

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTRE 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 : BIOTECHNOLOGIE  
VEGETALE

Mémoire présenté pour l'obtention  
Du diplôme de Master Académique

Par : BOUGUERRA Omima

DAHMANI Nahed

Intitulé

**Etude phytochimique et Activité biologique de plante**

***Santolina chamaecyparissus.***

Soutenu devant le jury composé de :

GUETTOUCHI Ahlam	MCA	Université de M'sila	Président
BELKASSAM Abdelouahab	MCA	Université de M'sila	Rapporteur
SMAILI Tahar	Pr	Université de M'sila	Examineur

**Année Universitaire : 2021 /2022**

# TABLE DES MATIERES

Remerciement	
Dédicace	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction1	

## Partie 01 : Etude bibliographique

### Chapitre 01 : présentation de la plante étudiée

1. La famille Astéraceae .....	3
1.1. Généralité .....	3
1.2. Description botanique de la famille des Astéraceae.....	3
1.3. Le genre Santolina.....	3
1.4. Répartition géographique de la famille des Astéraceae .....	4
2.L'espèce <i>Santolina chamaecyparissus</i> .....	4
2.1. Description botanique de <i>Santolina chamaecyparissus</i> .....	4
2.2. Systématique de la plante <i>Santolina chamaecyparissus</i> .....	5
2.3. Nomenclature de la plante <i>Santolina chamaecyparissus</i> .....	5
2.4. Ecologie et distribution géographique de la plante <i>Santolina chamaecyparissus</i> .....	6
2.5. Utilisation de la plante <i>Santolina chamaecyparissus</i> .....	6
2.6. Composition chimique de <i>Santolina chamaecyparissus</i> .....	6

### Chapitre 02 : Métabolite secondaire

1. Métabolite primaire .....	7
2. Métabolite secondaire .....	7
2.1. Généralité .....	7

2.2. Classifications des métabolismes secondaires .....	7
2.2.1. Les composés azotés : Les alcaloïdes .....	7
2.2.2. les huiles essentielles.....	8
2.2.3. Les composés phénoliques .....	8
2.2.3. Classification des composés phénoliques .....	9
2.2.3.1. Les acides phénoliques.....	9
2.2.3.2. Les tanins.....	9
2.2.3.3. Les coumarines.....	10
2.2.3.4. Les flavonoïdes .....	10

### **Chapitre 03 : Activité biologique**

1. Généralité .....	12
2. L'activité antioxydant .....	12
3. Le stress oxydatif .....	12
4. Les radicaux libres .....	12
5. Les antioxydants.....	13
5.1. Antioxydants d'origine végétale .....	13
5.2. Mécanisme d'action des antioxydants.....	14
6. Activité antibactérienne .....	14
6.1. Généralité .....	14
6.2. Antibiotiques .....	15
6.3. Description des bactéries étudiées.....	15

## **Partie 02 : Partie expérimentale**

### **Chapitre 01 : Matériel et Méthode**

1. Matériel végétal.....	17
2. Caractérisation quantitatives des extraits .....	17
2.1. Principe la macération.....	17
A. Extraction type solide/liquide.....	18
B. Extraction des flavonoïdes.....	18
2.3. Détermination de rendement d'extraction.....	19
3. Extraction d'huile essentielle .....	21
3.1. Procédé d'extraction.....	21
3.2. Calcul du rendement.....	21
3.3. Conservation de l'huile essentielle obtenue .....	22
4. Extraction des flavonoïdes .....	22
4.1. Détermination de rendement d'extraction.....	22
5. Caractérisation qualitatives des extraits .....	22
5.1. Chromatographie sur couche mince (CCM) .....	22
6. testes des activités biologiques.....	24
6.1. Activité antioxydant .....	24
6.2. Activité antibactérienne.....	25

### **Chapitre 02 : Résultats et discussion**

1. Evaluation des techniques d'extraction.....	28
1.1. Rendements des extraits .....	28
1.2. Rendement des huiles essentielles de <i>Santolina chamaecyparissus</i> .....	29
2. Etude photochimique des extraits .....	30

2.1. Analyses quantitatives des extraits.....	30
2.1.1. Chromatographie sur couche mince (CCM) .....	30
3. Résultats des tests biologiques .....	35
3.1. Activité antibactérienne.....	35
3.2. Activité antioxydant .....	36
Conclusion.....	38
Référence bibliographique	
Annexe	
Résumé	

# Remerciement

Nous remercions **Dieu** le tout puissant, le miséricordieux pour nos Avoir donnée la force, la patience et le pouvoir de raisonner,

Nos profonds remerciements s'adressent en premier lieu à mon encadreur **Dr. BELKASSAM Abdelouahab, pour** l'honneur qu'il nous a fait de nous encadrer, pour son attention, ses bons conseils, sa confiance, et pour ses qualités humaines.

Nous tenons à remercier **Dr. GUETTOUCHI Ahlam** nous avoir fait l'honneur de présider le jury de notre soutenance.

Nos remerciements s'adressent aussi à **Dr. SMAILI Tahar** d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Aussi nous adressons nos remerciements aux personnes qui nous ont aidés dans la réalisation de ce mémoire **Mr. SEGHIRI, K** et tous les équipes de laboratoire de biotechnologie végétale pour ses précieux conseils et ses encouragements.

Nous remercions tous les enseignants du département de SNV. Et L'université de m'sila pour l'aide qu'elle m'a fournie pendant ma formation d'étude.

Nous remercions tout particulièrement nos familles qui a toujours soutenu dans notre choix, et toutes les personnes qui m'ont encouragé, et tous les étudiants de biotechnologie sans oublier promotion 2022.

**NAHED ET OMIMA**

# Dédicace

Grâce à **dieux** qui m'a donné le pouvoir et le courage à accomplir notre travail.

## A mes très chers parents

Pour leurs sacrifices et leurs encouragements durant toutes nos études Pour tout l'amour qu'ils me portent et pour leurs encouragements qu'ils m'ont apportés au cours de ce travaille

## A mes sœurs et frères

**Khouloud, Aida, Chams El Dine, Bilel.** Je vous dédie ce travail en vous souhaitant un avenir plein de bonheur et de succès.

## A mes chers amis

**Tina, Amani, Siham, Iman, Safaa, Hafida, Bouchra, Silya et Iman** En souvenir de tout ce qu'on a vécu ensemble. J'espère de tout mon cœur que notre amitié durera éternellement.

Une grande dédicace à ma chère et binôme **Nahed Dahmani**, En souvenir de nos éclats de rire et des bons moments.

**Ahmed rida** pour la grande quantité de la matière végétale de *Santolina chamaecyparissus*.

Et a toute la famille **BOUGUERRA**, et **ABDELKEBIR**.

**OMIMA**

# Dédicace

Avec joie, fierté et respect, je dédie ce mémoire à

## **Ma famille :**

À ma très chère mère, Tu es l'exemple de  
Dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.  
Et puisse Dieu, le tout puissant, te préserver t'accorder santé, longue  
vie et bonheur.

À mon très cher père, Tu as toujours été à mes côtés pour Me soutenir.

Que ce travail traduit ma gratitude et mon affection.

À ma source de courage M, aucun mot ne saurait exprimer tout l'amour  
que j'ai pour vous.

À mes frères **Yasser** et **aissa** et mes sœurs **hayam** et **boutheina**.

A tous ma famille ma grand-mère et mes tantes et ancies.

À mes cousins et mes cousines.

## **À mes amis :**

**Aliaa, Safaa, Siham, imane, bouchra, silya, imane** et **Hafida**.

Une spéciale dédicace à ma chère amie et binôme **Omima Bouguerra**

À toute mes collègues et la promotion de Master 2 biotechnologie.

**Nahed**

## Liste des abréviations

**CCM** : Chromatographie sur couche mince.

**EAcOEt** : L'extrait acétate d'éthyle.

**EBrt** : L'extrait brut (hydro-méthanoïque).

**HE** : Huile essentiel.

**Rf** : Rapport frontal.

**UV** : Ultraviolet.

**R (%)** : Le rendement en %.

**DPPH** : 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl.

**I (%)** : Pourcentage d'inhibition.

**IC<sub>50</sub>** : Concentration inhibitrice de 50 %.

**mg/ml** : Milligramme par millilitre.

**mm** : Millimètre.

**µl** : Microlitre.

**P** : Poids.

**CHCl<sub>3</sub>** : Chloroforme.

## Liste des tableaux

**Tableau 01** : Principale classe du flavonoïde (Berreghioua, 2016).

**Tableau 02** : Les systèmes solvants utilisés pour la CCM de gel de silice.

**Tableau 03** : Les souches bactériennes utilisées.

**Tableau 04** : caractéristiques organoleptiques d'huile essentielle de *santoline* brute de la partie aérienne de la plante *Santolina chamaecyparissus*.

**Tableau 05** : Rf et les couleurs des spots obtenus dans les deux systèmes par CCM dans l'extrait brut de plante *Santolina chamaecyparissus*.

**Tableau 06** : Rf et les couleurs des spots obtenus dans les deux systèmes par CCM dans l'extrait d'acétate d'éthyle de plante *Santolina chamaecyparissus*.

**Tableau 07** : Rf et les couleurs des spots obtenus dans les deux systèmes par CCM dans l'extrait n-butanol de plante *Santolina chamaecyparissus*.

**Tableau 08** : valeurs de diamètre des zones d'inhibition (en mm) de l'extrait brute de plante *Santolina chamaecyparissus* relatives aux souches bactériennes testées.

## Liste des Figures

**Figure 01 :** Aspect de la plante *Santolina chamaecyparissus*.

**Figure 02 :** les fleurs de *Santolina chamaecyparissus*.

**Figure 03 :** Squelette de base des flavonoïdes (Girotti-Chanu, 2006).

**Figure 04 :** L'espèce bactérienne *Escherichia coli*.

**Figure 05 :** L'espèce bactérienne *Staphylococcus aureus*.

**Figure 06 :** L'espèce bactérienne *Pseudomonas aeruginosa*.

**Figure 07 :** Carte géographique de la station de récolte m'sila, Algérie.

**Figure 08 :** Méthode d'extraction des flavonoïdes (Ciulei, 1983).

**Figure 09 :** Réaction de réduction du DPPH (Talbi et al., 2015)

**Figure 10 :** Rendement des différents extraits de l'espèce *Santolina chamaecyparissus*.

**Figure 11 :** Rendement en huiles essentielles de l'espèce *Santolina chamaecyparissus*.

**Figure 12 :** Révélation de la plaque de CCM par la lampe UV à la longueur d'onde 365 nm de l'extrait.

**Figure 13 :** Représentation de l'inhibition du radical DPPH par l'estimation des valeurs d'IC<sub>50</sub> des différents extraits de *Santolina chamaecyparissus*.

# **Introduction**

## Introduction

Les plantes médicinales constituent des ressources précieuses pour la grande majorité des populations rurales en Afrique, où plus de 80% de cette population s'en sert pour assurer les soins de santé **(Jiofack et al., 2009, 2010)**.

La médecine traditionnelle et plus particulièrement les traitements à base de plantes étaient bien développés en Algérie, mais le recours à la médecine conventionnelle est à l'origine d'un délaissement de ces pratiques ancestrales qui risquent de tomber dans l'oubli **(Rebbas et al., 2012)**.

Depuis des siècles, en Algérie comme dans tous les pays du Maghreb, les plantes médicinales et aromatiques sont utilisées principalement en milieu rural par les personnes âgées qui connaissent encore expérimentent certaines recettes de tisanes **(Reguieg, 2011)**.

Plusieurs études ont porté aussi sur l'activité antimicrobienne des métabolites secondaires, principalement celle des huiles essentielles, qui de part de leur composition chimique peuvent entraîner des dommages considérables sur les souches microbiennes **(Bounatirou et al., 2007)**.

La famille des Astéracées contient des plantes aromatiques et médicinales qui possède une grande importance en médecine traditionnelle grâce à leur confinement de métabolites bioactifs secondaires (terpènes et huiles essentielles, polyphénol) ce qui en fait un sujet important de la recherche scientifique. Les composés de cette famille possèdent également des propriétés physico-chimiques très différentes, ce qui lui confère leur diverses activités biologiques (antitumorales, antivirales, antioxydantes, ...etc.) **(Laib et Megag, 2020)**.

La *Santolina chamaecyparissus* est une plante aromatique largement répandue dans la région méditerranéenne. Elle est utilisée en médecine populaire pour ses propriétés analgésiques, anti-inflammatoires, antiseptiques, antispasmodiques, bactéricides, digestives et vulnéraires **(Bouriche et al., 2013)**.

Nous nous sommes intéressées à une espèce à caractère médicinal dans la région de m'sila *Santolina chamaecyparissus* qui appartient à la famille des Astéracées qui est parmi les familles de plantes les plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extraits à qualité médicale intéressante, dont l'objectif de l'étude est la caractérisation phytochimique des extraits issus de cette plante, à travers l'évaluation de leurs activités biologiques (activités antioxydant et antimicrobienne).

Ce manuscrit comporte deux parties :

La première partie aborde une étude bibliographique réalisée sur décrit la plante étudié *Santolina chamaecyparissus*, suivi par une description botanique, classification systématique, l'utilisation traditionnelle, les métabolites secondaires, et leurs activités biologiques (activité antioxydants et antimicrobienne) ;

Le deuxième partie présente les matériels et les méthodes d'extraction, dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes, l'évaluation de leurs activités antioxydants et antibactériennes, présentation des résultats obtenus et leurs discussions.

Enfin, nous conclurons ce travail par une conclusion générale qui résume les principaux résultats obtenus.

# **Partie 01**

## **Etude bibliographique**

# **Chapitre I**

## **Présentation de la plante étudiée**

## 1. La Famille Astéraceae

### 1.1. Généralité

Le mot « Aster » du grec signifie étoile, en relation avec la forme de la fleur. Les Astéraceae (anciennement appelées Composées) sont une famille appartenant aux dicotylédones comprenant plus de 1500 genres et plus de 23000 espèces décrites dont 750 endémiques, C'est une des familles la plus importante des Angiospermes (**Harkati, 2011**).

### 1.2. Description botanique de la famille des Astéraceae

La famille Asteraceae est la plus vaste du groupe des dicotylédones. Plusieurs plantes de cette famille sont cultivées pour leur valeur alimentaire (le tournesol, le topinambour, la laitue, la chicorée, la camomille, etc.) ou comme plantes décoratives (les dahlias, les asters, les rudbeckies, les gaillardes, etc.). En effet, il a été rapporté que les fleurs et les feuilles de ces plantes possèdent des propriétés antibactériennes, antifongiques, antiviraux et anti-inflammatoires (**Matsuda et al, 2002**)

Classification des Asteraceae : On distingue quatre sous familles (**Bonnier, 1934**) :

- ✓ Tubuliflores ou carduacées
- ✓ Liguliflores ou chicoracées
- ✓ Labiactiflores
- ✓ Radiées ou corymbifère

Les Astéracées sont caractérisées par la disposition des fleurs en capitule. Les capitules sont constitués du regroupement de fleurs sessiles sur un même réceptacle. (**Bremer, 1994**).

### 1.3. Le genre *Santolina*

*Santolina*, est une plante vivace appartenant à la famille des Astéraceae (Composées). Il s'agit d'un sous-arbrisseau qui présente un goût amer et une odeur très forte qui pousse parmi les rochers, sur les coteaux arides et les crêtes élevées en terrain calcaire. Très florifère (**Kisiel et al., 2003**). *Santolina* est un genre végétal d'arbustes aromatiques nains qui comprend environ 26 espèces originaires de l'ouest du bassin méditerranéen (**Giorgi et al., 2022**).

## 1.4. Répartition géographique de la famille des Astéraceae

Le genre *Santoline* fait partie de la famille Astéraceae ; compte environ 1200 genres et 2600 espèces présentes dans toutes les régions du monde à l'exception des pôles. Ce genre est représenté par plus de 10 espèces largement distribuées dans la région méditerranéenne (Benhamed et Tabai,2017).

Ce genre "*Santolina*" compte parmi plusieurs espèces de sous-arbrisseaux parmi lesquelles deux existent en Algérie :

- ✓ *Santolina rosmarinifolia* Linn : santoline à feuilles de romarin.
- ✓ *Santolina incana*, appelée également "*Ormenis africana* " (Ferfad, 2008).

## 2. Espèce *Santolina chamaecyparissus*

### 2.1. Description botanique de *Santolina chamaecyparissus*

Cette plante forme les touffes basses de 40-60 cm de haut, les branches qui ont tendance à se coucher sont très ramifiées et leurs parties jeunes se redressent, elles portent d'innombrables petites feuilles finement découpées. Le feuillage qui, persistant et couvert d'une sorte de duvet argenté comme les jeunes rameaux, constitue l'attrait principal de la santoline qui par ailleurs dégage une bonne odeur aromatique, cette odeur qui rappelle celle de la lavande lui a valu le nom de lavande coton (Bentabet,2008). Dont la hauteur à l'âge adulte atteint 50 cm, La période de floraison de la santoline s'étend de juin à août et ses inflorescences se présentent sous forme de capitules de couleur jaune dont le diamètre est d'environ 1 cm (Merck, 2017).



**Figure 01** : Aspect de la plante *Santolina chamaecyparissus*.



## **2.4. Ecologie et distribution géographique de la plante *Santolina chamaecyparissus***

Le genre *Santolina* pousse dans la région méditerranéenne (**Chibani, 2012**). Elle provient des coteaux arides de la région méditerranéenne, des Alpes-Maritimes aux Pyrénées-Orientales, Corse, Espagne, Italie, Dalmatie et l'Afrique septentrionale. Assez rustique, la santoline supporte les embruns, le vent, la sécheresse et ne craint aucune maladie ayant comme seul ennemi l'humidité stagnante (**Benbrinis, 2011**).

## **2.5. Utilisation en médecine traditionnelle**

*Santolina* est largement utilisée en médecine grâce à ses propriétés antispasmodiques, analgésiques, désinfectantes, anti inflammatoire, bactéricides et fongicides. Les fleurs et les feuilles sont utilisées comme vermifuges pour les enfants et pour traiter la mauvaise digestion ainsi que les problèmes menstruels. La poudre de la santoline est utilisée localement pour soulager les douleurs liées aux piqûres des insectes (**Djami, 2014**).

## **2.6. Composition chimique de *Santolina***

Le genre *Santolina* est représenté par plus de 10 espèces largement distribuées dans la région Méditerranéenne. Plusieurs espèces ont été investiguées phyto-chimiquement et un nombre de composés acétyléniques, d'huiles essentielles, de coumarines et de flavonoïdes ont été identifiés (**Benbrinis, 2011**). L'huile de *Santolina chamaecyparissus* est constituée principalement de composés monoterpènes oxygénés riches en curcumène, thujol, oxyde de limonène, bornyl, eucalyptol, époxyde - bisabolène, carveol, oxyde de caryophyllène et le camphre. Les autres constituants ne présentent qu'une fraction mineure ; il s'agit du camphène,  $\beta$ -pinène,  $\alpha$ -terpinène, p-cymène, santénetriène, hydrate de cis-sabinène, limonène, hydrate de trans-sabinène,  $\alpha$ -terpinéol et farnesol (**messaoudi, 2017**).

**Chapitre II**  
**Métabolisme secondaire**

## 1. Métabolite primaire

Les métabolites primaires constituent l'intégrité physique de la cellule végétale et sont impliqués dans le processus métabolique primaire de construction et de maintien des cellules vivantes. (Khandelwal et al., 2011). Les métabolites primaires sont des molécules présentes dans toutes les cellules végétales et nécessaires à la vie de la plante. Les sucres simples, les acides aminés, les potines, et les acides nucléiques sont des exemples de métabolites primaire (Raven et al., 2014).

## 2. Métabolite secondaire

### 2.1. Généralité

Les plantes synthétisent une gamme extraordinaire d'autres composés appelés métabolites secondaires. Ces derniers sont des "antibiotiques" au sens large, car ils protègent les plantes contre les champignons, les bactéries, les animaux et même les autres plantes. (Cox et Balick, 1994). Les métabolites secondaires des plantes médicinales sont la base matérielle de leurs effets curatifs cliniques. Ils constituent également des indicateurs importants pour l'évaluation de la qualité des matières médicinales. Cependant, la synthèse et l'accumulation des métabolites secondaires sont très complexes, et sont affectées par de nombreux facteurs, y compris les circuits génétiques internes de développement (gène régulé, enzyme) et par des facteurs environnementaux externes (lumière, température, eau, salinité, etc.). (Li et al., 2020)

Les métabolites secondaires sont produits à différents endroits de la cellule, ils sont emmagasinés surtout dans la vacuole (Raven et al., 2014).

### 2.2. Classifications des métabolismes secondaires

#### 2.2.1. Les composés azotés : Les alcaloïdes

Le terme d'alcaloïde a été introduit par W. Meisner au début du 19ème siècle, est un composé organique d'origine naturelle (le plus souvent végétale), azoté, plus ou moins basique de distribution restreinte et doué à faible dose, de propriétés pharmacologiques marquées (Bruneton, 1999).

## 2.2.2. Les huiles essentielles

### ➤ Définition

Les huiles essentielles sont des produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation (**Bruneton, 1999**). Les huiles essentielles se forment dans un grand nombre de plantes comme sous-produits du métabolisme secondaire. Elles ont des propriétés et des modes d'utilisation particuliers et donnent naissance à une branche nouvelle de la phytothérapie : l'aromathérapie (**Bruneton, 1993**).

### ➤ Composition chimique des huiles essentielles

La composition chimique d'une huile essentielle est très complexe et soumise à de très nombreuses variables. Connaître avec exactitude les constituants d'une huile essentielle est fondamental, à la fois pour vérifier sa qualité, expliquer ses propriétés et prévoir sa toxicité potentielle. (**Couic-Marinier et Lobstein, 2013**).

### ➤ Propriétés physiques des huiles essentielles

- Les huiles essentielles sont Liquide à température ambiante ;
- Elles sont volatiles ;
- la densité d'huiles essentielles est en général inférieure à celle de l'eau ;
- les huiles essentielles sont Solubles dans le solvant organique usuel ;
- Elles sont liposolubles (**Bruneton, 1993**).

## 2.2.3. Les composés phénoliques

Le terme « polyphénols » est fréquemment utilisé pour désigner l'ensemble des composés phénoliques des végétaux (**Fleuriet et al., 2005**). Les composés phénoliques ou les polyphénols sont des Métabolites secondaires, ces dernières sont présentes dans toutes les parties des plantes mais avec une répartition quantitative qui allant de simples molécules comme les acides phénoliques à des substances hautement polymérisées comme les tanins (**Dai et Mumper, 2010**).

### 2.2.3. Classification des composés phénoliques

Les composés phénoliques sont classés selon le nombre d'atome de carbone dans le squelette de base, ces structures peuvent être sous forme libres ou liées à l'ester ou hétérosides (Bruneton, 1999).

#### 2.2.3.1. Les acides phénoliques

##### ➤ Définition

Le terme d'acide –phénol peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et hydroxyle phénolique (Bruneton, 1999).

##### ➤ Propriétés physico-chimiques

- ✓ Les phénols sont en principe solubles dans les solvants organiques polaires ;
- ✓ Ils sont solubles dans les solutions de sodium et de carbonate sodium ;
- ✓ Les acides –phénols sont solubilisés par les hydrogénocarbonates ;
- ✓ Ils sont extractibles par les solvants organiques en milieu légèrement acide (Bruneton, 1999).

#### 2.2.3.2. Les tanins

##### ➤ Définition

Le terme tanin provient d'une pratique ancienne qui utilisait des extraits des plantes pour tanner les peaux d'animaux, autrement dit pour transformer une peau en cuir (Hopkins, 2003).

##### ➤ Classification des tanins

On distingue chez les végétaux supérieurs, deux groupes de tanins différents par leur structure aussi bien que par leur origine biogénétique :

- ✓ Les Tanins hydrolysables ;
- ✓ Les Tanins condensés (Bruneton, 1999)

### 2.2.3.3. Les coumarines

Ce sont des dérivés des acides hydroxy cinnamiques et qui sont le point de départ d'une famille de composés qui se forment par une substitution en 6,7 et 8 sur un cycle aromatique (Marouf et Reynaud, 2007).

### 2.2.3.4. Les flavonoïdes

#### ➤ Définition

Les flavonoïdes représentent une classe de métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux (Guignard, 1996). Les flavonoïdes sont beaucoup utilisés en systématiques des plantes, probablement parce que leur extraction et leur identification sont assez faciles (judd et al., 2002).

#### ➤ Localisation et distribution

Les flavonoïdes sont des pigments incolores ou colorés. Ce sont des composés polys phénoliques, largement répandus dans le règne végétal, avec plus de 4000 structures décrites (Marouf et Reynaud, 2007). On les trouve Les flavonoïdes d'une manière générale dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits. Et jouent un rôle important dans la protection des plantes (Bruneton, 1993).

#### ➤ Structure des flavonoïdes

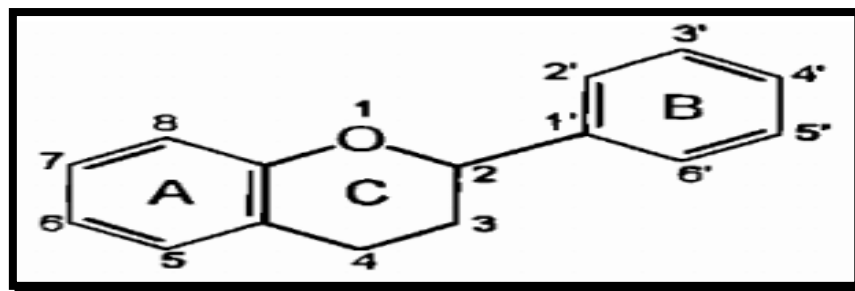


Figure 03 : Squelette de base des flavonoïdes (Girotti-Chanu, 2006).

➤ **Classification de flavonoïdes**

Les principaux groupes de flavonoïdes peuvent être définis et différenciés comme suit :

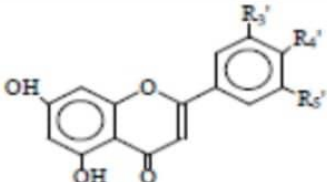
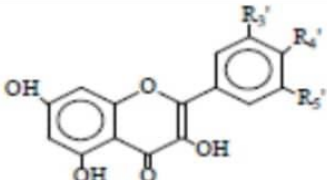
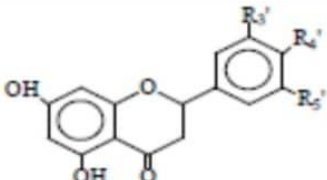
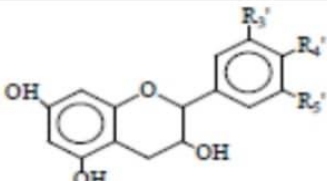
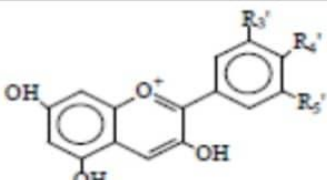
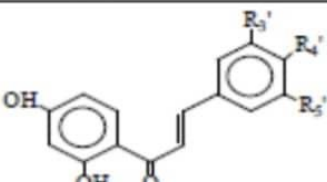
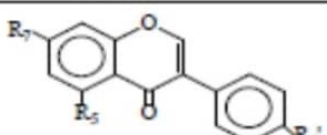
Classe	Structure chimique	R <sub>3</sub> '	R <sub>4</sub> '	R <sub>5</sub> '	Exemple
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH <sub>3</sub>	H	Diosmétine
Flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myrecétine
Flavanones		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Flavanes (Flavanol)		OH	OH	H	Catéchine
		OH	OH	OH	Galocatéchine
Anthocyanes		H	OH	OH	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine
Chalcones		R <sub>3</sub> '	R <sub>4</sub> '	R <sub>5</sub> '	Exemple
		OH	H	OH	3',5',5,7-tetrahydroxy chalcone
Isoflavones (isoflavonoïde)		R <sub>5</sub>	R <sub>7</sub>	R <sub>4</sub> '	Exemple
		OH	OH	OH	Genisteine
		H	OH	OH	Daïdezine

Tableau 01 : Principale classe du flavonoïde (Berreghioua, 2016).

# **Chapitre III**

## **Activité biologique**

## 1. Généralité

Depuis l'antiquité, les plantes aromatiques furent utilisées le plus souvent par les parfumeries. Cependant, durant ces dernières décennies, elles sont devenues sources d'antioxydants naturels et d'agents antimicrobiens (**Bandoniene et al., 2000**).

## 2. Activité antioxydant

L'utilisation des molécules antioxydantes de synthèse est actuellement remise en cause en raison des risques toxicologiques potentiels. Désormais, de nouvelles sources végétales d'antioxydants naturels sont recherchées (**Suhaj, 2006 et Tadhani, 2007**) En effet, les polyphénols sont des composés naturels largement répandus dans le règne végétal qui ont une importance croissante notamment grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé (**Koechlin-Ramonatxo, 2006**) Leur rôle d'antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires et cardiovasculaires (**Vârban et al., 2009**)ils sont également utilisés comme additifs en industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique (**Suhaj, 2006**).

## 3. Le stress oxydatif

Le stress oxydatif apparaît dans une cellule quand l'équilibre entre les espèces pro-oxydantes et anti-oxydants est rompu en faveur des pro-oxydants. Dans les systèmes vivants, une production physiologique d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) se fait de manière continue. Dans des conditions pathologiques ou provoquées par des facteurs exogènes, une surproduction de ces réactives est possible. Les défenses antioxydantes, dont une partie est dépendante de l'alimentation, peuvent être insuffisantes pour empêcher les dégâts cellulaires que peuvent causer les radicaux libres de l'oxygène (**Valko et al., 2007**). N'importe quelle substance qui, lorsqu'elle est présente à une concentration faible par rapport à un substrat oxydable, retarde de façon significative ou empêche l'oxydation dudit substrat (**Mercan, 2010**).

## 4. Les radicaux libres

Des molécules appelées radicaux libres ou espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont produites quotidiennement dans l'organisme (**Papazian et Roch, 2008**). Un radical libre est une espèce chimique contenant un électron non apparié (**Fontaine, 2007**). Les origines des radicaux peuvent être exogène (rayons solaire ultraviolets, pollution, infections, tabac) Et endogènes un déficit en systèmes antioxydants (glutathion, superoxyde, dismutase, catalase...) (**Dutot et al.,2008**).

Il est possible de mesurer la production de radicaux libres, la capacité antioxydante et les effets biologiques du stress oxydatif. Toutefois, en pratique clinique, l'évaluation du stress oxydatif est faite par la mesure des produits de dégradation des lipides et par la mesure des capacités de protection (**Goudable et Favier, 1997**).

## 5. Les antioxydants

Les antioxydants peuvent être définis comme toute substance qui, présente à faible concentration par rapport à la cible oxydable, est capable de ralentir ou d'inhiber l'oxydation de cette cible (**Fontaine, 2007**). Les antioxydants comme substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques de ROS. Les antioxydants sont des systèmes enzymatiques ou non-enzymatiques, endogènes ou exogènes (**Mohammedi, 2013**).

### 5.1. Antioxydants d'origine végétale

Plusieurs plantes utilisées en médecine traditionnelle sont douées de propriétés antioxydantes remarquables, Les fruits et les légumes contiennent une grande variété d'antioxydants comme la vitamine C, la vitamine E, les oligoéléments et surtout les polyphénols (**Defraigne et Pincemail, 2008**)

#### ➤ Vitamine E

La vitamine E est le nom commun utilisé pour toutes les molécules possédant des activités biologiques identiques à celles de la famille des tocophérols. La forme naturelle de la vitamine E inclut quatre tocophérols isomères  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ , avec une activité antioxydante variable. L' $\alpha$ -tocophérol est la forme la plus active de la classe des tocophérols. Sa structure moléculaire comporte une extrémité hydrophile et une extrémité hydrophobe. Lors de l'initiation de la peroxydation lipidique, suite à une attaque radicalaire, l' $\alpha$ -tocophérol, connu comme inhibiteur de la propagation de la peroxydation lipidique, cède son hydrogène situé dans le noyau phénolique, réduisant ainsi le radical RO<sub>2</sub> - (**Singh et al., 2005**).

#### ➤ Vitamine C

La vitamine C (acide ascorbique) n'est pas synthétisée par l'organisme. Elle est hydrosoluble à la concentration physiologique. La vitamine C empêche l'oxydation des LDL produites par divers systèmes générateurs d'espèces réactives de l'oxygène (neutrophiles activés, cellules endothéliales activées, myéloperoxydase).

Lors de son oxydation en acide déhydroascorbique, elle prend une forme radicalaire intermédiaire (radical ascorbyl) qui joue un rôle essentiel dans la régénération de la vitamine E oxydée (Singh et al., 2005).

### ➤ Antioxydants phénoliques

La propriété antioxydante des flavonoïdes la mieux décrite est leur capacité à piéger le radical libre : radical hydroxyle, l'anion superoxyde et les radicaux pyroxylés. Les flavonoïdes inactivent et stabilisent les radicaux libres grâce à leur groupement hydroxyle (C3OH) fortement réactif (Ghedira, 2005).

## 5.2. Mécanisme d'action des antioxydants

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulet, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la complexation d'ions et de métaux de transition. Cet intérêt a plusieurs origines ; en tant que constituants alimentaires, ces antioxydants d'origine naturelle semblent contribuer de manière significative à la prévention des maladies telles que le cancer ou encore des maladies cardio-vasculaires (Diallo, 2005).

## 6. Activité antibactérienne

### 6.1. Généralité

L'activité antibactérienne d'une huile essentielle semble être influencée par la structure chimique des molécules aromatiques, leurs proportions ainsi que par leurs actions combinées à plusieurs niveaux de la structure bactérienne. Certaines études ont montré que l'huile essentielle intégrale donne une activité antibactérienne plus importante que le méla composants majoritaires. Cela laisse penser que les molécules minoritaires sont également impliquées dans ce processus biologique et qu'un effet synergique ou additif peut avoir lieu entre les différents composants d'une huile (Bouhdid et al., 2012). Il existe une grande diversité dans la forme des cellules lorsqu'elles sont observées au microscope.

Deux formes cellulaires prédominent : sphérique (*coccus*) et en bâtonnet (*Bacillus*), mais il existe d'autres formes tels qu'en spirale (*spirillum*) ou encore en virgule (*Vibrio*) par exemple (Nauciel et Vildé, 2005).

## 6.2. Antibiotiques

L'antibiotique est un médicament qui s'oppose à la multiplication des bactéries néfastes ou qui détruit ces bactéries. Les antibiotiques peuvent être d'origine naturelle ou synthétique, ceux-ci sont des substances chimiques qui ayant une action spécifique avec un pouvoir destructeur sur les micro-organismes. En effet, ils entravent la croissance bactérienne en agissant sur des cibles vitales notamment : la paroi bactérienne, la synthèse des protéines et la synthèse des acides nucléiques, et les fonctions de la membrane cytoplasmique (**Kassah-Laouar, 2020**).

## 6.3. Description des bactéries étudiées

### ➤ *Escherichia coli*

Une bactérie du genre *Escherichia* est un bacille à Gram négatif, aero-anaérobie facultatif, non halophile possédant une nitrate réductase et une catalase et dépourvue d'oxydase. *E.coli* est une bactérie mobile avec une structure flagellaire péritriche (quelques souches rares sont devenues immobiles) et non sporulée. Sa température optimale de croissance est de 37°C. Bactérie non exigeante, elle est capable de croître sur des milieux ordinaires. (**Baliere, 2016**). *Escherichia coli* est la flore facultative non pathogène prédominante de l'intestin humain. Certaines souches d'*E. coli* ont toutefois développé la capacité de provoquer des maladies du système gastro-intestinal, urinaire ou nerveux central (**Nataro et Kaper, 1998**).



**Figure 04** : Espèce bactérienne *Escherichia coli*.

➤ *Staphylococcus aureus*

Les espèces *Staphylococcus aureus* sont des Cocci Gram positif, de forme sphérique, avec un diamètre de 0.8 à 1  $\mu\text{m}$ . Elles sont regroupées en diplocoques ou en petits amas. Ce type de bactéries sont immobile, asporulés, habituellement sans capsule, elles sont anaérobies facultatives. *Staphylococcus aureus* représente l'agent commun des infections postopératoires de blessures, endocardite aigue, intoxication alimentaire (**patrick et al, 1988 ; dworkin et falkow, 2006**).



**Figure 05 :** Espèce bactérienne *Staphylococcus aureus*.

➤ *Pseudomonas aeruginosa*

Les espèces *Pseudomonas aeruginosa* sont des bacilles à Gram négatif, ces bactéries fines sont de 1.5 à 3  $\mu\text{m}$  de long et 0.5 à 0.8  $\mu\text{m}$  de large. Elles sont mobiles grâce à une ciliature de type polaire monotricie (**Bounihi, 2016**). *Pseudomonas aeruginosa* ne forme ni spores ni sphéropates. Elle est responsable de 10% de l'ensemble des infections nosocomiales, occupant le 3<sup>émé</sup> rang après E. coli et S. aureus, mais le 1<sup>er</sup> rang pour les infections pulmonaires basses et le 3<sup>émé</sup> rang pour les infection urinaires (**Richard et kiredjian, 1995**).



**Figure 06 :** Espèce bactérienne *Pseudomonas aeruginosa*.

# **Partie 02**

## **Partie expérimental**

# **Chapitre I**

## **Matériels et méthodes**

## 1. Matériel végétal

### ➤ Récolte de la plante

Le matériel végétal est constitué de la partie aérienne de la plante *Santolina chamaecyparissus*, récolté de la région de Msila (250 km de la capitale Alger) en février 2022. Les échantillons sont séchés à l'abri de la lumière et de l'humidité, à température ambiante et stockés soigneusement dans des sacs propres.

### ➤ Localisation de la plante



Figure 07 : Carte géographique de la station de récolte m'sila, Algérie.

## 2. Caractérisation quantitative des extraits

### 2.1. Principe de la Macération

La macération 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 et qui a l'avantage de préserver les substances thermosensibles (**Bouchouka, 2016**).

## A. Extraction type solide/liquide

L'extrait méthanoïque brut a été préparé à partir la partie aérienne de la plante qui réduisent finement en poudre afin d'augmenter la surface de contact solvant-échantillon. La procédure d'extraction solide-liquide sur l'extraction par macération de 20g à température ambiante dans un mélange méthanol-Eau avec l'agitation de temps à autre. Cette opération est répétée trois fois successive pendant 48 heures avec renouvellement du solvant à chaque fois. Après filtration sur papier filtre, la filtration est concentrée au rota vapeur de type BUCHI R-210 à la température de 37 C. donc l'extrait hydroalcoolique brut de la plante (**Ciulei, 1983**).

## B. Extraction des flavonoïdes

L'extrait méthanoïque brute de la matière végétale est utilisé à une autre extraction dans les mêmes conditions mais avec d'autre solvant de polarité croissant, il utilise de l'acétate d'éthyle et n-butanol. Les deux solvants organiques sont spécifiques des composés phénoliques et des flavonoïdes, Les extraits méthanoïques sont initialement mélangés avec 30 ml d'acétate d'éthyle avec L'extrait méthanoïque brute de la matière végétale dans une ampoule à décanter, Bien agiter et laisser reposer le mélange, aux moins 2h jusqu'à l'obtention de deux phases, une phase organique (coté supérieur) et une phase aqueuse (coté inférieur), Récupérer la phase organique dans un récipient en verre, Répéter la procédure deux fois successifs. Pour le solvant n-butanol en suivant les mêmes étapes de l'acétate d'éthyle. A la fin de cette d'extraction a permis d'obtenir quatre extraits organiques sont :

- ✓ Extrait d'acétate d'éthyle (EAcOET)
- ✓ Extrait n-butanol de tige (En-BuOH)

Les extraits obtenus sont ensuite évaporés avec un appareil rota vapeur à une température de 45. Après cela, les deux extraits (acétate d'éthyle, n-butanol) sont placés dans une bouteille en verre noire, recouverte d'aluminium et placée au réfrigérateur à une température ambiante jusqu'à utilisation.

### 2.3. Détermination de rendement d'extraction

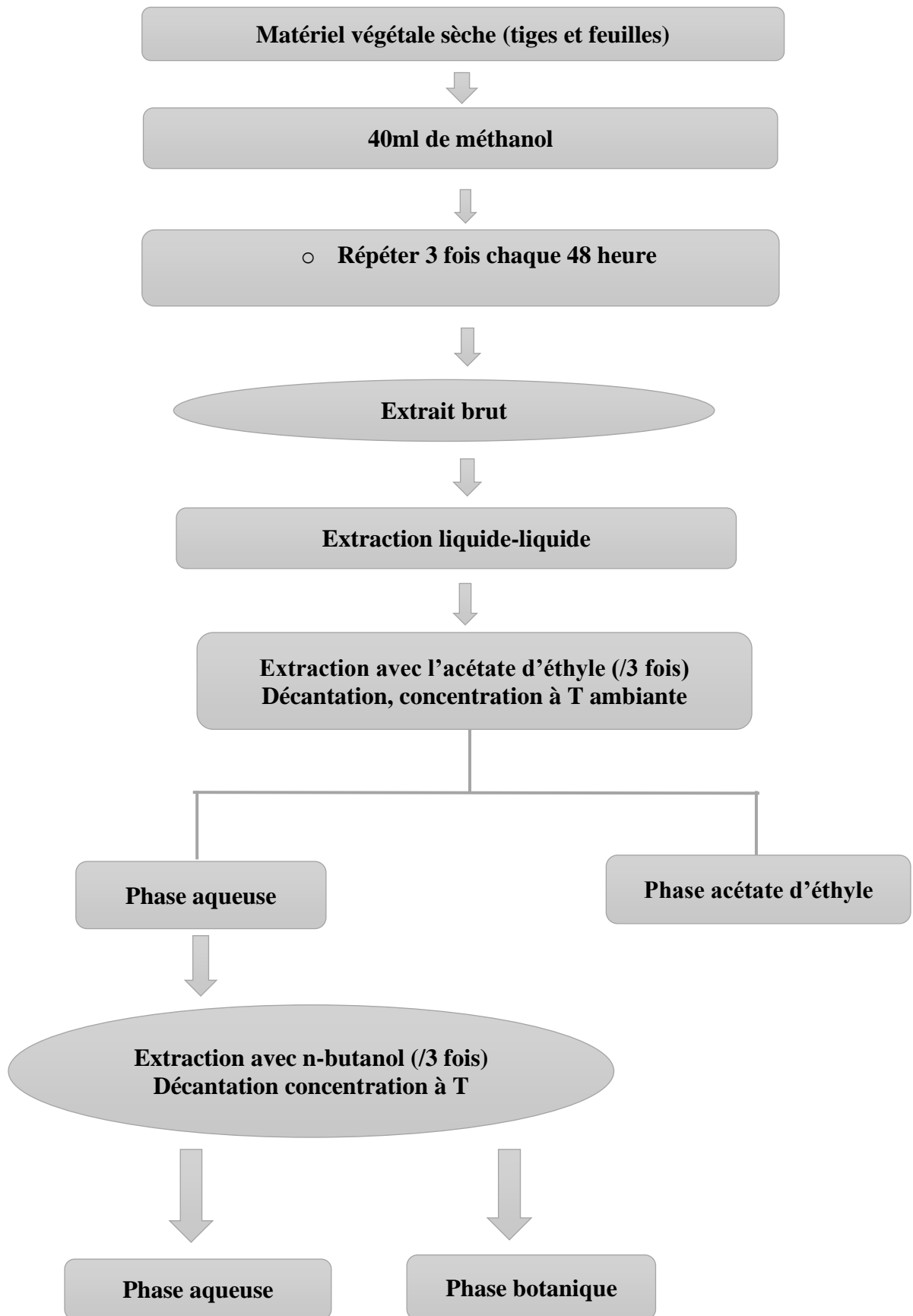
Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse - d'huile essentielle obtenue et la masse du matériel végétal à traiter.

$$\mathbf{Rd = (m0/m1) \times 100.}$$

**mi** : masse en gramme d'huile essentielle;

**m0**: masse en gramme de la matière végétale sèche;

**Rd**: rendement en huile essentielle.



**Figure 08 :** Méthode d'extraction des flavonoïdes (Ciulei, 1983).

### 3. Extraction d'huile essentielle

L'appareil utilisé pour l'hydrodistillation est de type Clevenger, il est constitué d'une chauffe ballon qui permet la distribution homogène de la Valeur dans le ballon, un ballon en verre pyrex où l'on place la partie aérienne et l'eau distillée, une colonne de condensation de la vapeur (réfrigérant) qui vient de l'échauffement du ballon, un collecteur en verre pyrex également qui recoin les extraits de la distillation.

#### 3.1. Procédé d'extraction

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée. Après la collecte de la partie aérienne (feuilles) de la matière végétale qui a été récupérée et nettoyée de la terre et des autres herbes contaminants. Avant l'emploi, l'appareil a été nettoyé par l'acétone puis par l'eau distillée pour éviter tout Contamination Dans un ballon, en ajoute 200 g des parties aériennes de la plante (feuilles) sont plongé dans L'eau distillée dans le ballon. L'ensemble est porte à ébullition pendant 3h. L'huile essentielle est alors entraînée par la vapeur d'eau. Elle est ensuite condensée en passant par le condensateur. Le liquide recueilli résulte en un distillat avec une couche d'huile mince à la surface qui sera par la suite séparée, après repos du liquide.

#### 3.2. Calcul du rendement

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la plante à traiter. Le rendement, exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$\text{RHE (\%)} = (\text{MHE} / \text{MS}) \times 100$$

- **RHE** : rendement en huile essentielle de la partie aérienne de la plante ;
- **MHE** : le poids de l'huile extraite (mg) ;
- **MS** : le poids de la matière végétale sèche (mg).

### 3.3. Conservation de l'huile essentielle obtenue

L'huile essentielle obtenue est gardée au réfrigérateur à 4°C et à l'obscurité, dans un flacon en verre brun fermé hermétiquement pour la préserver de l'air et de la lumière.

## 4. Extraction des flavonoïdes

### 4.1. Détermination de rendement d'extraction

Le rendement de différents extraits est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenue et la masse du matériel végétal utilisé. Ce rendement est calculé via l'équation :

$$R (\%) = 100 M_{\text{ext}}/M_{\text{éch.}}$$

- **R** : est le rendement en % ;
- **M<sub>ext</sub>** : est la masse de l'extrait après évaporation du solvant en g ;
- **M<sub>éch</sub>** : est la masse sèche la plante en g.

## 5. Caractérisations qualitatives des extraits

### 5.1. Chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince (CCM) est une technique analytique rapide, simple et peu coûteuse. Elle repose principalement sur des phénomènes d'adsorption. Les principaux éléments d'une séparation chromatographique sur couche mince sont :

- La cuve chromatographique : un récipient habituellement en verre, de forme variable, fermé par un couvercle étanche.
- La phase stationnaire.
- L'échantillon.
- L'éluant : un solvant pur ou un mélange : il migre lentement le long de la plaque en entraînant les composants de l'échantillon. (Abdelkrim et Abdelouahab 2019).

### ➤ Principe

La séparation par chromatographie planaire des constituants de l'échantillon est réalisée sur une fine couche (100- 200 µm) de phase stationnaire, généralement à base de gel de silice, déposée sur une plaque rectangulaire de verre, de plastique ou d'aluminium, de quelques centimètres de côté. Pour maintenir la phase stationnaire sur le support et assurer la cohésion des particules, un liant organique est incorporé au cours de la fabrication de la plaque. (Rouessac, 2004).

### ➤ Préparation des plaques CCM

Nous avons utilisé des plaques de CCM en gel de silice G 60. Les plaques de chromatographie sont des plaques en gel silice de type silica gel 60F 254 de 0,25 mm d'épaisseur, sur feuille d'aluminium.

### ➤ Préparation de la phase mobile

La phase mobile est constituée par un mélange de solvants organiques. Deux systèmes ont été essayés pour les meilleures séparations des extraits de la plante *Santolina chamaecyparissus*

**Tableau 02 :** Les systèmes solvants utilisés pour la CCM de gel de silice.

CCM sur gel de silice		
Systèmes solvant	N	proportion
Acétate d'éthyle/heptane	1	(8 :2)
Acétate d'éthyle/ méthanol /H2O	2	(8 :1 :0.5)

### ➤ Le dépôt

Les extraits de la plante sont solubilisés dans Chloroforme ensuite déposer sur la plaque à l'aide d'une pipette pasteur à des points repères situés à 1 cm du bord inférieur de la plaque, on peut effectuer plusieurs dépôts successifs du même analyte en même endroit, cette pratique permet de concentrer l'analyte (Sine, 2003).

### ➤ Développement des plaques

Chaque plaque est déposée en position verticale ou légèrement inclinée dans le bécher préalablement saturée par les vapeurs du système solvant approprié, l'échantillon à étudier sera plus ou moins entraîné par la progression par capillarité de la phase mobile vers le haut de la plaque (Sine, 2003).

### ➤ Expression des résultats

Une fois le développement du chromatogramme est effectué, la plaque est séchée à Température ambiante puis examinée à l'UV à la longueur d'onde 366 nm.

Le comportement d'une molécule particulière dans un système donné est exprimé par son rapport frontal  $R_f$ , calculé par la formule suivante :

$d$  : la distance parcourue par la molécule ;

$D$  : la distance parcourue par la phase mobile (front du solvant).

$$R_f = d / D$$

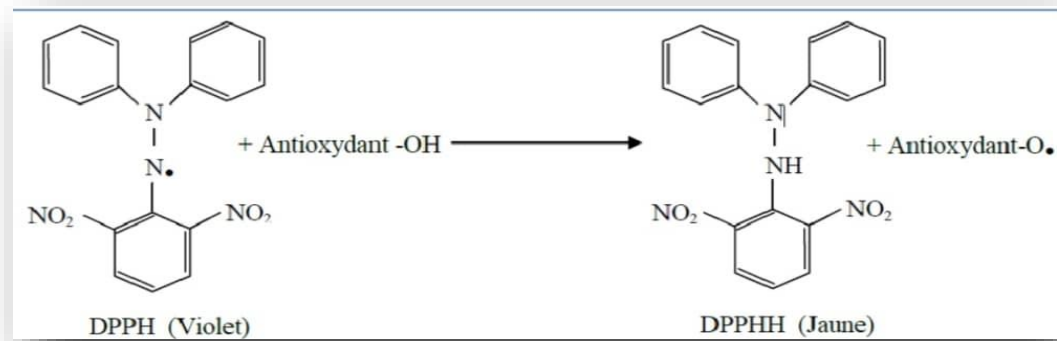
## 6. Testes des activités biologiques

### 6.1. Activité antioxydant

Il y'a Beaucoup de tests sont utilisées pour évaluer l'activité antioxydant des extraits. Dans notre mémoire nous avons utilisé : **Le test DPPH.**

#### ➤ Test DPPH

L'activité antioxydante des extraits a été mesurée in vitro par le 2,2.-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), dont le DPPH est un radical libre stable de couleur violacé photométrable a 517 nm. La réduction du radical par un donneur d'atome hydrogène conduit à la formation de 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazine DPPH de coloration jaune-verte. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Sanchez-Moreno, 2002).



**Figure09** : Réaction de réduction du DPPH (Talbi et al., 2015).

### ➤ Mise en œuvre pratique

La solution méthanoïque de 0.4 mM de DPPH est mélangée avec différentes concentrations des extraits de *S. chamaecyparissus* (aqueux, méthanol, huile) (10.25.50.100 µg/ml); la lecture de l'absorbance est faite à 517 nm après 30 min à l'aide d'un spectrophotomètre contre un blanc qui contient de méthanol pur.

### ➤ Calcul de pourcentage d'inhibition

L'activité est définie par l'indice de la réduction de l'activité antiradicalaire en pourcentage ou l'absorbance du mélange réactionnel qui contient le radical libre et l'échantillon de l'antioxydant est relié Avec l'absorbance du mélange sans aucun antioxydant (solution témoin ou contrôle) avec la relation suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{\text{Abs Control} - \text{Abs échantillon}}{\text{Abs control}} \times 100$$

**Abs control** : Absorbance du blanc (contenant tous les réactifs excepté le composé d'essai) ;

**Abs échantillon** : Absorbance du composé d'essai.

## 6.2. Activité antibactérienne

Les tests antimicrobiens ont été réalisés sur des souches pathogènes isolées de malades hospitaliers. Les tests de susceptibilité ont été effectués sur milieu solide en utilisant la méthode des puits.

### ➤ Préparation des disques

Les disques sont préparés à partir de papier d'wattman, avec un diamètre de 6 mm puis ils sont mis dans un tube à essai, et stérilisés à l'autoclave et conserver jusqu'à l'utilisation.

### ➤ Préparation de Milieu de culture

On utilise une gélose nutritive pour l'étude de la sensibilité des Souches bactériennes à différentes concentrations d'extraits méthanoïques ; dans des boites de Petri à raison de 15 ml par boite. On laisse refroidir et solidifier sur la paillasse.

### ➤ Souches bactériennes testées

Les souches bactériennes utilisées dans cette recherche pour l'activité antibactérienne De la plante *S. chamaecyparissus* sont des souches référencées une gram positive, et des souches gram négatives, ces souches obtenues de laboratoire de Microbiologie de l'université de M'sila, et sont conservées dans le réfrigérateur dans des tubes jusqu'à l'utilisation.

**Tableau 03 :** Les souches bactériennes utilisées.

Nom de souche et Code référence	Gram
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Gram négatif
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Gram négatif
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 27923	Gram positif

### ➤ Préparation de l'inoculum

Les extraits de *S. chamaecyparissus* sont été dissous dans le méthanol avec des dilution successives. A partir d'une culture pure des bactéries à tester sur milieu d'isolement, on racle Par une Anse de platine, quelques colonies bien isolées et identiques de chacune des souches bactériennes est bien ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort.

### ➤ **Ensemencement et Dépôt des disques**

- ✓ La culture se fait dans un milieu stérile en présence de bec benzène pour éviter la contamination du manipulateur et de la paillasse ;
- ✓ L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage de 100µl de suspension bactérienne sur toute la surface gélosée à l'aide d'un écouvillon ;
- ✓ Les disques imprégnés d'extraits sont déposés sur la surface de la gélose à l'aide d'une pince stérile au bec benzène ;
- ✓ En effet de chaque dilution on prélève 10µl et on la met dans les disques qui sont déjà dans les boîtes de pétri ;
- ✓ On met une boîte de pétri 4 disques de méthanol comme un contrôle négatif (témoin)
- ✓ Les boîtes de pétri sont incubées à l'autoclave pendant 24 heures à 37°C.

### ➤ **Lecture des antibiogrammes**

La lecture des antibiogrammes se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'une règle en (mm). Les résultats sont exprimés par le diamètre de

la zone d'inhibition et peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis des polyphénols.

- ✓ Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8mm ;
- ✓ Sensible (+) : diamètre compris entre 9 à 14 mm ;
- ✓ Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm ;
- ✓ Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20 mm (**Ponce, 2003**).

# **Chapitre II**

## **Résultats et discussion**

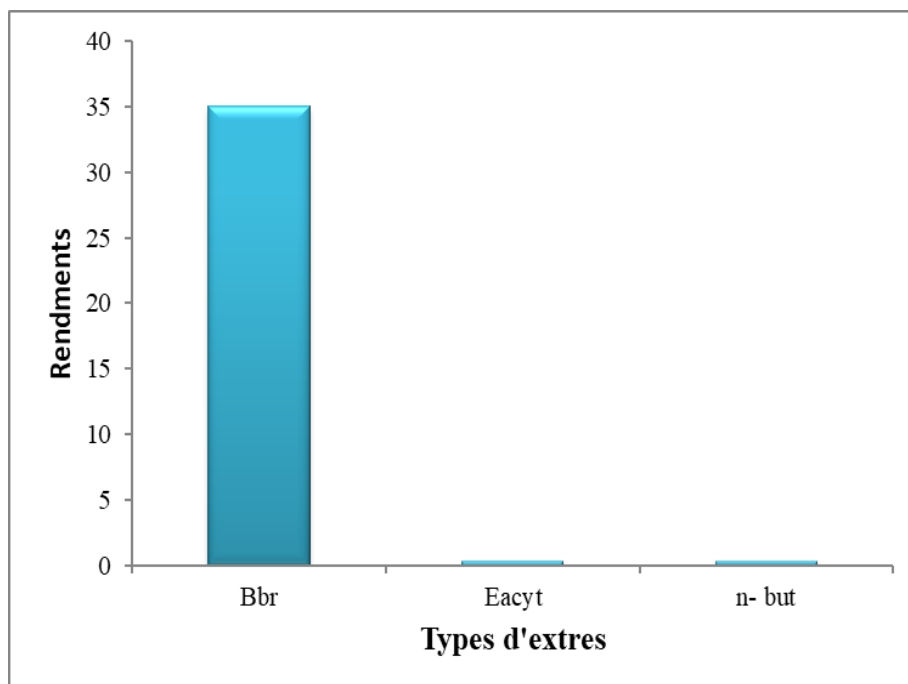
## 1. Evaluation des techniques d'extraction

### 1.1. Rendements des extraits

Les tests phytochimiques ont été réalisés sur différents extraits à partir des différentes parties de plante de *Santolina chamaecyparissus*. En utilisant des différents solvants à polarité différente pour permettre de séparer des composés selon le degré de solubilité dans le solvant d'extraction. La détection de ces composés chimiques par étude qualitative et quantitative et en utilisant le spectrophotomètre UV.

La préparation des extraits à partir les différents de *S. chamaecyparissus* a effectuée par des solvants il s'agit de Méthanol, acétate d'éthyle, n- butanol. Cette extraction a permis d'obtenir des extraits :

- Extrait d'acétate d'éthyle (EAcOET)
- Extrait n-butanol (En-BuOH)
- L'extrait brut (EBr)



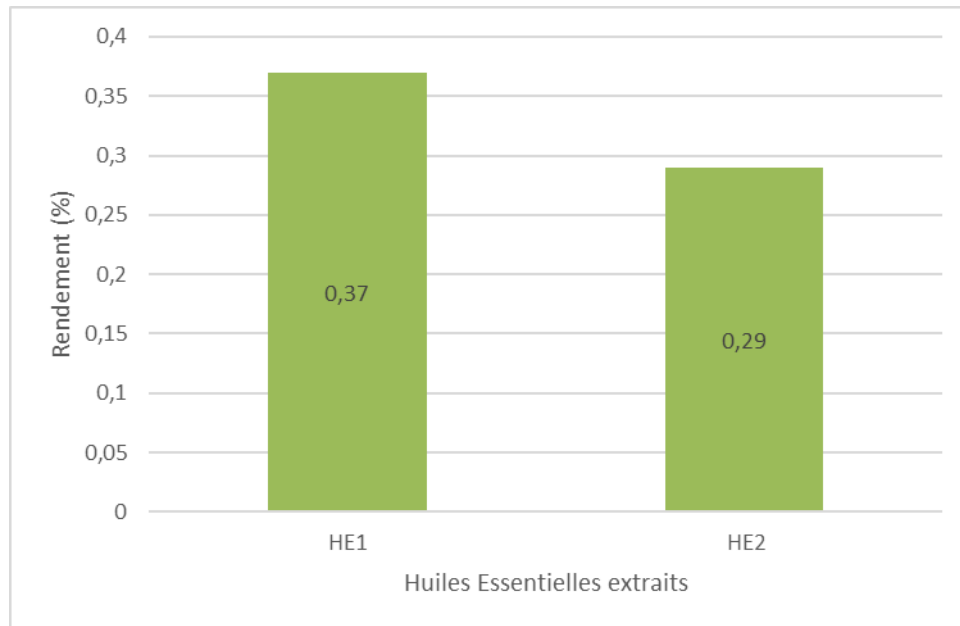
**Figure 10 :** Rendement des différents extraits de l'espèce *SantolinaI chamaecyparissus*.

La détermination du rendement d'extractions de la partie aérienne de plante *S. chamaecyparissus* a montré que Le bon résultat sont enregistrés chez l'extrait méthanoïque brut de tige avec une pourcentage de 35%.

Ensuit les rendements le plus faible sont acétate d'éthyle et n-butanol, avec pourcentage 0.40 et 0.37%, respectivement.

## 1.2. Rendement des huiles essentielles de *Santolina chamaecyparissus*

Les huiles essentielles ont été extraits à partir les différentes parties de *Santolina chamaecyparissus* par hydro distillation sur un appareil de Clevenger, l'échantillon d'huile essentielle est récupéré et conservé au réfrigérateur.



**Figure 11** : rendement en huile essentielles de l'espèce *S. chamaecyparissus*.

**HE1** : huile essentielle extraite dans notre étude.

**HE2** : huile essentielle extraite par (Chergui, 2020).

Le rendement den huile essentielle de partie aérienne de notre plante est moyenne, il est égal à 0.37% dans 200g de la matière végétale. Ce résultat est trop fort que celui du (Chergui, 2020) Avec0.29% dans 350g de la matière végétale.

Cette différence de rendement en huiles essentielles varie à cause des conditions (la méthode, le matériel employés dans l'extraction, l'environnement, la période de récolte de cette plante, les conditions de séchage).

➤ **Caractères de l'huile essentielle**

Les caractères organoleptiques de l'huile essentielle de *S. chamaecyparissus* (aspect, couleur, odeur) sont résumés dans ce tableau :

**Tableau 04** : caractéristiques organoleptiques d'huile essentielle de santoline.

Caractères	Huile essentielle étudiée par Clevenger
Aspect	Liquide
Couleur	Jaune
Odeur	Forte et agréable

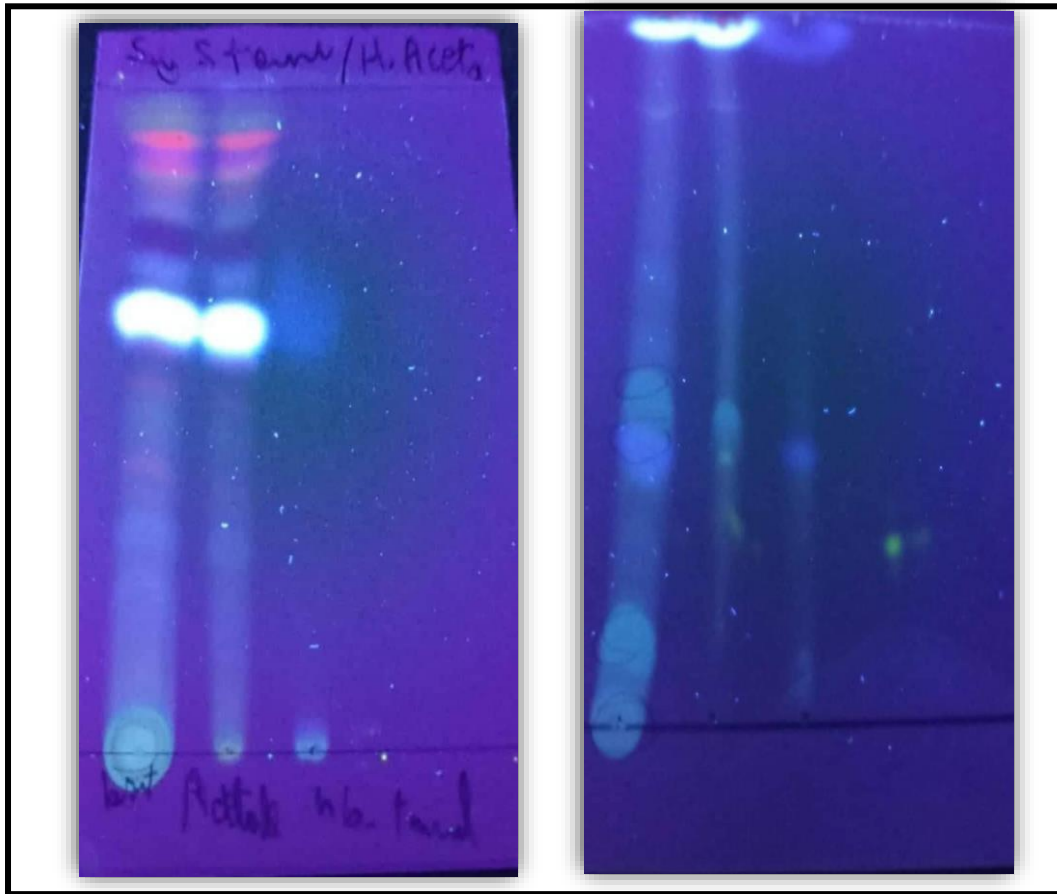
**2. Etude phytochimique des extraits**

**2.1. Analyses quantitatives des extraits**

**2.1.1. Chromatographie sur couche mince (CCM)**

Pour un essai d'analyse qualitative du contenu phénolique de nos différents extraits (extrait d'acétate d'éthyle, extrait n-butanol, l'extrait brut) de la partie aérienne et des racines de plantes *S. chamaecyparissus* nous avons en recours à l'utilisation de la chromatographie sur couche mince (CCM). Puisqu'elle est L'une des méthodes habituelles pour la séparation et la purification des différents constituants d'un extrait végétal.

Dans notre étude, nous avons réalisé la séparation des extraits, en utilisant Quatre systèmes solvants moyennement polaires. Sous lumière UV les différentes taches des produits qui se présentent sur les chromatogrammes ont été délimitées. Les couleurs des spots et leurs Rf observés sous UV suite à une analyse par chromatographie sur couche mince. Les résultats représentés dans les figures, et les tableaux.



**Figure 12** : révélation de la plaque de CCM par la lampe UV de l'extrait brute de la partie aérienne de la plante *S. chamaecyparissus*.

**Tableau 05 :** Rf et les couleurs des spots obtenus dans les deux systèmes par CCM dans l'extrait brut de plante *S. chamaecyparissus*.

Extrait brut			
N des systèmes	Partie aérienne de la plante <i>Santolina chamaecyparissus</i>		
	N des spots	Couleur des spots	RF
01	01	Bleu claire	0.25
	02	Jaune clair	0.32
	03	Bleu fluorescent	0.65
	04	Bleu	0.68
	05	Violet	0.75
	06	Violet clair	0.80
	07	Jaune clair	0.86
	08	Rose claire	0.92
	09	Rose fluorescent	0.95
	10	Vert claire	0.97
02	01	Bleu claire	0.11
	02	Bleu	0.27
	03	Vert claire	0.46
	04	Bleu fluorescent	0.93

Par le biais de ces systèmes de solvants, nous avons pu mettre en évidence pour l'extrait brute de *S. chamaecyparissus* :

- Dans le système solvant N02 (Acétate d'éthyle/heptane (8 :2)) et N02 (Acétate d'éthyle/méthanol /H2O (8 :1 :0.5)), le nombre des spots est différents dans chaque système, et de variable Rf de différentes couleurs.

- Le système solvant N01 (Acétate d'éthyle/heptane (8 :2)) donne une meilleure séparation des composés phénoliques, où la partie aérienne de *S. chamaecyparissus* est riche en composés phénoliques avec 10 spots de variable Rf et de différentes couleur (Bleu claire, Jaune clair, Bleu fluorescent, Bleu, Violet, Violet clair, Jaune clair, Rose claire, Rose fluorescent, Vert claire).

**Tableau 06 :** Rf et les couleurs des spots obtenus dans les deux systèmes par CCM dans l'extrait d'acétate d'éthyle de plante *S. chamaecyparissus*.

Extrait d'acétate d'éthyle			
N des systèmes	Partie aérienne de la plante <i>Santolina chamaecyparissus</i>		
	N des spots	Couleur des spots	RF
01	01	Bleu fluorescent	0.63
	02	Bleu	0.68
	03	Violet	0.75
	04	Violet claire	0.80
	05	Jaune clair	0.86
	06	Rose clair	0.92
	07	Rose fluorescent	0.95
	08	Vert claire	0.97
02	01	Vert	0.27
	02	Bleu	0.32
	03	Bleu fluorescent	0.93

- La partie aérienne de *S. chamaecyparissus* donne une meilleure séparation des composé phénoliques dans les deux systèmes avec l'extrait d'acétate d'éthyle.

- Le nombre des spots avec le système solvant N01 (Acétate d'éthyle/heptane (8 :2)) est supérieur que celle dans le système solvant N02 (Acétate d'éthyle/ méthanol /H2O (8 :1 :0.5)), qui ne citent respectivement :
- ✓ 8 spots avec les couleurs : (Bleu fluorescent, Bleu, Violet, Violet claire, Jaune clair, Rose clair, Rose fluorescent, vert claire) ;
- ✓ 3 spots avec les couleurs : (vert, bleu, bleu fluorescent).

**Tableau 07** : Rf et les couleurs des spots obtenus dans les deux systèmes par CCM dans l'extrait n-butanol de plante *Santolina chamaecyparissus*.

Extrait n-butanol			
N des systèmes	Partie aérienne de la plante <i>Santolina chamaecyparissus</i>		
	N des spots	Couleur des spots	RF
01	01	Bleu roi	0.68
02	01	Vert	0.89
	02	Bleu	0.42

- La partie aérienne de *Santolina chamaecyparissus* donne une faible séparation des composé phénoliques dans les deux systèmes avec l'extrait n-butanol
- Le nombre des spots avec le système solvant N02 (Acétate d'éthyle/ méthanol /H2O (8 :1 :0.5)) est supérieur que celle dans le système solvant n01(Acétate d'éthyle/heptane (8 :2)), qui ne citent respectivement :
- ✓ 2 spots avec les couleurs : (Vert, Bleu).
- ✓ 1 spot avec la couleur : bleu roi.

L'étude de Chromatographie sur couche mince (CCM) réalisé par (Sifouane, 2021) Montre un meilleur poids de fraction des spots avec le système solvant (EP/Acétate d'éthyle (85 :15)).

### 3. Résultats des tests biologiques

#### 3.1. Activité antibactérienne

L'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de plante *S. chamaecyparissus* a été évalué par la méthode de diffusion de disque en milieu gélosés solide MH. La lecture des résultats sur boîte se fait grâce à l'observation des halos d'inhibition autour des disques. L'estimation de la zone d'inhibition permet la caractérisation de la sensibilité ou de la résistance des souches aux extraits.

Les résultats obtenus sont présentés dans les tableaux ci-dessous :

**Tableau 08** : valeurs de diamètre des zones d'inhibition (en mm) de l'extrait brute de plante *S. chamaecyparissus* relatives aux souches bactériennes testées.

Concentration						
Souches bactérienne	Extrait	16mg/ml	8mg/ml	4mg/ml	2 mg/ml	Sensibilité
Diamètre de zone d'inhibition en mm						
<i>Staphylococcus aureus</i>	Extrait brut	13	0	0	0	-

Les résultats présentés dans le tableau et les figures montrent que l'activité antimicrobienne est très faible dans l'extrait brute de la partie aérienne de plante *S. chamaecyparissus* avec les concentrations (1/2, 1/4, 1/8). Et avec les deux souches bactériennes (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*) mais avec *Staphylococcus aureus* les résultats montrent que l'activité antimicrobienne remarqué dans la concentration (1/16), avec un diamètre de zone d'inhibitions varié de 13mm.

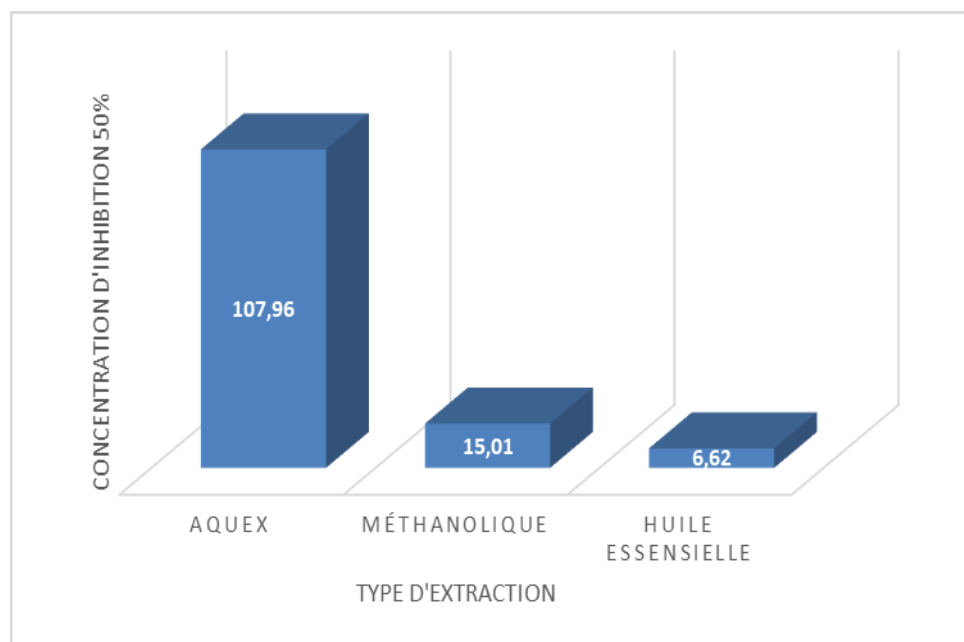
L'étude réalisé par (**chirane et al.,2019**) montre que l'extrait brute de la partie aérienne de la plantes, *chamaecyparissus* a un effet inhibiteur vis-à-vis des deux souches bactériennes :

- Un effet inhibiteur vis-à-vis de *S. aureus* avec un diamètre d'inhibition estimé de  $14 \pm 0.4$  mm.
- Un effet inhibiteur vis-à-vis *E.coli* avec un diamètre d'inhibition estimé de 9 mm.

Une autre étude de (**Benbrinis, 2018**) Montre que l'activité antibactérienne et remarqué dans l'extrait brute de la plante *S, chamaecyparissus* vis-à-vis *pseudomonas aeruginosa*, avec un diamètre de zone d'inhibitions 8,5mm.

### 3.2. Activité antioxydant

L'activité antioxydant vis-à-vis le radical DPPH a été évaluée par le spectrophotomètre suivant la réduction de ce radical qui 'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune à 517 nm. Les résultats obtenus :



**Figure 13** : représentation de l'inhibition du radical DPPH par l'estimation des valeurs d'IC50 des différents extraits de *S, chamaecyparissus*.

La figure montre une comparaison générale sous forme d'histogrammes des résultats obtenus pour tous les extraits (Huile essentielle, Méthanoïque, AQUEX).

30g de la partie aérienne de *S. chamaecyparissus* a donné 3.9g d'extrait aqueux (13%) qui a l'aspect d'une poudre tandis que la macération de la même quantité dans le méthanol 4.62g (15.4%) d'extrait de couleur brune, ces résultats sont proches de celui trouvé par (**Benbrinis, 2018**) pour 30g de la partie aérienne a donné 3g d'extrait aqueux(10g) et la macération de la même quantité dans le méthanol a donné 3.78g (12.6%) d'extrait de couleur brune.

L'analyse des résultats de  $IC_{50}$  d'huile essentielle indiquent une meilleure activité antioxydante ( $IC_{50}= 6.62$ ) que celles de l'extrait aqueux (107,96) et l'extrait méthanoïque (15,01).

Les résultats obtenus par (**Benbrinis,2018**) montrent que les extraits aqueux et méthanoïque de *S. chamaecyparissus* ont des valeurs d' $EC_{50}$  trop faibles de l'ordre de 22  $\mu\text{g/ml}$  et 16  $\mu\text{g/ml}$  respectivement.

# **Conclusion**

## Conclusion

Les plantes aromatiques sont fréquemment utilisées dans médecine traditionnelle et les huiles essentielles extraites de ces plantes sont largement utilisées comme antioxydants et antimicrobiens ainsi que pour la prévention et le traitement de différentes maladies humaines, de nombreuses plantes aromatiques et médicinales sont devenues attrayantes pour les scientifiques sources naturelles d'agents naturels qui pourraient être plus sûres que les sources synthétiques.

Le présent travail a été consacré à l'étude bibliographique et l'activités biologiques et de la photochimie de *S. chamaecyparissus*, plante médicinale très connues pour ses vertus thérapeutiques variées.

L'analyse bibliographique, il ressort que cette plante appartenant à la famille des Astéracées porte de nombreux synonymes végétaux.

La détermination du rendement en extraits a montré que les rendements d'extractions Varient en fonction du solvant utilisé pour l'extraction de la partie aérienne de plante testée. Le bon résultat sont enregistrés chez l'extrait méthanoïque brut avec un pourcentage de 35%. Ensuite les rendements le plus faible sont acétate d'éthyle et n-butanol, avec pourcentage 0.40 et 0.37%, respectivement. Tandis que le rendement d'huile essentiel est meilleur par Rapport les autres payes avec 0.37%.

L'analyse qualitative par la méthode de CCM indique la présence des différents compose phénoliques dans les différents extraits de plante étudiée avec différentes de nombres des spots et des couleurs avec des 2 systèmes solvant. Le système N°1 (Acétate d'éthyle/heptane (8 :2)) est le système qui donné une meilleure séparation des molécules pour l'extrait brut, on observe 10 spots dont et Rf varie (de 0.25 à 0.97).

Le test de l'activité biologique des extraits de cette plante montre qu'ils possèdent une activité antioxydant qui déterminé par la méthode de DPPH avec IC<sub>50</sub> de trois extraits (Huile essentielle, Méthanoïque, AQUEx), L'analyse des résultats de IC<sub>50</sub> d'huile essentielle indiquent une meilleur activité antioxydant (IC<sub>50</sub>= 6.62) que celles de l'extraits aqueux (107,96) et l'extraits méthanoïques (15,01).

Une activité antibactérienne de extraits de notre plante par la méthode de diffusion en milieu gélosé en présence de 3 espèces bactériennes pathogènes (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*), a permis de montre que les extraits sont ne actifs qu'avec la souche bactérienne *Staphylococcus aureus* avec un diamètre d'inhibition 13mm.

Enfin, La plante *S. chamaecyparissus* est une source prometteuse d'agents antioxydants mais de faibles agents antibactériens ce qui est expliqué par la nature des composés présents dans cette plante.

**Référence**  
**Bibliographique**

**Abdelkrim, B., Abdelouahab, K. (2019).** Contribution à l'étude phytochimique (par chromatographie à couche mince : CCM), des activités antibactériennes et des activités antioxydantes de l'extrait des feuilles de myrte (*Myrtus Cummnis, l*) de la région du nord constantinoise (Doctoral dissertation), P :32.

**Bandoniené, D., Murkovic, M., Pfannhauser, W., Venskutonis, P., et Gruzdiené, D. (2002).** Detection and activity evaluation of radical scavenging compounds by using DPPH free radical and on-line HPLC-DPPH methods. *European Food Research and Technology*, 214(2), P: 143-147.

**Barrero A F, Mar Herrador M, Quilez J F, Alvarez- Manzaneda R, Portal D, Gavin J A, Gravalos D G, Simmonds M S J and Blaney W M (1999).** Bioactive ses Qu terpenes from *Santolina rosmarinifolia* subsp. Canescens. A conformational analysis of the germacrane ring. *Phytochemistry*, 51, P:529-541.

**Benbrinis, S. (2018).** Evaluation des activités antioxydante et antibactérienne des extraits de *Santolinachamaecyparissus* (Doctoral dissertation) P : 62-64.

**Bentabet, O. (2008).** Recherche et détermination structurale des métabolites secondaires de *Santolina chamaecyparissus* mémoire, université mentouri Constantine, Algérie.

**Berreghioua, A. (2016).** Investigation phytochimique des extraits bioactifs de deux *Brassicaceae* médicinales du sud Algérien : *Moricandiaarvensis* et *Zillamacroptera* (Doctoral dissertation, Université de Tlemcen-Abou Bekr Belkaid). P: 39.

**Bonnier. (1934).** Flore complète de France, Suisse et Belgique. Édition 10, P : 118.

**Bouchouka E. (2016).** Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes Sahariennes. Thèse Doctorat. Université Badji Mokhtar – Annaba.

**Bouhdid S., Abrini J., Baudoux D., Manresa A., Zhiri A. (2012).** "Les huiles essentielles de l'origan compact et de la cannelle de Ceylan : pouvoir antibactérien et mécanisme d'action." *Journal de Pharmacie Clinique* 31(3) : 141-148.

**Bounatirou, S., Smiti, S., Miguel, M.G., Fileiro, L., Rejeb, M.N., Neffati, M., Costa, M.M., Figueiredo, A.C., Barosso, J.G., Pedro, L.G. (2007).** Chemical composition and antibacterial activities of the essential oil sisolated from Tunisian *Thymus capital* us Hoff. Et Link. ; 105 ; 146-155.

**Bouriche, H., Moussaoui, S., Meziti, H., et Senator, A. (2013, June).** Anti-inflammatory activity of methanolic extract of *Santolina chamaecyparissus*. In International Symposium on Medicinal Plants and Natural Products 1098 P: 23-30.

**Bremer K., (1994),** *Asteraceae*, Cladistics and Classification. (Timber Press) p:752.

**Bruneton, j (1999).** Pharmacognosie, photochimie, plantes médicinales. 3ème Ed. Tec et doc. Lavoisier. Paris.

**Bruneton, J. (1993).** Pharmacognosie : phytochimie plantes médicinales (No. 581.634 B7).

**Chergui, A. (2020).** Etude des propriétés physico-chimique et biologique de l'huile essentielle d'une plante Algérienne (*S. incana*) P : 59.

**Chibani, S. (2012).** Etude phytochimique et biologique de six plantes médicinales de l'est algérien, Thèse, université constantine 1.

**Chirane, M. S., Benchabane, O., Bousbia, N., et Zenia, S. (2019).** Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and ethanol extract of *Santolina chamaecyparissus* L. *agrobology*, 9(2), P: 1660-1668.

**Couic-Marinier, F., et Lobstein, A. (2013).** Composition chimique des huiles essentielles. *Actualities pharmaceutiques*, 52(525), P:22-25.

**Cox P. A., Balick M. J., (1994),** The ethnobotanical approach to drug discovery. *Journal of Science American* 270(6): 82-87.

**Cuilel, N., (1983).** Methodology analysis of vegetal drogs. Rmania. P: 1-32.

**Dai J., Mumper R. J., (2010).** Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*. 15(10) : 7313-52.

**Defraigne J and Pincemail C (2008).** Stress oxydant et antioxydants : mythes et réalités. *Rev Med Liège* ; 63, 10-19.

**Diallo, A. (2005).** Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* Willd. (Myrtaceae). PhD. Of the University Bamako, Mali, 38-47.

**Djami, Y. (2014).** Contribution à l'étude bioécologique de la faune des Invertébrés dans les trois stations à *Santolina incana* (Asteracées) dans le parc de Tlemcen, Mémoire, *Universite aboubakr belkaïd – TLEMCEN, Algérie*.

- Dutot, M., Rambaux, L., Warnet, J. M., et Rat, P. (2008).** Modulation du stress oxydant par la myrtille riche en polyphénols sur un modèle de cellules humaines de rétine. *Journal français d'ophtalmologie*, 31(10), 975-980. *Ecology in Health and Disease*. Vol.11.P: 129-142.
- Ferfad, T. (2008).** Extraction et analyse des huiles essentielles de *Santolina chamaecyparissus*, Mémoire, Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene (U.S.T.H.B), Algérie.
- Fleuriet A., Jay-Allemand C., Macheix J.J., (2005).** Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechniques et universitaires. Romandes. P : 121-216.
- Fontaine, E. (2007).** Radicaux libres. In *Traité de nutrition artificielle de l'adulte*. Springer, Paris.P:251-257.
- Ghedira K (2005).** Flavonoids: structure, biological activities, prophylactic function and therapeutic uses. *Phytothérapie*, 3(4), P : 162-169.
- Giorgi, P., Giacò, A., Astuti, G., Minuto, L., Varaldo, L., De Luca, D., ... & Peruzzi, L. (2022).** An Integrated Taxonomic Approach Points towards a Single-Species Hypothesis for *Santolina (Asteraceae)* in Corsica and Sardinia. *Biology*, 11(3), P : 356.
- Girotti-Chanu, C. (2006).** Etude de la lipolyse et de la synthèse de composés du derme sous l'effet de la cirsimarine, flavone extraite de *Microtea adabilis*. Thèse de doctorat. Institut national des sciences appliquées de Lyon. P : 136.
- Goudable, J. et Favier, A. (1997).** Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition Clinique et Métabolisme* 11, P : 115-120.
- Guignard J.L., (1996).** Abrégé de biochimie végétale, Ed. Masson, Paris. P : 160.
- Harkati B. (2011).** Valorisation et identification structurale des principes actifs de la plante de la famille *Astéraceae* : *Scorzonera undulata*. Thèse doctorat : Chimie organique. Constantine : Université de Mentouri Constantine. P : 4-5.
- Hopkins, W. (2003).** *Physiologie végétale*, 3ème édition, boeck, Université rue des Minimes 39-B-1000 Bruxelles, p : 138-139-267.
- Jiofack T, Ayissi I, Fokunang C, Guedje N, Kemeuze V, 2009.** Ethnobotany and phytomedicine of the upper Nyong Valley forest in Cameroon. *African Journal of Pharmacy and pharmacology* P : 144-150.

**Judd, W. S., Campbell, C. S., Kellogg, E. A., et Stevens, P. (2002).** Botanique systématique : une perspective phylogénétique. De Boeck. Paris. P : 84-88-87-336.

**Kassah-Laouar, A. (2020).** Les antibiotiques De la définition princeps à la toto résistance. Revue Aurassienne du Laboratoire : 136.

**Khandelwal, S., Sharma, P., Singh, T., et Vijayvergia, R. (2011).** Quantitative estimation and comparative study of primary metabolites of some medicinal plants. *Journal of Current Pharma Research*, 2(1), P: 378.

**Kisiel W, Dawid-Pač R, Grabarczyk H and Nowak G (2003).** Germacrane Derivatives from *Santolina pinnata* subs. *neapolitana*. *Zeitschrift für Natur for schung*, 58, 793-796.

**Koechlin-Ramonatxo C. (2006)** Oxygen, oxidative stress and antioxidants supplementation, or another way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition Clinique et Métabolique*. 20, P : 165-177.

**Laib, N., et Megag, B. (2020).** Etude des propriétés biologiques des métabolites secondaires de quelques espèces végétales de la famille Astéracées (Doctoral dissertation, University of Jijel).

**Li, Y., Kong, D., Fu, Y., Sussman, M. R., et Wu, H. (2020).** The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 148, P: 80-89.

**Mahmoudi, S., Khali, M., Mahmoudi, N. (2013).** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynarascolymus L.*). P :36.

**Marouf, A., Reynaud, J. (2007).** La botanique de A à Z. DUNOD, paris, P :9-114-151- 167-176-177-295-298.

**Matsuda H., Morikawa T., Toguchida I., Harima S., Yoshikawa M., (2002),** *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 50 P: 972.

**Mercan, D. (2010).** Le stress oxydatif. ARL, Lausanne, Unilabs. Mokhtar- Annaba (Algérie). P : 20.

**Merck, F. (2017).** La biodiversité végétale au service des ingrédients naturels : Étude des propriétés antimicrobiennes et antioxydantes d'extraits végétaux et développement d'un conservateur naturel pour l'industrie cosmétique, Thèse, Université Côte d'Azur, France.

- Messaoudi, D. (2017).** Effet hépato protecteur et propriétés antioxydants de *Santolina chamaecyparissus*, Thèse, Université Ferhat Abbas Sétif 1.
- Nataro, J. P., et Kaper, J. B. (1998).** Diarrheogenices *Echerichia coli*. *Clinical microbiology reviews*, 11(1), P: 142-201.
- Nauciel, Vildé. 2005.** Bactériologie médicinal. 2émé Ed. Masson. Paris. P : 5-10.
- Papazian, L. et Roch, A. (2008).** Le syndrome de détresse respiratoire aiguë, Edition Springer, p 153.
- Patrick, B., Jean, L., Michel, S. (1988).** Bactériologie : les bactéries des infections humaines. 1<sup>er</sup> Ed. Médecine- Sciences Flammarion. Paris. P : 100-108-274.
- Ponce, A., R. Fritz, C. Del Valle,** and S. Roura, Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT-Food Science and Technology*, **2003**. 36(7): P : 679-684.
- Quezel, P. and S. Santa,** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, C.N.R.S, Editor. 1962. P : 565.
- Raven, H., Evert, R.F., Eichhon, S.E. (2014).** Biologie végétale ,3édition, boeck rue des minimes Paris, P : 30-33-34.
- Rebbas., Bounar R., Gharzouli R., Ramdani M., Djellouli Y, Alatou D. 2012.** Plantes d'intérêt médicinale et écologique dans la région d'Ouanougha (M'Sila, Algérie). Springer-Verlag France 2012 P: 1-6.
- Reguieg, L. (2011).** Using medicinal plants in Algeria. *Am J Food Nutr*, 1(3), 126-127.
- Richard, C., kiredjian, M. (1995).** Méthodes de laboratoire pour l'identification des bacilles à gram négatif aérobies stricts : *Pseudomonas*, alcaligenes, flavobacterium, Acinetobacter, brucelle, Bordetella. 2<sup>ème</sup> édition. Ed institut. Pasteur. Paris. P: 42-43.
- Rouessac, F et Rouessac, A. (2004).** Méthodes et techniques instrumentales modernes 6e édition. Dunod, Paris.
- Sánchez-Moreno, C. (2002).** Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food science and technology international*, 8(3), 121-137.
- Sifouane, S. (2021).** Etude phytochimique de deux plantes *Atractylis humilis* et *Carduncelluspinnatus* (Asteraceae) (Doctoral dissertation, UB1) P : 151-154.

**Sine, J.P. (2003).** Séparation et analyse des biomolécules : méthodes physicochimiques cours et exercices. Ellipses Éditions marketing S A. P: 99-101.

**Singh U, Devaraj S and Jialal I (2005).** vitamin E, oxidative stress, and inflammation. *Annual Review of Nutrition*, 25, 151-175.

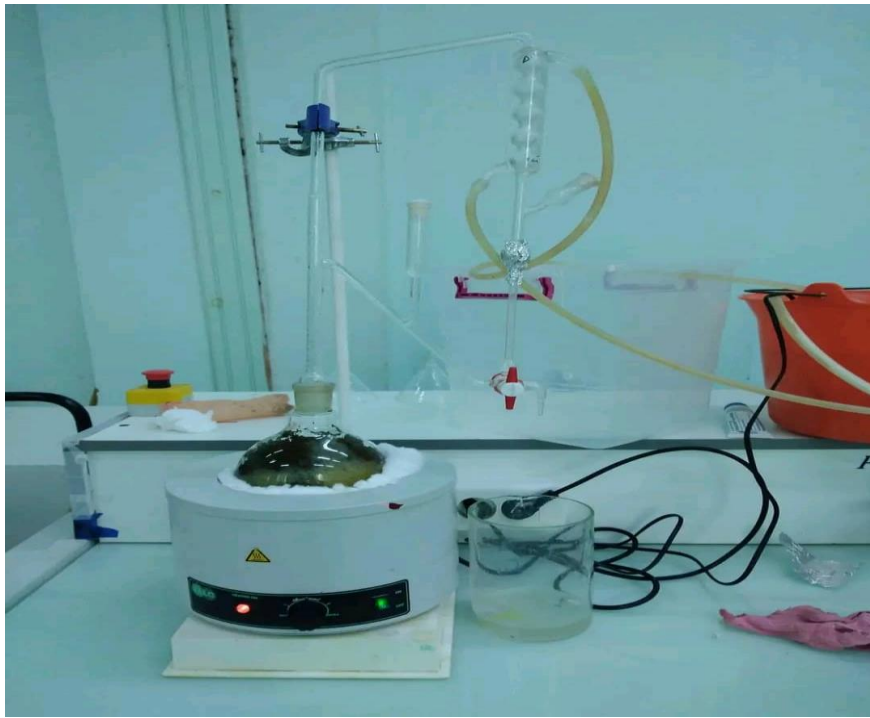
**Suhaj, M., 2006.** Spice antioxidants isolation and their antiradical activity: are view. *Journal of Food Composition and Analysis* 19, 531–537.

**Utrecht, Y. T., Suzette, E., Bennekom, S.R., Haaksbergen, T. S.** Série Le Jardin (Arbustes), 1995, p. 63.

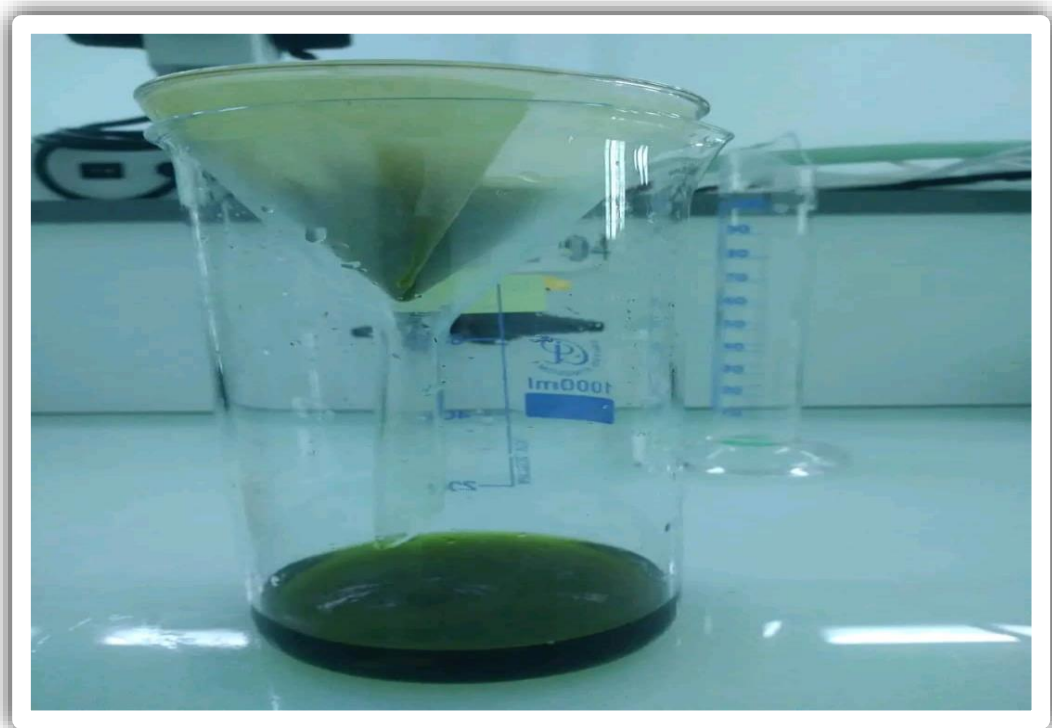
**Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M and Telser J (2007).** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J BiochemCell Biol*, 39(1), 44-84.

**Vârban D.I., Duda M., Vârban R., et Muntean S. (2009)** Research Concerning the Organic Technology for Satureja Hortensis L. Culture. *Bulletin UASVM Agriculture*. 66(2), 225- 229.

# **Annexes**



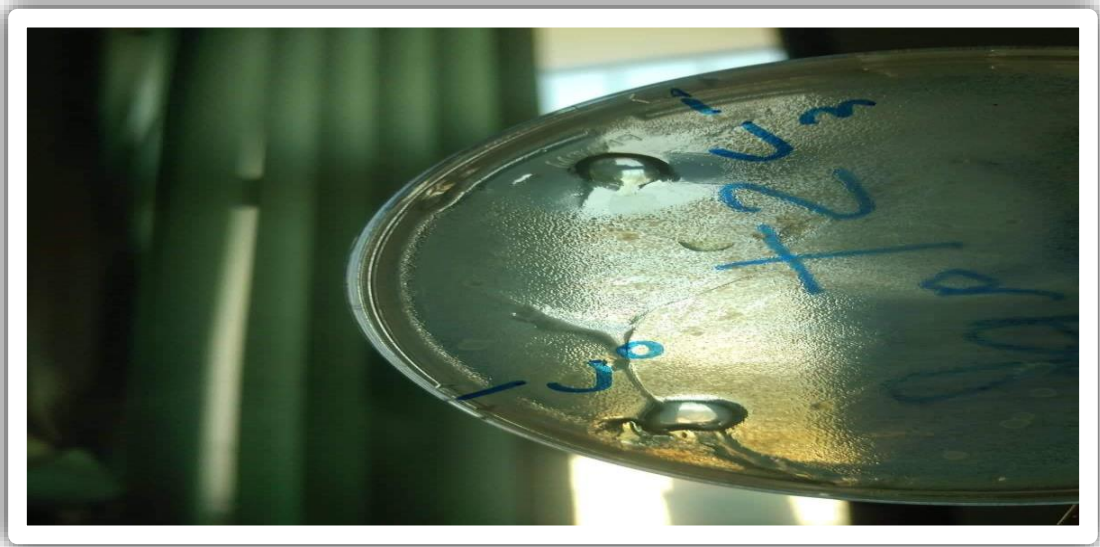
**Figure :** montage de l'appareil du type Clevenger.



**Figure:** la filtration.



**Figure:** montage de l'appareil du Rota vapeur.



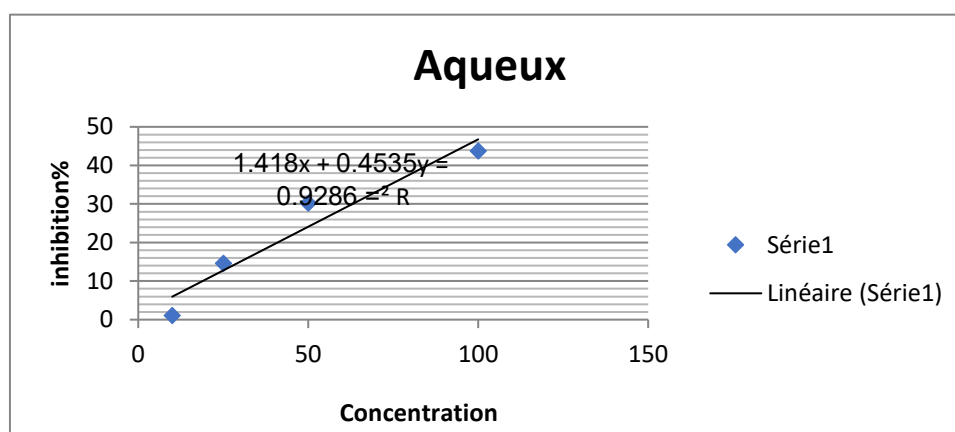
**Figure :** effet de l'extrait brute de la partie aérienne de la plante *Santolina chamaecyparissus* sur la souche bactérienne *Staphylococcus aureus*.



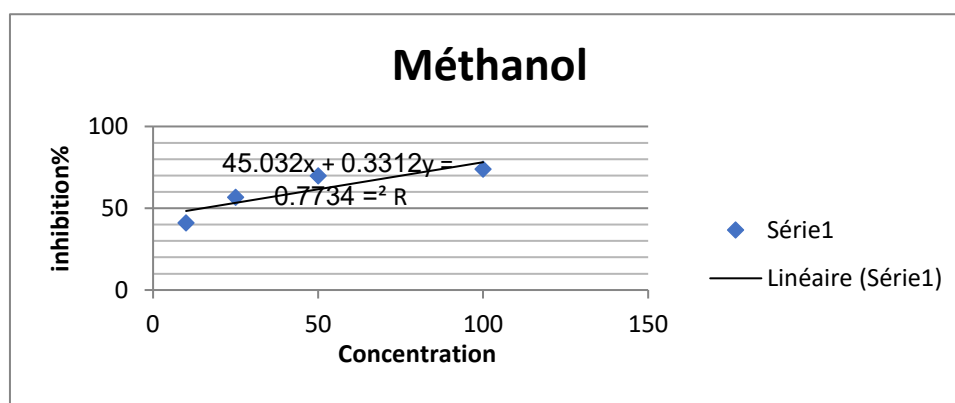
**Figure :** HE essentielle de *S. chamaecyparissus*.



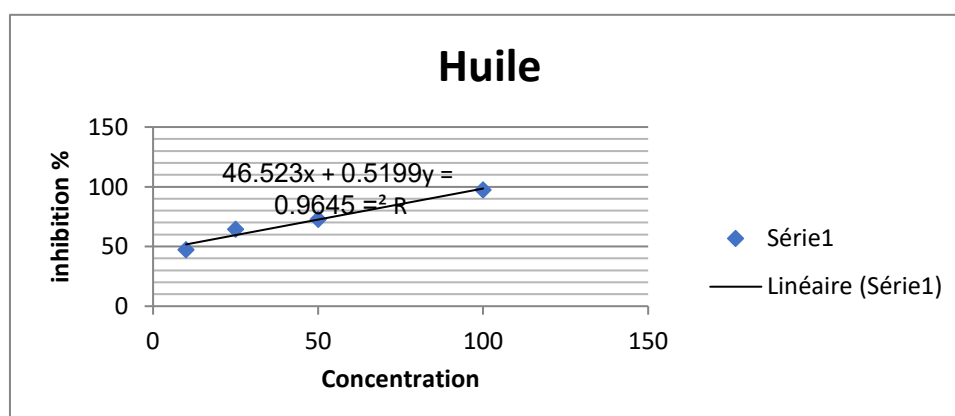
**Figure:** Appareil de spectrophotomètre.



**Figure :** Courbe d'étalon d'activité antioxydant de l'extrait aqueux.



**Figure :** Courbe d'étalon d'activité antioxydant de l'extrait méthanoïque.



**Figure:** Courbe d'étalon d'activité antioxydant de l'huile essentielle.

## Abstract

*Santolina chamaecyparissus* is a medicinal plant, belonging to the *Asteraceae* family. Commonly called by the population "Jaada". Extraction of this plant obtained a yield the essential oil with the percentage 0.37%. The good results are recorded in the crude methanolic extract of stem with a percentage of 35%. Then the lowest yields are ethyl acetate and n-butanol, with percentage 0.40 and 0.37%, respectively. The analysis by thin layer chromatography indicates a better separation of phenolic compounds with the system (Ethyl acetate/heptane (8:2)) for the crude extract. Antioxidant activity was estimated using DPPH. The analysis of IC<sub>50</sub> results of essential oil indicates better antioxidant activity (IC<sub>50</sub>= 6.62). The antibacterial activity, against 3 bacterial strains shows that the extracts are only active with the bacterial strain *Staphylococcus aureus* with an inhibition diameter 13mm.

**Key words:** *Santolina chamaecyparissus*, antioxidant activity, antibacterial activity, Extraction, essential oil.

## Résumé :

*Santolina chamaecyparissus* est une plante médicinale, appartenant à la famille des Astéraceae. Appelée communément par la population "Jaada". Extraction de cette plante obtenue un rendement l'huile essentielle important avec le pourcentage 0.37%. Le bon résultat sont enregistrés chez l'extrait méthanoïque brut de tige avec une pourcentage de 35%. Ensuite les rendements le plus faible sont acétate d'éthyle et n-butanol, avec pourcentage 0.40 et 0.37%, respectivement. L'analyse par la chromatographie sur couche mince indique une meilleure séparation des composés phénoliques avec le système (Acétate d'éthyle/heptane ((8 :2)) pour l'extrait brut. L'activité antioxydant a été estimée à l'aide de la DPPH. L'analyse des résultats de Ic50 d'huile essentielle indiquent une meilleur activité antioxydant (Ic50= 6.62). L'activité antibactérienne, contre 3 souches bactériennes montre que les extraits sont ne actifs qu'avec la souche bactérienne *Staphylococcus aureus* avec un diamètre d'inhibition 13mm.

**Mots clés :** *Santolina chamaecyparissus*, activité antioxydant, huile essentielle, activité antibactérienne, Extraction.

## المخلص

"*Santolina chamaecyparissus*" نبات طبي ينتمي إلى عائلة "Asteraceae" عادة ما يطلق عليها السكان "الجعدة". واستخراج هذا النبات ينتج الزيت العطري المهم بنسبة 0.37%. تم تسجيل النتيجة الجيدة في المستخلص الجذري الخام "Méthanol Brut" بنسبة 35%. وبنسبة أقل في مستخلص "n - Butanol -acétate d'éthyle" بنسبة مئوية 0.40 و 0.37% على التوالي. يشير التحليل باستخدام كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة إلى فصل عدد كبير لمتعددات الفينول مع نظام المذيبات ((Éthyle acétate / heptane (8: 2))) للمستخلص الخام. تم تقدير نشاط مضادات الأكسدة باستخدام DPPH. تحليل نتائج IC<sub>50</sub> يشير إلى أن الزيت العطري له فعالية أفضل لمضادات الأكسدة (IC<sub>50</sub> = 6.62)، ويظهر النشاط المضاد للبكتيريا ضد 3 سلالات بكتيرية أن المستخلصات نشطة فقط مع السلالة البكتيرية. كما أظهر تقييم النشاط المضاد للبكتيريا ضد 3 سلالات بكتيرية أن مستخلصات النبتة لها نشاط جيد مع السلالة البكتيرية "*Staphylococcus aureus*" التي يبلغ قطر تثبيطها 13 مم.