *Pseudomonas*, bien que la différence ne soit pas significative.

3. *Staphylococcus*

- ✓ L'extrait d'*E. certicum* a montré une zone d'inhibition de 11.3333 ± 0.44 .
- ✓ L'extrait d'*E. bupleuroides* a montré une zone d'inhibition de 14.000 ± 0.66 .

Dans ce cas, l'extrait d'*E. bupleuroides* a démontré une activité antibactérienne légèrement supérieure à l'extrait d'*E. certicum* contre la souche *Staphylococcus*, bien que la différence ne soit pas significative.

En résumé, les extraits d'*E. bupleuroides* ont montré une activité antibactérienne légèrement supérieure à celle des extraits d'*E. certicum* contre les souches bactériennes testées. Cependant, il est important de noter que ces différences peuvent être influencées par plusieurs facteurs tels que la concentration de l'extrait, les conditions expérimentales et la sensibilité spécifique des souches bactériennes. Une analyse statistique plus approfondie et des études supplémentaires seraient nécessaires pour confirmer ces observations.



CONCLUSION

Conclusion :

L'Algérie comme tous les pays du monde possèdent une biodiversité immense des plantes médicinales, ces derniers sont devenus aujourd'hui une source naturelle utilisée dans plusieurs domaines, grâce à son réservoir inépuisable des métabolites primaires et secondaires. Cette étude s'est concentrée sur l'exploration de nouvelles voies d'application des plantes *E. creticum L.* et *E. bupleuroides subsp.* Dans les domaines médical et pharmaceutique. Les objectifs principaux étaient d'effectuer une étude phytochimique de ces deux plantes médicinales, ainsi que d'évaluer leur activité antioxydant et antimicrobienne.

Tout d'abord, nous avons identifié les rendements des extraits, démontrant des variations entre les deux plantes. L'extrait méthanolique d'*E. creticum* a affiché le meilleur rendement, avec un pourcentage de 13,2%, tandis que l'extrait éthanolique d'*E. bupleuroides subsp. L* a présenté le plus faible rendement, soit 8%. Après nous l'avons fait un criblage phytochimique dont lequel on a constaté la richesse nos extraits par les sucres réducteurs, les saponosides, les flavonoides, les composés phénolique, etc.

Ensuite, une analyse chromatographique (CCM) a été réalisée pour identifier les composants chimiques des extraits. Cette analyse a révélé la présence de composés phénoliques dans les extraits des deux plantes, avec la présence de plusieurs spots de couleurs différentes dans les trois systèmes solvants utilisés.

L'activité antimicrobienne des extraits a été évaluée en utilisant la méthode de diffusion, avec les souches bactériennes *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*. Les résultats ont montré que les extraits présentaient des activités antibactériennes significatives et variables contre les différentes souches bactériennes.

Enfin, une étude de l'activité antioxydante a été réalisée en utilisant le test du piégeage du radical libre DPPH. Les résultats ont démontré une activité antioxydante forte et variable pour les deux plantes.

En résumé, cette étude a fourni des informations précieuses sur les rendements, les composants chimiques, ainsi que les activités antimicrobienne et antioxydante des extraits des plantes *E. creticum L.* et *E. bupleuroides subsp.* Ces résultats pourraient contribuer au développement de nouvelles applications dans les domaines de la médecine et de la pharmacologie. Des recherches supplémentaires seront nécessaires pour approfondir notre compréhension des mécanismes d'action et explorer davantage le potentiel thérapeutique de ces plantes.



REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques :

- **Al-Bayati A. F., Khudir D. S. (2007).** In vitro activité antimicrobienne de *Salvadora persica* L. Université de Mossoul. Irak : 57-62.
- **Aichour S. (2015),** Etude chimique d'une Euphorbiaceae : *Euphorbia bupleuroides* ; université el hadj Lakhdar. Université Batna ;288 p.
- **Baghiani A., Djarmouni M., Boumerfeg S., Trabsa H., Charef N., Khennouf S and Arrar L. (2012).** Xanthine Oxidase Inhibition and Antioxidant Effects of *Peganum harmala* Seed Extracts. *European Journal of Medicinal Plants* **1**, 42-56.
- **Basumatary A. (2016)** Preliminary Phytochemical Screening of some compounds from plant stem bark extracts of *Tabernaemontana divaricata* Linn. used by Bodo Community at Kokrajhar District, Assam, India. *Archives of Applied Science Research*. 8(8):47-52.
- **Belhadj T., Hadj-Mahammed M. et Yousfi M. (2015).** Etude de l'activité antioxydante des extraits phénoliques de l'*Atriplex halimus* L et de l'*Haloxylon scoparium* pomel du Sahara septentrional. *Annales des Sciences et Technologie*.7, (1), 35-42.
- **Bellakhdar J. (1997).** La Pharmacopée Marocaine Traditionnelle, Ibis Press.
- **Bhatt S., Dhyani S. (2012).** Preliminary Phytochemical Screening of *Ailanthus excelsa* Roxb. *International Journal of Current Pharmaceutical Research* 4(1):87-89.
- **Blumenthal M., Goldberg A. et Brinkmann J. (Ed) (2000).** Expanded Commission E Monographs, American Botanical Council, publié en collaboration avec Integrative Medicine Communications, États-Unis.
- **Brand-williams W., Cuvelier M.E., Berset C., (1995).** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT- Food Science and Technology*, 28 (1): 25-30.
- **Bruneton, J. (1996).** Plantes toxiques : Végétaux dangereux pour l'homme et les animaux. Technique et documentation, Paris.
- **Cce., (2001).** Commission des Communautés Européennes : propositions de la commission en matière de lutte contre la résistance antimicrobienne. Bruxelles
- **Daniel M., (2006).** Medicinal Plants: Chemistry and Properties.
- **Depeyre D., Isambert A. et Sow D. (1994).** Des plantes à latex, source de méthane. Description of three new species: *An. carnevalei* sp nov. *An. hervyi* sp nov. and *An. dualaensis* Sp nov. and resurrection of *An. rageaui*. *J. Am. Mosq. Control. Assoc* ;

15,552-558.directives pour l'application de l'article 5.3, de l'article 8, de l'article 11 et de l'article 13.

- **Filière des plantes médicinales biologiques du Québec (2010).** La bourrache, Guide de production sous régie biologique, Québec, 26 p
- **Ghazghazi H., Chedia A., Abdererazak M. et Brahim H. (2013).** Comparaison des contenus en polyphénols et de l'activité antioxydant des extraits méthanolique des quatre plantes collectées du nord de Tunisie. *Microbial.Hyg. Alim.*73(25) : 37-41.
- **Gul R., Jan S., Syed F., Sherani F., Nusrat J. (2017).** Preliminary Phytochemical Screening, Quantitative Analysis of Alkaloids, and Antioxidant Activity of Crude Plant Extracts from Ephedra Intermedia Indigenous to Balochistan the Scientific World Journal, 1-7.
- **Haba H. (2008).** Etude phytochimique de deux Euphorbiaceae sahariennes : Euphorbia guyoniana Boiss. et Reut. et Euphorbia retusa Forsk., these de doctorat, universite el hadj lakhdar batna, pp305
- **Kumar V., Jat R. (2017).** Phytochemical Estimation of Medicinal Plant Achyranthes aspera Root. *International Journal of Research in Pharmacy and Pharmaceutical Sciences.* 3(1):190-193.
- **Lahrech K. (2010).** Extraction et analyses des huiles essentielles de Mentha pulegium l. et de Saccocalyx satureioide. Tests d'activités antibactériennes et antifongiques, Thèses, Université d'Oran Es-Senia, Oran.
- **Maugh T.H. (1976).** The petroleum plant: Perhaps we can grow gasoline. *Science* 194: 46.
- **Ohyama K., Uchida Y., Misawa N., Komano T., Fujita M et Ueno T. (1984)..** Oil body formation in Euphorbia tirucalli L. cell suspension cultures. *Plant Cell Rep* 3: 21–22,
- **Ozenda, P.(1991).** Flore et végétation du Sahara. In : CNRS (Ed.), Paris.
- **Peter K. et Nirmal B. (2012).** Introduction to herbs and spices: medicinal uses and sustainable production. In: *Handbook of Herbs and Spices: Volume 2.* 1–16.
- **Prina A. O. et González M. L. (2020).** Echium creticum (Boraginaceae), nueva especie adventicia en Argentina. *Semiárida*, 30(1), 49-51.
- **Saigo R.H et Saigo B.W. (1983).** Botany: Principles and Applications. Prentice Hall, Englewood Cliffs, pp 121–136.

-
- **Sanchez-morano C. (2002).** Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Science and Technology International*, 8(3) : 121- 137
 - **Santé canada (2006).** Bonnes pratiques de fabrication.
[En ligne] <http://www.hc-sc.gc.ca/dhp-mps/prodnatur/legislation/docs/gmp-bpf-fra.ph>
 - **Silva G., Abeysundara A., Aponso M. (2017).** Extraction methods, qualitative and quantitative techniques for screening of phytochemicals from plants *American Journal of Essential Oils and Natural Products*. 5(2):29-32
 - **Singh V., Kumar R. (2017).** Study of Phytochemical Analysis and Antioxidant Activity of *Allium sativum* of Bundelkhand Region. *International Journal of Life Sciences Scientific Research*. 3(6):1451-1458.
 - **Spichiger R.E., Savolainen, V.V. et Figeat M., (2000).** **Botanique** systématique des plantes à fleurs. Ed. Presse polytechniques et universitaires Romandes, Lausanne.
 - **Valentine, D. H. et Chater A. O. (1972).** “Boraginaceae” en T. G. Tutin & V. H. Heywood (Eds.) *Flora Europaea*. Cambridge University Press. Cambridge.
 - **Yamamoto Y., Mizuguchi R. et Yamada Y. (1981).** Chemical constituents of cultured cells of *Euphorbia tirucalli* and *E. milii*. *Plant Cell Rep* 1: 29–30.