

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

**Université du 20 août 1955 – SKIKDA**



Faculté des Sciences

Département de Chimie

**Mémoire de Master**

Filière : chimie-Spécialité : chimie pharmaceutique

**Screening phytochimique et l'évaluation des activités  
biologiques de l'espèce *Viola Odorata*.**

Présenté par :

**Kara Asma & Hazzaz Aya**

**Soutenu le 25/06/2024**

Devant le jury :

**Président : Dr. BOUHALI Hasna (MCB)**

**Encadreur : Dr. AISSAOUI Hanane(MCB)**

**Co-Encadreur: Dr. BENABDERRAHMANE Wassila (MCB)**

**Examinatrice : Dr. CHABANE Hanane (MCB)**

# Remerciement

الحمد لله الذي اعاننا على انهاء هذا العمل و سخر لنا القوة لاتمامة فكل التوفيق منه وحده و كل سهو او خطأ فمنا او من الشيطان.

Avant tout, nous tenons à remercier Allah le tout puissant de nous avoir donné la force, le courage, la patience et la chance de réaliser ce modeste travail et arriver à ce stade-là.

Nous exprimons tout d'abord nos profonds remerciements à notre encadrante, Docteur **Hanane AISSAOUI**, pour l'honneur qu'elle nous a fait en nous encadrant, pour sa disponibilité permanente, ses précieux conseils. Nous tenons à lui exprimer toute notre gratitude pour cela.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à la co-encadrice, Dr. **Wassila BENABDERRAHMANE**, pour son suivi et son énorme soutien. Qu'elle a travaillé sans relâche tout au long du projet.

Nous exprimons également nos chaleureux remerciements aux membres du jury, le **Dr. Hasna BOUHALI** et le **Dr. Hanane CHABANE**, d'avoir accepté d'examiner et de juger ce modeste travail.

Nous remercions également l'équipe du laboratoire de chimie de l'université de SKIKDA et plus particulièrement **S. CHENNIKI** pour leur aide et leurs commentaires constructifs sur la cognition.

Nous tenons à remercier notre chef de spécialité, **Dr. MAHMOUDI**, pour sa patience et sa disponibilité au sein du département. Merci également à tous les enseignants du département de chimie et de la faculté des sciences en général, qui nous ont formées durant nos cinq années en chimie et dont l'enseignement est resté précieux tout au long de notre cursus universitaire.

**Merci, à tous.**



# إهداء

بكل حب اهدي ثمرة نجاحي و تخرجي

الى الذي زين اسمي باجمل الالقاب , من دعمني بلا حدود و اعطاني بلا مقابل الى من علمني ان الدنيا كفاح و سلاحها العلم و المعرفة , داعمي الاول في مسيرتي و سندي و قوتي و ملاذي بعد الله فخري و اعتزازي

## والدي العزيز

الى من جعل الله الجنة تحت اقدامها , واحتضني قلبها قبل يديها و سهلت لي الشدائد بدعائها , الى القلب الحنون و الشمعة التي كانت لي في الليالي المظلمات سر قوتي و نجاحي و جنتي

## امي العزيزة

الى رفيق دربي و قرّة عيني من شاركني الفرح و الحزن و شاطرني لحظات النجاح و الفشل.....

## خطيبي الغالي

الى ضلعي الثابت و امانتي ايامي الى ما شددت عظمي بهم فكانوا لي ينابيع ارتوي منها الى خيرة ايامي و صفوتها الى قرّة عيني .....

## الى اخواني و اخواتي الغاليين

لكل من كان عوناً و سندا في هذا الطريق للاصدقاء الاوفياء و رفقاء السنين لاصحاب الشدائد و الازمات الى من افاضني بمشاعره و نصائحه المخلصة اليكم عائلتي اهديكم هذا الانجاز و ثمرة نجاحي الذي طالما تمنيته ها انا اليوم اكملت و اتممت اول ثماراته بفضلته سبحانه و تعالى الحمد لله على ما وهبني و ان يجعلني مباركا و ان يعينني اينما كنت فمن قال انا لها نالها فانا لها و ان ابت رغما عنها اتيت بها فالحمد لله شكرا و حبا و امتنانا على البدء و الختام و اخر دعواهم ان ....

(الحمد لله رب العالمين)

♥ ASMA ♥





# إهداء

الحمد لله حبا وشكرا وامنتانا على البدء والختام

وأخر دعواتهم أن الحمد لله رب العالمين

ارى مرحلتي الدراسية قد شارفت على الانتهاء بالفعل، بعد تعب ومشقة دامت سنين في سبيل الحلم والعلم حملت في طياتها أمنيات الليالي، وأصبح عنائي اليوم للعين قرّة، ها أنا اليوم أقف على عتبة تخرجي أقطف ثمار تعبتي وأرفع قبعتي بكل فخر ، فاللهم لك الحمد قبل أن ترضى ولك الحمد اذا رضيت ولك الحمد بعد الرضا، لأنك وقفتني على إتمام هذا النجاح وتحقيق حلمي.

وبكل حب أهدي ثمرة نجاحي وتخرجي

إلى الذي زين إسمي بأجمل الألقاب، من دعمني بلا حدود وأعطاني بلا مقابل إلى من علمني أن الدنيا كفاح وسلاحها العلم والمعرفة، داعمي الأول في مسيرتي وسندي و قوتي و ملاذي بعد الله فخري و اعتزازي

ابي الغالي

إلى من جعل الله الجنة تحت قدميها، واحتضني قلبها قبل يديها وسهلت لي الشدائد بدعائها

امي العزيزة

إلى من بهم أكبر وعليهم أعتمد ومن بوجودهم أكتسب قوة ومحبة لا حدود لها وإلى من عرفت معهم معنى

الحياة إخواني و اخواتي

وأخيرا من قال أنا لها " نالها " وأنا لها إن أبت رغما عنها أتيت بها، ما كنت لأفعل دون توفيق من الله ها

هو اليوم العظيم هذا اليوم الذي أجريت سنوات دراستي شاقّة حاملة بها حتى توالت بمنه وكرمه الفرحة

التمام، فالحمد لله الذي ما تيقنت به خيرا وأملا إلا وأعرفني سرورا وفرحا ينسيني مشقتي.

♥ AYA ♥



# T ABLE DES MATIERES

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale..... 1

## CHAPITRE I : APERÇU BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. Famille des Violacées..... 3

I.1.1. Classification de la famille des Violacées..... 3

I.1.2. Description botanique..... 4

I.2. Genre *Viola*. *L*..... 4

I.2.1. Morphologie..... 5

I.3. Espèces *Viola odorata*. *L*..... 6

I.3.1. Position systématique..... 6

I.3.2. Nom vernaculaire..... 7

I.4. Usage traditionnel..... 7

I.5. Constituants chimiques du l'espèce *Viola odorata*..... 7

I.6. Activité biologique et pharmacologique..... 8

I.6.1. Activité anti-inflammatoire..... 9

I.6.2. Activité antitumorale et anticancéreuse..... 9

I.6.3. Activité antidyslipidémique..... 9

I.6.4. Activité diurétique..... 9

I.6.5. Activité antioxydante.....	9
I.6.6. Activité anticoagulante.....	9
I.6.7. Activité antifongique.....	10
I.6.8. Activité antimicrobienne.....	10
I.6.9. Activité cytotoxique.....	10
I.6.10. Activité antipyrétique.....	10
I.6.11. Répulsion contre les moustiques.....	10
I.6.12. Maux de tête et insomnie.....	10
I.7. Conclusion.....	11

## **CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES**

II.1. Matériel végétal.....	12
II.2. Macération et extraction.....	12
II.3. Rendement.....	15
II.4. Screening phytochimique.....	15
II.4.1. Recherche des terpènes et stérols insaturés.....	15
II.4.2. Recherche des triterpènes.....	16
II.4.3. Recherche des saponines.....	16
II.4.4. Recherche des coumarines.....	17
II.4.5. Recherche des flavonoïdes.....	17
II.4.6. Recherche des leucoanthocyanes.....	17
II.4.7. Recherche des anthocyanes.....	18
II.4.8. Recherche des quinones.....	18

II.4.9. Recherche des tanins.....	18
II.4.10. Recherche des alcaloïdes.....	19
II.5. Analyses quantitatives par spectrophotométrie.....	19
II.5.1. Détermination des polyphénols totaux (TPC).....	19
II.5.2. Détermination des flavonoïdes totaux (TFC).....	20
II.6. Evaluation des activités antioxydantes.....	21
II.6.1. Test de réduction du radical DPPH.....	22
II.6.2. Test de piégeage du cation radical ABTS <sup>•+</sup> .....	23
II.6.3. Test de piégeage réducteur ferrique (FRAP).....	25
II.6.4. Test de réduction par la formation du complexe Fe <sup>+2</sup> phenantroline...	27
II.7. Activité antifongique.....	28
II.8. Activité antibactérienne.....	32

### **CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS**

III.1. Rendement.....	35
III.2. Résultats de screening phytochimique.....	36
III.3. Discussion des résultats de l'activité antioxydante.....	38
III.3.1. Dosage des polyphénols totaux (TPC).....	38
III.3.2. Dosage des flavonoïdes totaux (TFC).....	40
III.3.3. Test de réduction du radicale DPPH.....	41
III.3.4. Activité du piégeage du cation radical ABTS <sup>•+</sup> .....	44
III.3.5. Activité du pouvoir réducteur (FRAP).....	46

III.3.6. Activité de réduction par la formation du complexe Fe <sup>+2</sup> -	
Phénanthroline .....	47
III.4. Evaluation de l'activité antifongique.....	48
III.5. Activité antibactérienne.....	52
Conclusion générale.....	57
Références bibliographiques.....	58
Résumé	
Abstract	
الملخص	

# LISTE DES ABREVIATIONS

**Abs** : Absorbance

**ABTS**: 2, 2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid).

**A<sub>0,50</sub>** : Concentration indiquant 0,50 d'absorbance

**ACoEt** : Acétate d'éthyl

**AlCl<sub>3</sub>** : Le chlorure d'aluminium

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

**D** : Diamètre des zones d'inhibition.

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

**DMSO** : Diméthylsulfoxyde

**EAG** : Equivalents d'acide gallique

**EQ** : Equivalent de quercétine

**FCR** : Folin- Ciocalteu

**FeCl<sub>2</sub>** : Chlorure de fer(II)

**FeCl<sub>3</sub>** : Chlorure de fer

**FOL**: *Fusarium oxysporum* f.sp

**FRAP** : Pouvoir antioxydant réducteur du fer (Ferric Ion Reduction Antioxidant Parameter)

**g** : Gramme

**HCl** : Acide chlorhydrique

**H<sub>2</sub>O** : Eau

**H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** : Acide sulfurique

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

**I<sub>2</sub>** : Diode

**Kg** : Kilogramme

**KI** : Iodure de potassium

**K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>** : Ferricyanure de potassium

**K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>** : Persulfate de potassium

**M** : Molaire

**m** : Masse

**MeOH** : Méthanol

**mg/ml** : Milligramme par millilitre

**ml** : Millilitre

**mm** : Millimètre.

**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>** : Carbonate de sodium

*n*-BuOH : *n*- butanol

**NaOH** : Hydroxyde de sodium

**nm** : Nanomètre

**PDA** : Gélose dextrose à la pomme de terre (Potato Dextrose Agar)

**SD** : Standard de déviation

**T** : Température

**TCA** : Acide trichloroacétique

**TFC** : Contenu total en flavonoïdes

**TPC** : Contenu total en polyphénols

**Trolox** : Acide 3,4-dihydro-6-hydroxy-2,5,7,8-tétraméthyl-2H-1-benzopyran-2-carboxylique

**µl** : Microlitre

**µg** : Microgramme

**UV** : Ultraviolet.

**V/V** : Volume sur volume.

**%** : Pourcentage

# LISTE DES FIGURES

<b>Figure I.1 :</b> Image représente une plante de la famille des Violacées, appartenant au genre <i>Viola</i> .....	4
<b>Figure I.2:</b> La répartition mondiale du genre <i>Viola</i> .....	5
<b>Figure I.3 :</b> <i>Viola odorata. L.</i> .....	6
<b>Figure II.1 :</b> Fleurs de <i>Viola odorata</i> .....	12
<b>Figure II.2 :</b> Illustration de l'extraction liquide –liquide.....	13
<b>Figure II.3 :</b> Protocole d'extraction des extraits de <i>Viola Odorata</i> .....	14
<b>FigureII.4 :</b> Dosage des polyphénols totaux sur microplaque.....	20
<b>Figure II.5 :</b> Dosage des flavonoïdes totaux sur microplaque.....	21
<b>Figure II.6 :</b> Mécanisme de réduction du radical DPPH <sup>*</sup> par un antioxydant.....	22
<b>Figure II.7:</b> Profil de la microplaque de dosage de l'activité anti-radicalaire (DPPH).....	23
<b>Figure II.8:</b> Formation et piégeage du radical ABTS <sup>•+</sup> par un antioxydant.....	24
<b>Figure II.9:</b> Profil de la microplaque de dosage de l'activité antiradicalaire (ABTS).....	25
<b>Figure II.10:</b> Réduction du Fe <sup>+3</sup> par un antioxydant dans le test du pouvoir réducteur.....	26
<b>Figure II.11:</b> Profil de la microplaque de dosage de l'activité du pouvoir réducteur (FRAP).....	26
<b>Figure II.12:</b> La réaction de la formation du complexe Fe <sup>+2</sup> –phenantroline.....	27
<b>Figure II.13:</b> Profil de la microplaque de dosage de l'activité de réduction par la formation du complexe Fe <sup>+2</sup> - phenanthroline.....	28
<b>Figure II.14 :</b> Préparation du milieu PDA.....	29

<b>Figure II.15</b> : Préparation des extraits.....	30
<b>Figure II.16</b> : Protocol de l'activité antifongique.....	31
<b>Figure III.1</b> : Le Rendement en % des différents extraits.....	35
<b>Figure III.2</b> : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	39
<b>Figure III.3</b> : Evaluation de la teneur des polyphénols totaux des extraits de <i>V. odorata</i> .	39
<b>Figure III.4</b> : Courbe d'étalonnage de la Quercétine.....	40
<b>Figure III.5</b> : Evaluation de la teneur de flavonoïdes totaux des extraits de <i>V. odorata</i> ....	41
<b>Figure III.6</b> : Cinétique d'activité anti-radicalaire des extraits de <i>V. odorata</i> sur le radical DPPH.....	42
<b>Figure III.7</b> : Valeurs des IC <sub>50</sub> du test DPPH.....	43
<b>Figure III.8</b> : Courbe de pourcentages d'inhibition du radical ABTS par les extraits testés.....	44
<b>Figure III.9</b> : Histogramme de la IC <sub>50</sub> des extraits et des standards par le test ABTS.....	45
<b>Figure III.10</b> : L'histogramme présente les valeurs de A <sub>0,5</sub> du test FRAP.....	46
<b>Figure III.11</b> : Valeurs de A <sub>0,5</sub> du test de phénanthroline.....	48
<b>Figure III.12</b> : Taux d'inhibition des quatre extraits.....	49
<b>Figure III.13</b> : La croissance mycélienne des quatre extraits.....	50
<b>Figure III.14</b> : Activité antifongique des extraits de l'espèce <i>Viola Odorata</i> .....	51
<b>Figure III.15</b> : Activité antifongique de l'extrait AcOEt (250 mg/ml).....	51
<b>Figure III.16</b> : T- et T+ <i>Staphylococcus aureus</i> .....	55
<b>Figure III.17</b> : T- et T+ <i>Escherichia coli</i> .....	55

# LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau I.1 :</b> La répartition mondiale de la famille <i>Violacée</i> .....	3
<b>Tableau I.2 :</b> La place dans la systématique de <i>Viola odorata</i> .....	6
<b>Tableau I.3:</b> Liste des métabolites secondaires (composés) isolés de <i>Viola odorata</i> ....	8
<b>Tableau II.1 :</b> Les souches bactériennes utilisées.....	32
<b>Tableau III.1 :</b> Rendement des extraits brut par macération.....	35
<b>Tableau III.2 :</b> Résultats de screening phytochimique.....	36
<b>Tableau III.3 :</b> Valeurs de l'IC <sub>50</sub> pour l'inhibition du DPPH par les extraits et les standards.....	42
<b>Tableau III.4 :</b> Pouvoir d'inhibition IC <sub>50</sub> des extraits et du standard utilisant le test d'ABTS <sup>+</sup> .....	45
<b>Tableau III.5 :</b> Pouvoir réducteur A <sub>0,5</sub> des extraits et du standard utilisant le test FRAP.....	46
<b>Tableau III.6 :</b> Les valeurs de A <sub>0,5</sub> des extraits et du standard sont obtenues en utilisant le test de phénantroline. ....	47
<b>Tableau III.7 :</b> Résultats du test antifongique des quatre extraits.....	49
<b>Tableau III.8:</b> Résultats du test antibactérien des quatre extraits.....	53
<b>Tableau III.9 :</b> Photos montrant la sensibilité des bactéries avec les quatre extraits.....	54

# **I** NTRODUCTION GENERALE

# INTRODUCTION GENERALE

---

Pendant de nombreux siècles, les plantes ont été le principal moyen de guérison à la disposition de l'homme. Les connaissances sur les propriétés médicinales des plantes se sont développées et se sont enrichies dans de nombreuses civilisations à travers le monde, grâce à des pratiques empiriques. Les anciens, dotés d'un remarquable sens de l'observation, ont su mettre en lumière les vertus des plantes médicinales, dont l'efficacité n'a jamais été remise en question par l'usage [1]. Ces ressources médicinales continuent d'être utilisées dans les pays en développement, même en l'absence d'un système médical moderne [2]. La médecine traditionnelle ne se limite pas aux seuls pays en développement; même dans les pays industrialisés, l'utilisation de thérapies alternatives a connu une croissance significative au cours des dernières décennies [3, 4].

D'après les informations de l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé), environ 6377 espèces de plantes sont employées en Afrique, dont plus de 400 sont des plantes médicinales qui représentent 90% de la médecine traditionnelle.

Aujourd'hui, la recherche de nouveaux composés actifs contre de nombreuses maladies repose sur les produits naturels. Il est devenu essentiel de mettre en valeur ces ressources naturelles afin de mieux comprendre le mode d'action, les principes actifs et les effets secondaires de la phytothérapie sur la santé humaine [5]. Il est crucial d'évaluer les propriétés antimicrobiennes et antioxydantes des plantes, en particulier celles qui ne sont pas connues et utilisées dans la médecine populaire, car ces espèces peuvent constituer une source potentielle de composés bioactifs [6].

Notre étude s'inscrit dans le cadre d'une analyse phytochimique visant à évaluer les propriétés antioxydantes, antifongiques et antibactériennes des divers extraits d'une plante médicinale *Viola odorata*.

Le présent manuscrit est divisé en trois chapitres: aperçu bibliographique, matériel et méthodes et résultats et discussion.

Dans le premier chapitre, on aborde l'aperçu bibliographique sur la famille des Violacées, le genre *Viola*, et l'espèce *Viola odorata*, en mettant l'accent sur sa composition en métabolites secondaires et ses activités biologiques.

Dans le deuxième chapitre, on explore la partie expérimentale, qui inclut le protocole d'extraction, analyses phytochimiques qualitatives et quantitatives, ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante, antifongique, antibactérienne des extraits chloroforme, acétate d'éthyle, *n*-butanol et méthanolique.

## **INTRODUCTION GENERALE**

---

Le troisième chapitre comprend une analyse des résultats obtenus, suivie d'une discussion qui mettra en lumière leur importance par rapport aux données de la littérature, ainsi que leur comparaison avec des études antérieures portant sur des plantes de la même famille.

Enfin, le manuscrit s'achève avec une conclusion qui permettra de tirer quelques perspectives pour ce travail.

# **C**HAPITRE I **C**APERÇU BIBLIOGRAPHIQUE

## I.1. Famille des Violacées

La famille des violacées, également connue sous les noms d'Alsodeiacée, Leoniacée ou Retrosepalacée [7]. La famille des violacées compte environ 800 espèces et 20 genres [7]. Elle est fréquente dans différents pays du monde tels que l'Algérie, le Maroc, le Portugal, la Tunisie et la France.

**Tableau I.1** : La répartition mondiale de la famille Violacée. [8]

Violacée	Mad	Can	Mau	Mar	Alg	Tun	Lib	Egy
<b>Total genres</b>	1	1	0	1	<b>1</b>	1	1	1
<b>Total taxons</b>	4	8	0	18	<b>9</b>	5	1	3
<b>Endémique (*)</b>	1	3	-	4	-	-	-	-
<b>Prés. incertaine (?)</b>	-	1	-	2	<b>1</b>	-	-	-
<b>Eteint (E)</b>	-	-	-	-	<b>1</b>	-	-	-

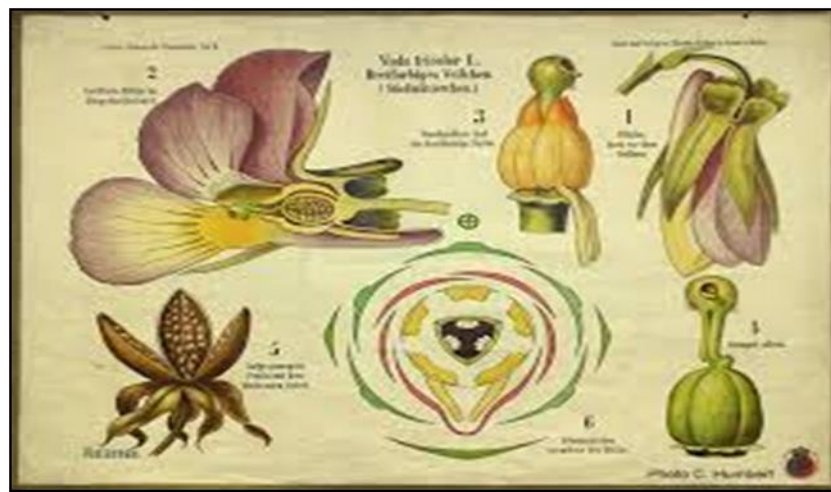
**Mad** : Îles de Madère (Portugal), **Can** : Îles Canaries (Espagne), **Mau** : Mauritanie saharienne, **Mar** : Maroc, y compris l'île d'Alborán, **Alg** : Algérie, y compris Sahara, **Tun** : Tunisie, **Lib** : Libye, **Egy** : Égypte, y compris J. Elba, à l'exclusion du Sinä

### I.1.1. Classification de la famille des Violacées

La famille est actuellement subdivisée en trois sous-groupes, comprenant la sous-famille des Leonioidée d'Amérique du Sud et des Fuispermoidée, à la fois monogénériques et potentiellement primitifs, ainsi que les Violoidées plus évoluées contenant les autres genres. La sous-famille des Violoidées est à peu près également divisée en deux tribus, les Violée et les Rinoreée, principalement en fonction de la zygomorphie relative du périanthe, ainsi que de la présence ou de l'absence de nectar, respectivement. Les Rinoreée se composent de quatre sous-tribus, Rinoreinae, Hymenantharinae, Isodendriinae et Paypayrolinae, qui se distinguent par la symétrie florale, le degré de différenciation des pétales, le type de fruit et la morphologie androïde [9].

### I.1.2. Description botanique

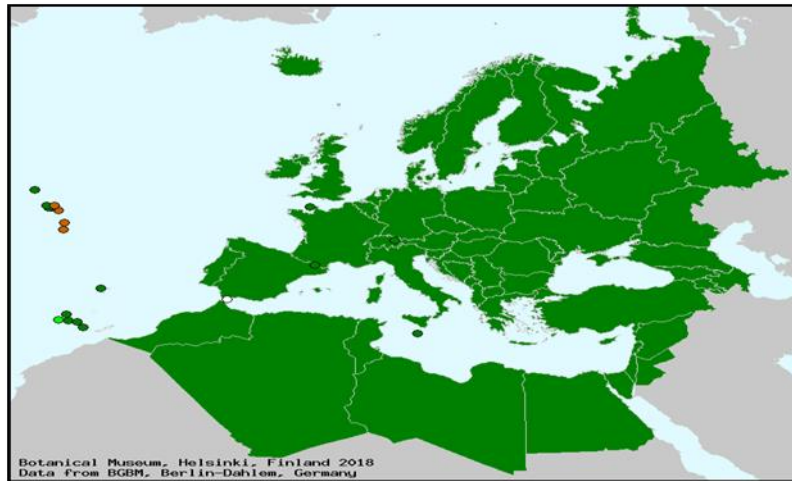
Ces plantes sont des herbes vivaces ou des arbustes à feuilles simples, rarement opposées. Leurs fleurs sont bisexuées, soit zygomorphes soit actinomorphes, avec un calice de cinq pétales et une corolle de cinq pétales, dont un pétale antérieur plus grand et saillant. L'androecium se compose de cinq étamines, tandis que le gynoecium présente un pistil composé de trois carpelles fusionnés, des ovules supérieurs et une capsule de fruit. Cette famille a un rôle économique limité, à l'exception de quelques espèces populaires comme le Jardin préféré, les Violettes, les Violes et les Pensées [10].



**Figure I.1** : Image représente une plante de la famille des Violacées, appartenant au genre *Viola*. [11]

## I.2. Genre *Viola*. L

Le genre *Viola* L. est le plus vaste parmi les Violacées, comptant environ 600 espèces, et il est le seul largement répandu dans l'hémisphère Nord [12]. La classification infra-générique a connu des variations, mais une analyse phylogénétique récente suggère que ce genre peut être subdivisé en deux sous-genres et 16 sections à l'échelle mondiale [13].



**Figure I.2:** La répartition mondiale du genre *Viola* [14]

En Algérie, on dénombre 11 espèces appartenant au genre *Viola* : *Viola alba* Besser., *Viola albasubsp. dehnhardtii* (Ten.) W. Becker, *Viola arborescens* L., *Viola arvensis* Murray., *Viola hirta* L., *Viola kitaibeliana* Schult., *Viola munbyana* Boiss. & Reut., *Viola odorata* L., *Viola reichenbachiana* Boreau., *Viola riviniana* Rchb., et *Viola tricolor* L.

### I.2.1. Morphologie

Les espèces de ce genre sont principalement des herbes bisannuelles ou vivaces présentes dans les régions tropicales, subtropicales et tempérées, bien qu'elles puissent parfois se présenter sous forme de sous-arbrisseaux et de rhizomes. La morphologie générale des *Viola* révèle des tiges courtes avec ou sans rhizomes, capables de croître annuellement ou sur plusieurs mois. Les feuilles peuvent avoir diverses formes, allant d'ovales triangulaires à cordées, dentelées, crénelées ou même ailées. Elles peuvent également présenter des stipules, être lancéolées-ovales, entières dentées ou fimbriées [15]. Les fleurs de *Viola* ont cinq sépales et cinq éperons formant les pétales, sont zygomorphes, portent un pédoncule bractée, et possèdent des anthères en forme de cône qui recouvrent l'ovaire. Les filaments sont courts, larges et distincts, formant un éperon de corolle, tandis que l'ovaire est sessile avec un sommet épaissi, un style incurvé et un stigmate qui peut être lobé, droit ou en bec. Leurs graines sont rondes, ovales, lisses et brillantes, avec un fruit en forme de capsule à trois valves [16].

Toutefois, les différentes espèces du genre *Viola* présentent une diversité morphologique considérable.

### I.3. Espèces *Viola odorata*. L

La morphologie de *Viola odorata* est de ses feuilles sont simples, dentées, disposées à la base, le stock d'herbes vivaces court. Il possède en forme de cœur feuilles aux bords festonnés ou légèrement dentelés qui sont vert foncé, touffes radicales, largement cordées, rondes au haut, et poussent en rosette à la base de la plante [17], les fleurs sont soit violet foncé, bleu, rosâtre ou blanc jaunâtre [17, 18].



**Figure I.3 :** *Viola odorata*. L

#### I.3.1. Position systématique

Le positionnement de *Viola odorata* dans la systématique est illustré dans le tableau ci-dessous.

**Tableau I.2 :** La place dans la systématique de *Viola odorata* [14]

Règne	Plante
Division	Tracheophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Malpighiales Bercht. & J. Presl
Famille	Violacée
Genre	<i>Viola</i> L.
Espèce	<i>Viola odorata</i> L

### **I.3.2. Nom vernaculaire**

- En arabe : Banafsaj [19, 20]
- En anglais : Violet doux [19, 21-23]
- En Français : Fleur de Mars, Jacee de printemps, Violette, Violet, Violet cultivé, Violet de mars, Violet parfumé, Violet des fourresaisons, Violier commun [24]

### **I.4. Usage traditionnel**

*Viola Odorata* L. est une plante médicinale largement reconnue qui a été traditionnellement employée dans diverses formulations pour traiter différentes affections médicales.

Dans la médecine traditionnelle iranienne, la *Viola odorata* était utilisée pour traiter l'insomnie [25,26], la toux, la fièvre et les maux de tête [26 - 28]. En outre, c'est également une plante médicinale importante qui est utilisée pour traiter la bronchite et rhume. [29] Il est également utilisé comme expectorant, diaphorétique, diurétique et laxatif [30]

En Algérie, on utilise les fleurs de *V. odorata* dans la médecine traditionnelle pour leurs propriétés apaisantes.

### **I.5. Constituants chimiques du l'espèce *Viola odorata***

Une étude phytochimique de *Viola odorata* implique l'analyse des composés chimiques présents dans la plante. Voici quelques-uns des composés phytochimiques couramment trouvés dans *Viola odorata* (Tableau I.3).

**Tableau I.3:** Liste des métabolites secondaires isolés de *Viola odorata*

Name	Formule moléculaire
Cyanidin 3-glycosides, 3- <i>O</i> -[ <i>L</i> -Rhamnopyranosyl-(1→6)- $\beta$ -D-glucopyranoside] [31-33]	C <sub>27</sub> H <sub>31</sub> O <sub>15</sub> <sup>+</sup>
2,4-Dimethyldodecane [34]	C <sub>14</sub> H <sub>30</sub>
3,4-Dimethylheptane [35]	C <sub>9</sub> H <sub>20</sub>
2,5-Heptadien-1-ol [34]	C <sub>7</sub> H <sub>12</sub> O
1-Octadecene [36]	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub>
5,10-Pentadecadien-1-ol [34]	C <sub>15</sub> H <sub>28</sub> O
3-Pentadecenal [34]	C <sub>15</sub> H <sub>28</sub> O
2,2,6,6-Tetraméthyl-4-piperidinone [37]	C <sub>9</sub> H <sub>17</sub> NO
Methyl salicylate [17]	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>
Ethyl hexanoate [17]	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>
Rutine [38]	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>
Isovitexine [38]	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub>
Kaempférol-6-glucoside [38]	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>

L'extraits méthanoliques et éthanoliques de *Viola odorata* : Pentane 2,3,4-Triméthyl (45%), acide *N*-hexadécanoïque (28,85%), 10-Undécyn-1-ol (14,43%) et acide pentadécanoïque (8,14%) [39].

L'analyse de la composition en huiles essentielles des feuilles de *Viola odorata*. L a révélé la présence de 25 composés identifiés, représentant 92,77% de l'huile totale, dont le butyl-2-éthylhexylphtalate (30,10%) et le 5,6,7,7a-tétrahydro-4,4,7a-triméthyl-2(4H) -benzofuranone (12,03%) sont les deux principaux composants [40].

## I.6. Activité biologique et pharmacologique

*Viola odorata*, une plante médicinale souvent employée dans la médecine traditionnelle, les résultats tirés des nombreuses recherches biologiques réalisées au cours des dernières décennies sur les extraits et les phytoconstituants actifs de l'espèce *Viola odorata* peuvent être résumés comme suit :

### **I.6.1. Activité anti-inflammatoire**

L'extrait aqueux de *Viola odorata* s'est révélé efficace dans le traitement des inflammations pulmonaires [41]

### **I.6.2. Activité antitumorale et anticancéreuse**

La partie aérienne complète, englobant la tige, les fleurs et les feuilles, est utilisée dans le traitement du cancer. *Viola* a été identifiée comme une source potentielle d'outils pharmacologiques et peut servir de base à des agents antitumoraux [42].

La cycloviolacine O<sub>2</sub> (Cyo2), un cyclotide présent dans *Viola odorata* (Violacée), présente des effets antitumoraux en induisant la mort cellulaire par perméabilisation membranaire. Cette étude répertorie plusieurs cyclotides ayant une cytotoxicité significative, qui pourraient être des candidats prometteurs en tant qu'agents chimio-sensibilisants contre le cancer du sein pharmaco-résistant [43].

### **I.6.3. Activité antidyslipidémique**

L'extrait brut des feuilles de *Viola odorata* a été récemment signalé avec une activité antidyslipidémique [44].

### **I.6.4. Activité diurétique**

La fraction butanolique, aqueuse et *n*-hexane des parties aériennes de *Viola odorata* a démontré un effet diurétique significatif [45]

### **I.6.5. Activité antioxydante**

La *Viola odorata* présente des propriétés antioxydantes, comme le montrent les essais *in vitro* qui mettent en évidence l'efficacité de tous les extraits [46, 47].

### **I.6.6. Activité anticoagulante**

Des études scientifiques ont prouvé que les composés phytochimiques réduisent l'incidence des maladies thromboemboliques, ce qui confère à *Viola* des propriétés anticoagulantes bénéfiques [48, 49]. *Viola* est traditionnellement employé en Chine pour traiter les furoncles, les anthrax, éliminer la chaleur toxique, comme anti-inflammatoire et comme antidote aux morsures de serpent [50].

### **I.6.7. Activité antifongique**

L'extrait méthanolique et chloroforme de *Viola odorata* originaire d'Iran, ainsi que les huiles essentielles de cette plante, n'ont présenté aucune activité antifongique contre *C. albicans* [40]. Cependant, les huiles essentielles de *Viola odorata* ont démontré une activité modérée contre les hyphes et les spores d'*Aspergillus niger* [51]

### **I.6.8. Activité antimicrobienne**

Les recherches suggèrent que la *Viola odorata* originaire d'Iran présente une activité antimicrobienne significative contre les bactéries phytopathogènes à Gram négatif [52]. Les extraits de méthanol et d'éthanol des feuilles de *Viola odorata* se sont révélés efficaces contre toutes les souches bactériennes testées, l'extrait d'éthanol montrant une inhibition plus prononcée contre *E. coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* [53].

### **I.6.9. Activité cytotoxique**

La cycloviolacine O<sub>2</sub> isolée de *Viola odorata* a démontré des activités cytotoxiques significatives, avec une variation observée en fonction de la dose [54].

### **I.6.10. Activité antipyrétique**

*Viola odorata* a montré une activité antipyrétique orale notable chez les lapins avec des extraits obtenus à partir d'hexane, de chloroforme et de composés hydrosolubles. L'activité antipyrétique était particulièrement marquée dans les parties solubles dans l'hexane de ces extraits [55].

### **I.6.11. Répulsion contre les moustiques**

Les huiles extraites de *Viola odorata* ont montré une protection maximale pendant 8 heures et ont repoussé à 100% les moustiques *Aedes*, *Anopheles* et *Culex* [56].

### **I.6.12. Maux de tête et insomnie**

Il peut être utile dans le traitement des maux de tête, de l'insomnie, des étourdissements et de l'épuisement [57].

## **I.7. Conclusion**

En conclusion, *Viola odorata* contient une diversité de phytoconstituants qui participent à ses multiples actions pharmacologiques. Cependant, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour évaluer le mécanisme d'action des plantes médicinales présentant une diversité d'activités.

# **C** HAPITRE II

## **MATERIEL ET METHODES**

Dans cette partie expérimentale, notre objectif s'articule autour de l'évaluation de l'activité antioxydante, antibactérienne et antifongique des extraits de la plante *Viola odorata*. Cette étude a été réalisée au Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBt) au niveau des laboratoires 5, 9 et 10, et au laboratoire de chimie organique de l'Université 20 août 1955 à Skikda

## II.1. Matériel végétal

Dans notre recherche, nous avons acheté la plante *Viola odorata* séchée auprès d'un herboriste.



**Figure II.1 :** Fleurs de *Viola odorata*

## II.2. Macération et extraction

La technique d'extraction utilisée est la macération. Il s'agit d'une méthode extrêmement simple d'extraction solide-liquide, qui se produit en mettant la plante en contact à froid avec un sol quelconque. Parfois, le temps de contact est extrêmement long [58].

Pendant 48 heures à température ambiante, on macère le matériel végétal (100 g) dans un mélange hydro-alcoolique éthanol /eau (80: 20; v/v). On concentre le premier extrait récupéré sous pression basse à une température modérée (environ 35°C). La macération est effectuée à trois reprises avec un renouvellement du solvant et dure généralement de 24 à 48 heures.

Les trois fragments collectés sont regroupés et concentrés. On ajoute de l'eau distillée à la solution obtenue en agitation magnétique (400 ml d'eau distillée pour 1 kg de matière sèche). Une fois obtenue, la solution est laissée au repos à froid pendant une nuit à des fins de décantation. Le dépôt de la chlorophylle, des cires et du sable est facilité par cette dernière.

Après filtration, on obtient une solution aqueuse teintée de rouge brun. En procédant à une extraction liquide-liquide avec des solvants de polarité croissante, on extrait cette phase aqueuse de manière liquide-liquide, en commençant par le chloroforme, suivi de l'acétate d'éthyle et enfin du *n*-butanol.



**Figure II.2 :** Illustration de l'extraction liquide –liquide

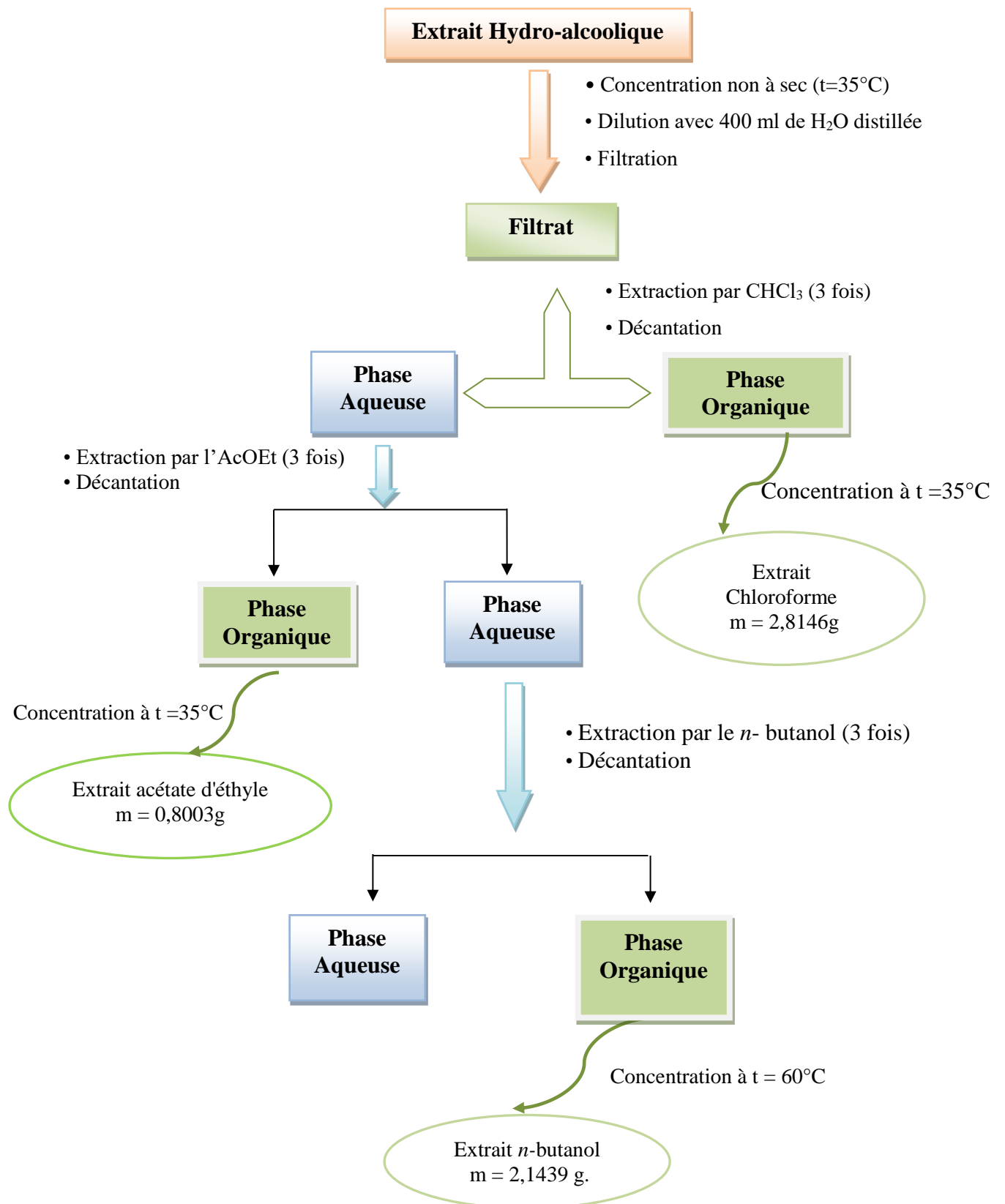
Le chloroforme épuise le filtrat, tandis que la phase organique est concentrée à sec à une température inférieure à 35°C, ce qui donne une masse de 2,8146g de l'extrait chloroforme.

On reprend la phase aqueuse résiduelle avec de l'acétate d'éthyle. Cette phase d'acétate est séchée et produit un extrait d'une masse de 0,8003g

Enfin, en utilisant la même méthode pour le *n*-butanol, on obtient un extrait de *n*-butanol de 2,1439 g.

La phase aqueuse résultant de la distillation des huiles essentielles a été traitée avec du méthanol pour produire l'extrait MeOH. (m = 7,9536 g)

Le schéma suivant montre le protocole d'extraction.



**Figure II.3 :** Protocole d'extraction des extraits de *Viola Odorata*

### II.3. Rendement

Le rendement des extraits se calcule en fonction du rapport entre le poids de l'extrait sec et le poids de la plante en poudre utilisée. On le représente en pourcentage à l'aide de la formule suivante [59] :

$$\text{Rendement d'extraction}(\%) = \frac{P_E}{P_P} \times 100$$

Où :

- $P_E$  : Poids de l'extrait sec (en g).
- $P_P$  : Poids de la plante en poudre (en g).

### II.4. Screening phytochimique

Le screening phytochimique est une méthode utilisée en pharmacognosie et en chimie des plantes pour évaluer la composition chimique des extraits végétaux. Il vise à identifier la présence de différents groupes de composés, tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tanins, etc., à l'aide de tests chimiques simples ou de réactions spécifiques. Ce processus permet d'orienter la recherche de principes actifs potentiels dans les plantes à des fins médicinales ou pharmaceutiques.

La détection de ces composés chimiques est basée sur des réactions de coloration, de turbidité ou de précipitations [60-62].

#### II.4.1. Recherche des terpènes et stérols insaturés

L'identification des stérols et des terpènes a été rendue possible grâce à l'utilisation de l'acide sulfurique et de l'anhydride acétique. Les différentes étapes ont été accomplies :

1. On ajoute un mélange MeOH / H<sub>2</sub>O (80/20) à une quantité de poudre végétale, puis on laisse macérer pendant 24 heures.
2. Agitation, filtration et évaporation à sec.
3. Ajouter 50 ml d'éther à la solution précédente et procéder à la décantation.
4. Distinction entre les deux étapes.
5. La phase contenant de l'éther est évaporée, puis 15 ml de chloroforme sont ajoutés.
6. Diviser le contenu en trois tubes à essai de manière équitable.

### Réaction à la description

- **Tube 1** : Utiliser comme témoin.
- **Tube 2** : addition 3 gouttes d'acide sulfurique.

L'apparition de la couleur rouge cerise confirme la présence des stérols insaturés.

- **Tube 3**: addition 3 ml d'anhydride acétique.

Changement rapide de la couleur indique la présence des terpènes

### II.4.2. Recherche des triterpènes

On détecte la présence des triterpènes en utilisant de l'acide sulfurique( $H_2SO_4$ ) concentré.

1. On ajoute un mélange MeOH /  $H_2O$  (80 : 20) à une quantité de poudre végétale, puis on laisse reposer pendant 24 heures.
2. Agitation, filtration et séchage à sec.
3. Le résidu obtenu doit être dissous dans 1 ml d'anhydride acétique, puis dans du chloroforme.
4. La solution est divisée entre deux tubes à essai, dont l'un est utilisé comme témoin.
5. Utilisez une pipette pour ajouter 1 ml d'acide sulfurique concentré au fond du tube (sans agitation).

La présence des triterpènes est confirmée par la formation d'un anneau rouge brunâtre ou violet dans la zone de contact des deux liquides (réaction de Libermann-burchard).

### II.4.3. Recherche des saponines

Les saponines se distinguent par leur capacité à produire de la mousse lorsqu'elles sont en solution aqueuse.

1. Mélangez 5g de la poudre végétale à analyser avec 50 ml d'eau distillée dans un erlen Mayer de 250 ml.
2. Décoction pendant une demi-heure.
3. Refroidissement du mélange.
4. Filtration puis prélèvement de 5ml du décocté dans un autre tube à essai.
5. Agitation.

La présence d'une mousse qui reste stable témoigne de la présence des saponines.

#### II.4.4. Recherche des coumarines

Ces différentes étapes ont été réalisées :

1. Mélanger 20 ml d'éther avec 1 g de poudre végétale.
2. Laisser macérer pendant une journée.
3. Filtrer le mélange puis compléter à 20 ml avec de l'eau distillée.
4. Laissez le mélange s'évaporer à l'air libre jusqu'à ce qu'il réduise à 5 ml.
5. Ajouter 2 ml d'eau distillée bouillie.
6. Diviser la solution en deux tubes à essai pour l'expérimenter.
7. Incorporer 25% d'ammoniaque dans l'un des tubes.
8. Mélanger et observer la fluorescence sous UV à 365 nm.

La présence des coumarines dans le tube contenant l'ammoniaque est confirmée par une forte fluorescence.

#### II.4.5. Recherche des flavonoïdes

Les flavonoïdes produisent des réactions de coloration spécifiques en présence de NaOH (1N), de HCl concentré et de copeaux de Magnésium.

1. Mélanger 5g de la poudre végétale à analyser avec 50 ml d'eau distillée et laisser reposer pendant 30 minutes.
2. Filtration.
3. Obtenir 6 ml d'infusé et les placer dans 3 tubes à essai, à raison de 2 ml par tube.
4. Ajouter respectivement :
  - Dans le premier tube, versez 1 ml de NaOH (1N),
  - Dans le deuxième, ajoutez 1 ml d'eau distillée.
  - Dans le troisième tube, mélangez 1 ml de HCl concentré avec des copeaux de magnésium.

Lorsque des flavonoïdes sont présents, on peut observer les colorations suivantes : jaune-rougeâtre pour les flavones, rouge à rouge-violacé pour les flavonols, rouge-foncé au violet ou bleu pour les flavonones, et jaune pour les isoflavones.

#### II.4.6. Recherche des leucoanthocyanes

En utilisant la même réaction au bain-marie sans ajout de copeaux de magnésium, la présence de leucoanthocyanes est révélée par l'apparition d'une coloration rouge.

### II.4.7. Recherche des anthocyanes

Les étapes effectuées sont les suivantes :

1. Mélanger 2,5 g de la poudre végétale à analyser dans 25 ml d'eau distillée bouillante pendant une durée de 15 minutes.
2. Filtrer et ajouter de l'eau chaude jusqu'à 25 ml.
3. Ajouter 5 ml d'acide sulfurique ( $H_2SO_4$  à 10%) à 5 ml du filtrat.
4. Ajouter 5 ml d'ammoniaque (10 %).

L'apparition d'une coloration jaune clair après acidification et son changement en bleu-violacé après l'addition de 5 ml d'ammoniaque (10%) indiquent la présence d'anthocyanes.

### II.4.8. Recherche des quinones

Les étapes réalisées comprennent :

1. Dissoudre la poudre végétale à analyser et la mouiller avec quelques gouttes d'acide chlorhydrique (HCl).
2. Pendant une période de 24 heures, on macère dans un erlenmeyer contenant 10 ml d'éther de pétrole.
3. Filtrer
4. On ajoute 2 ml de filtrat à 2 ml de NaOH à 10%, puis on agite.

Les quinones sont présentes lorsque la coloration rouge virant au violet apparaît.

### II.4.9. Recherche des tanins

#### II.4.9.1. Tanins catéchiques

1. Infusion 2,5g de végétaux dans 25ml d'eau bouillante pendant une durée de 30 minutes.
2. Collecter 2 ml de la solution précédente dans un tube à essai.
3. Ajouter une petite quantité (environ 3 gouttes) de chlorure ferrique  $FeCl_3$  (1%).

Les tanins catéchiques sont présents lorsque la coloration ou la formation d'un précipité apparaissent.

### II.4.9.2. Tanins galliques

1. Disposer 2 ml de l'infusé précédent dans un tube à essai.
2. Saturer en acétate de sodium.
3. Additionner une petite quantité de  $\text{FeCl}_3$  (1%).

La présence de tanins galliques est révélée par la formation d'un précipité.

### II.4.10. Recherche des alcaloïdes

1. On ajoute un mélange MeOH /  $\text{H}_2\text{O}$  (50 : 50) à une quantité de poudre végétale, puis on laisse reposer pendant 24 heures.
2. Filtrer le mélange
3. Introduire 1 ml de filtrat dans un tube à essai.
4. Ajouter des gouttes à partir d'un détecteur Wagner (Dissoudre 5 g de KI et 1,27 g de  $\text{I}_2$  dans 100 ml d'eau distillée).

La formation d'un précipité brun rouge indique la présence d'alcaloïdes.

## II.5. Analyses quantitatives par spectrophotométrie

### II.5.1. Détermination des polyphénols totaux (TPC)

On a mesuré la quantité totale de polyphénol dans les extraits en utilisant la méthode de Folin- Ciocalteu (FCR).

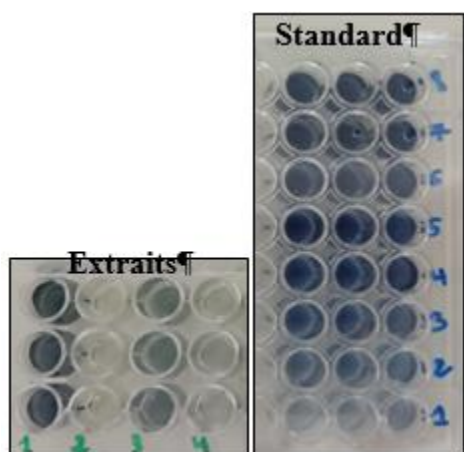
La méthode implique l'oxydation des composés phénoliques par le réactif (FCR), composé d'un mélange jaune de complexe d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique, subit une réduction pour former un mélange d'oxydes de tungstène et de molybdène. Cette réaction produit une coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en phénols totaux et qui présente une absorption maximale aux alentours de 750 nm [63].

#### Protocole :

A 20  $\mu\text{l}$  d'extrait de plante on ajoute 100  $\mu\text{l}$  de FCR dilué (1 :10) et 75  $\mu\text{l}$  de carbonate de sodium à 7,5%, et on place le mélange à l'obscurité pendant 2 heures. La lecture est réalisée à 765 nm. Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait de plante par le solvant utilisé le méthanol.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions expérimentales en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif à concentrations finales allant de 25 à 200 mg/ml (Figure II.4).

La concentration des composés phénoliques totaux dans l'extrait a été déterminée en  $\mu\text{g}$  d'équivalents d'acide gallique (EAG) par 1 mg de l'extrait à l'aide d'une équation obtenue à partir d'une courbe standard d'acide gallique.



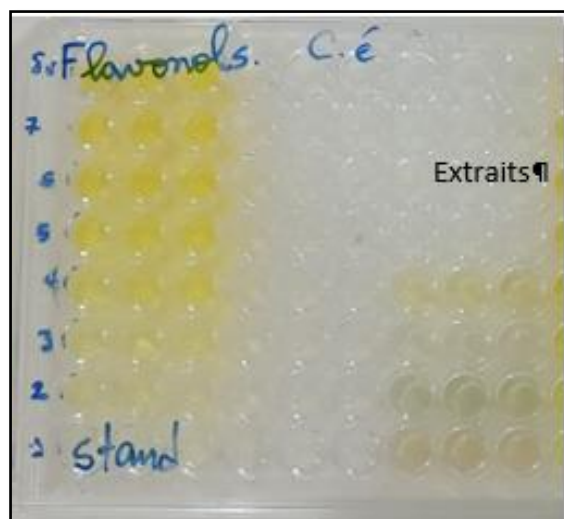
**Figure II.4 :** Dosage des polyphénols totaux sur microplaque.

### II.5.2. Détermination des flavonoïdes totaux (TFC)

On utilise la méthode des modifications du trichlorure d'aluminium  $\text{AlCl}_3$  pour évaluer la quantité de flavonoïdes présents dans les divers extraits de *Viola odorata* [64].

#### Protocole :

A 100  $\mu\text{l}$  d'échantillon ou de standard (préparé dans le méthanol), on ajoute 100  $\mu\text{l}$  de solution  $\text{AlCl}_3$  (2% dans le méthanol). Après une réaction de 10 minutes, l'absorbance est mesurée à 430 nm. La concentration des flavonoïdes est déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec de la quercétine (25–200  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) (Figure II.5), et est exprimée en microgrammes d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait ( $\mu\text{g EQ}/\text{mg}$  d'extrait) [65].



**Figure II.5 :** Dosage des flavonoïdes totaux sur microplaque.

## II.6. Evaluation des activités antioxydantes

Au cours des dernières années, les antioxydants naturels ont suscité un intérêt croissant en raison de leurs propriétés thérapeutiques. Des études scientifiques ont été menées dans différentes disciplines afin d'extraire, d'identifier et de quantifier ces composés à partir de différentes substances naturelles, telles que les plantes médicinales et les produits agroalimentaires [66].

La capacité d'un composé à résister à l'oxydation est connue sous le nom d'activité antioxydante. Le  $\beta$ -carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E) et les composés phénoliques sont les antioxydants les plus connus. Effectivement, la majorité des antioxydants fabriqués ou naturels contiennent des groupes hydroxyphénoliques dans leurs structures, ce qui explique en partie leur capacité à capturer les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles ( $\text{OH}^\bullet$ ) et les superoxydes ( $\text{O}_2^\bullet$ ) [67].

Différentes techniques sont employées afin d'évaluer l'activité antioxydante en capturant divers radicaux, parmi celles-ci :

- ORAC (Capacité d'Absorbance Radicale de l'Oxygène) [68].
- TRAP (Paramètre Antioxydant Total Radical Trapping) [68].
- La méthode FRAP pour réduire les ions ferriques (Ferric Ion Reduction Antioxidant Parameter) [69].

- Les radicaux de l'acide 2,2-azinobis-3-thylbenzothiazoline-6-sulfonique (ABTS) [70].
- Le radical libre DPPH• (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl) est utilisé dans cette méthode [71,72].

Pour évaluer le pouvoir antioxydant des différents extraits obtenus à partir des fleurs de l'espèce *Viola Odorata*, plusieurs tests ont été utilisés, à savoir le test de piégeage du radical DPPH•, le test de réduction du radical-cation ABTS<sup>•+</sup>, le test de pouvoir réducteur (FRAP), le test de phénanthroline.

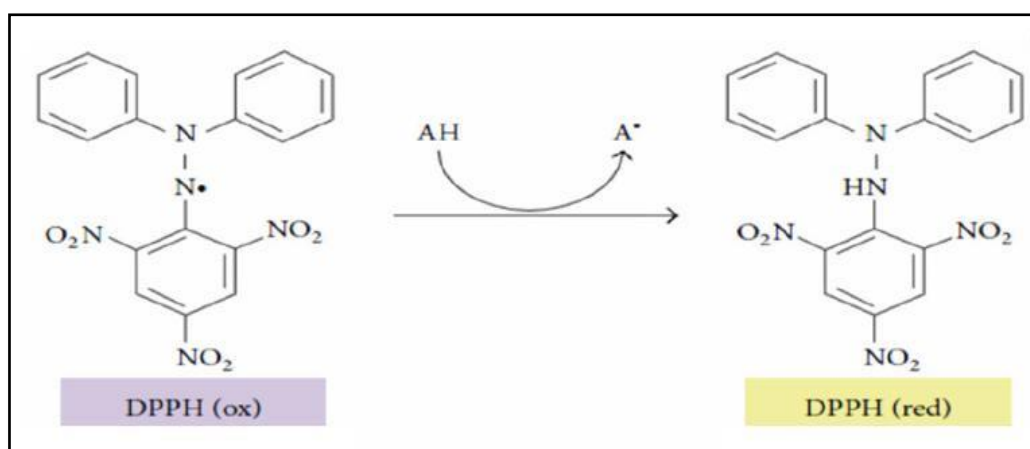
### • Préparation des dilutions

Pour préparer une série de dilutions, on prépare tout d'abord la solution mère en dissolvant 4 mg de l'extrait dans 1000 µl du méthanol. Ensuite 500 µl de cette solution mère sont mélangés avec 500 µl du méthanol, pour arriver à une dilution ½ et ainsi de suite. Cette procédure est répétée pour la suite des dilutions jusqu'à arriver à la dilution 1/64

## II.6.1. Test de réduction du radical DPPH

### II.6.1.1 Principe

Le radical libre stable violet en solution est le DPPH. Il possède une absorbance spécifique dans un domaine allant de 512 à 517 nm. La décoloration du DPPH se produit rapidement lorsque le composé à propriété antiradicalaire réduit le DPPH en diphényle picryl-hydrazine (jaune) (Figure II.6). L'intensité de la teinte est inversement liée à la capacité des antioxydants présents dans l'environnement à produire des protons [73].



**Figure II.6 :** Mécanisme de réduction du radical DPPH• par un antioxydant [74].

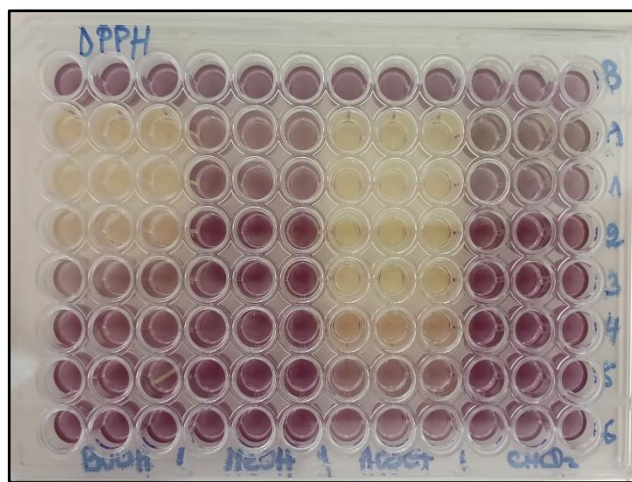
### II.6.1.2. Mode opératoire

L'activité anti-radicalaire au DPPH<sup>•</sup> est réalisée sur une microplaque à 96 puits, 40 µl de chacune des dilutions des différents extraits est mélangés avec 160 µl d'une solution méthanolique de DPPH<sup>•</sup>. Parallèlement un contrôle négatif a été préparé en mélangeant 40 µl de méthanol avec 160 µl de la solution DPPH<sup>•</sup> (Figure II.7). Les absorbances ont été mesurés à 517 nm après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à température ambiante. L'acide ascorbique et le Trolox ont été utilisés comme des standards antioxydants, et dosés dans les mêmes conditions. Le pourcentage d'inhibition a été calculé selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'inhibition du DPPH} = \frac{A_{\text{blanc}} - A_{\text{echant}}}{A_{\text{blanc}}} \times 100$$

$A_{\text{blanc}}$ : Absorbance du contrôle réactif (40 µl méthanol+160 µl DPPH).

$A_{\text{echant}}$ : Absorbance de (l'extrait + réactif)



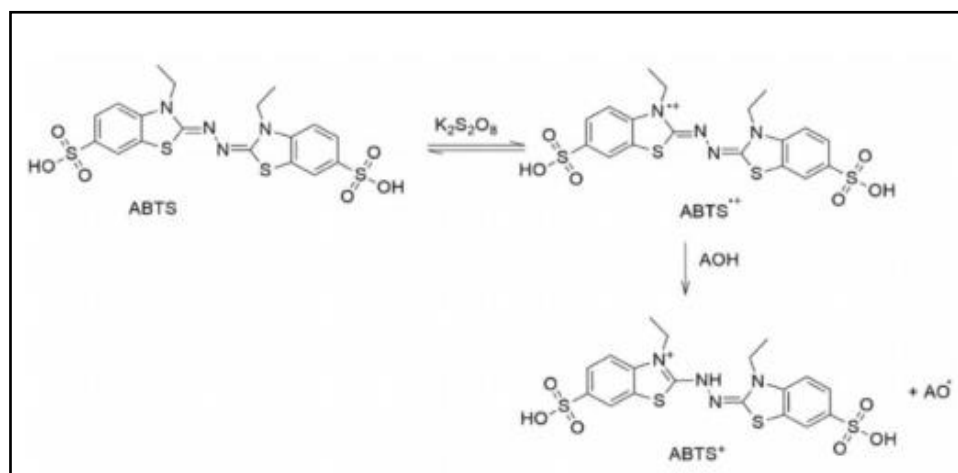
**Figure II.7:** Profil de la microplaque de dosage de l'activité anti-radicalaire (DPPH).

## II.6.2. Test de piégeage du cation radical ABTS<sup>•+</sup>

### II.6.2.1. Principe

Pour évaluer l'activité de piégeage du radical libre ABTS<sup>•+</sup> des extraits de *Viola odorata*, la concentration inhibition à 50 % (IC<sub>50</sub>) de chaque extrait a été mesurée puis comparée par rapport à celles des antioxydants standards tels que le Trolox et l'acide ascorbique. En présence d'un

antioxydant, l'ABTS<sup>•+</sup> de couleur vert/bleu est réduit en ABTSH<sup>+</sup> par piégeage d'un H<sup>•</sup>, ce qui entraîne une diminution de la couleur bleu turquoise de la solution [70]. (Figure II.8). Une faible concentration inhibitrice à 50% indique une activité de piégeage supérieure.



**Figure II.8:** Formation et piégeage du radical ABTS<sup>•+</sup> par un antioxydant [75]

### II.6.2.2. Mode opératoire

Sur une microplaque à 96 puits, la solution de l'ABTS<sup>•+</sup> a été préparée à partir de 2 solutions aqueuses : ABTS (7 mM) et du persulfate de potassium K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> (2,45 mM), le mélange a été mis à l'abri de la lumière pendant 16 heures. Cette solution a été utilisée après une dilution avec l'eau distillée. 40 µl d'extrait préparé à plusieurs concentrations ont été ajoutés à 160 µl du ABTS<sup>•+</sup>. Parallèlement un contrôle négatif a été préparé en mélangeant 40 µl de méthanol avec 160 µl de la solution ABTS<sup>•+</sup> (Figure II.9). Les absorbances ont été mesurées à 734 nm après 10 minutes d'incubation à l'obscurité et à température ambiante. L'acide ascorbique et le Trolox ont été utilisés comme des contrôles positifs.

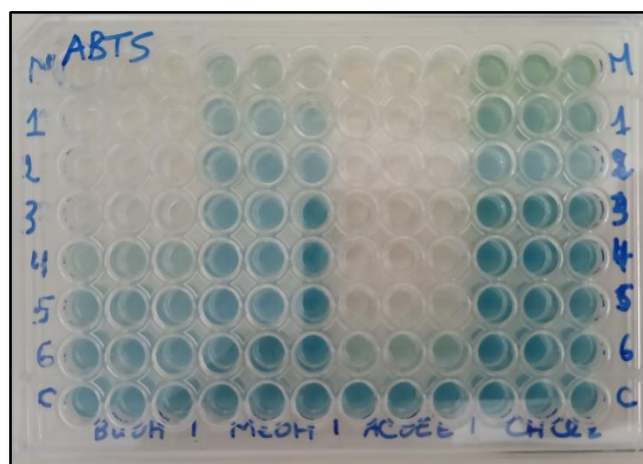
Le pourcentage d'inhibition a été calculé selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'inhibition du ABTS} = \frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échant}}}{A_{\text{contrôle}}} \times 100$$

Où

A<sub>contrôle</sub> : l'absorbance du contrôle négatif.

$A_{\text{echant}}$  : l'absorbance de l'extrait.



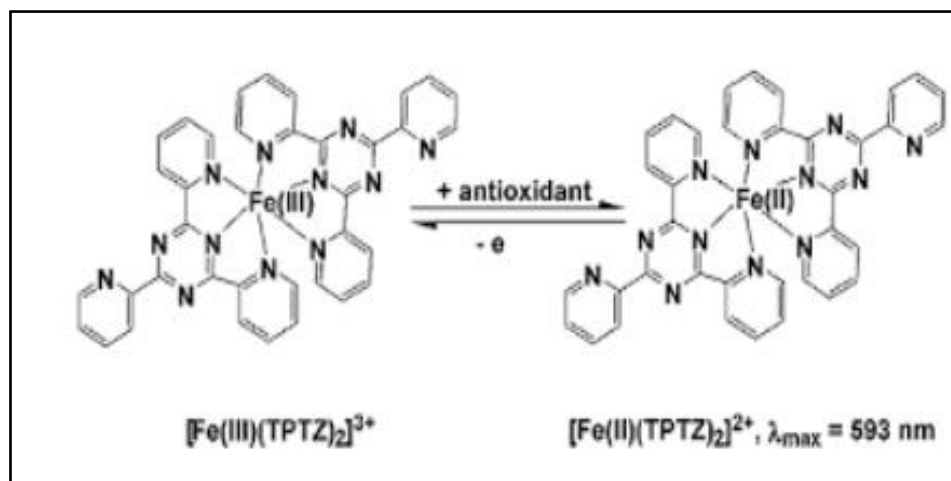
**Figure II.9:** Profil de la microplaque de dosage de l'activité antiradicalaire (ABTS)

### II.6.3. Test de piégeage réducteur ferrique (FRAP)

#### II.6.3.1. Principe

Le pouvoir réducteur se base sur la réaction d'oxydoréduction, dont la réduction du chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ) de couleur jaune en chlorure ferreux ( $\text{FeCl}_2$ ) de coloration bleue verte en présence d'un agent chromogène le ferricyanure de potassium [ $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ ] en milieu acidifié par l'acide trichloracétique [76].

La forme réduite donne une couleur verte qui est proportionnelle au pouvoir réducteur de l'extrait [77].



**Figure II.10:** Réduction du  $\text{Fe}^{+3}$  par un antioxydant dans le test du pouvoir réducteur [78]

### II.6.3.2 Mode opératoire

Sur une microplaque à 96 puits, un mélange réactionnel contenant 10  $\mu\text{l}$  d'extrait préparé à plusieurs concentrations, 40  $\mu\text{l}$  d'une solution tampon phosphate (pH 6,6) et 50  $\mu\text{l}$  d'une solution de ferricyanide de potassium  $[\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6]$  (1%) ce mélange est incubé dans l'étuve à 50°C pendant 20 minutes. Ensuite 50  $\mu\text{l}$  d'acide tri-chloroacétique (TCA) (10%) sont ajoutés pour stopper la réaction; Les derniers ajouts étaient de 40  $\mu\text{l}$  d'eau distillée et de 10  $\mu\text{l}$  de solution de chlorure ferrique anhydre (0,1 %). Un contrôle négatif a été préparé en remplaçant l'extrait par le méthanol (Figure II.11). L'absorbance de la solution a été ensuite mesurée à 700 nm. Le contrôle positif est représenté par l'acide ascorbique et le Trolox. Les résultats ont été calculés à titre de  $A_{0,50}$  ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ), représentant la concentration associée à une absorbance de 0,50. L'augmentation de l'absorbance indique l'augmentation du pouvoir réducteur



**Figure II.11:** Profil de la microplaque de dosage de l'activité du pouvoir réducteur (FRAP).

## II.6.4. Test de réduction par la formation du complexe $\text{Fe}^{+2}$ phénantroline

### II.1.3.1 Principe

L'objectif de cette méthode est de créer de la ferroïne en réduisant le  $\text{Fe}^{+3}$  ( $\text{FeCl}_3$ ) en  $\text{Fe}^{+2}$  en présence d'un composé donneur d'électrons dans l'échantillon (Figure II.12), qui réagit avec l'ortho-phénanthroline pour créer un complexe brun rouge [79].

Cette réduction est déterminée par la mesure de valeurs de  $A_{0,5}$  des extraits de la plante et celles des standards. L'absorbance est mesurée à 510 nm.

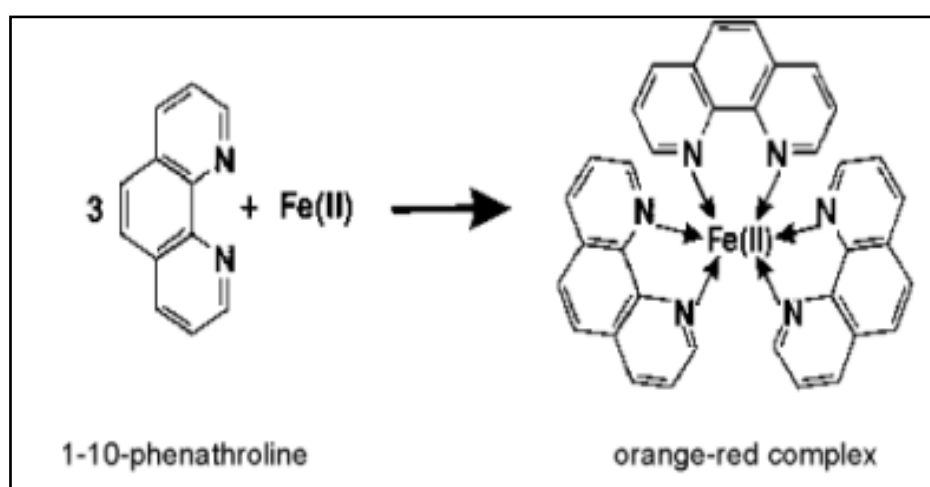
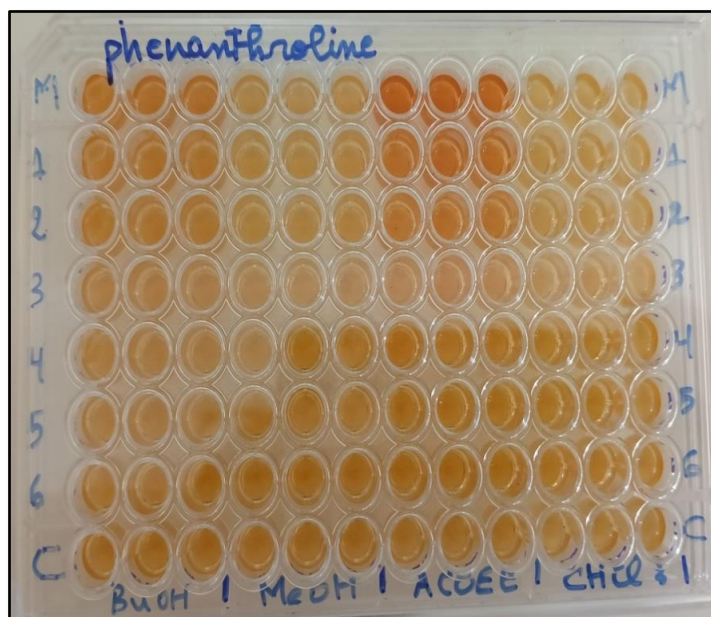


Figure II.12: La réaction de la formation du complexe  $\text{Fe}^{+2}$  -phénantroline [80]

### II.6.4.2 Mode opératoire

L'activité de réduction par la formation du complexe  $\text{Fe}^{+2}$  -phénantroline est déterminée par la méthode de Szydłowskaczerniak [81]. Pour initier la réaction, 10  $\mu\text{l}$  d'extrait préparé à différentes dilutions ont été ajoutés à 50  $\mu\text{l}$  du chlorure de fer anhydre  $\text{FeCl}_3$  (0,2%), 30  $\mu\text{l}$  de la phénantroline (0,5%) et 110  $\mu\text{l}$  du méthanol sur une microplaque à 96 puits. Ensuite un contrôle négatif semblablement préparé, en remplaçant l'extrait par le méthanol. Après 20 min d'incubation dans l'étuve à 30°C (Figure II.13), l'absorbance a été mesurée à 510 nm. Les résultats ont été calculés à titre de  $A_{0,50}$  ( $\mu\text{g/ml}$ ), représentant la concentration associée à une absorbance de 0,50.



**Figure II.13:** Profil de la microplaquette de dosage de l'activité de réduction par la formation du complexe  $Fe^{+2}$  - phenanthroline.

## II.7. Activité antifongique

L'activité antifongique se réfère à la capacité d'une substance ou d'un agent à inhiber ou à détruire la croissance et la propagation des champignons. Cette activité est souvent évaluée en mesurant l'efficacité d'un composé à inhiber la croissance fongique dans des environnements de laboratoire ou dans des applications pratiques telles que l'agriculture, la médecine ou la conservation des aliments.

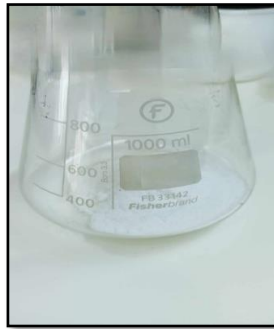
### II.7.1. Préparation du milieu PDA (Potato/dextrose *D*-glucose/Agar)

Il s'agit du milieu de culture la plus couramment employée pour la culture des mycètes qui attaquent les plantes vivantes ou la matière organique végétale en décomposition. On a préparé une infusion de pomme de terre en fait bouillir dans de l'eau 200 g de pommes de terre tranchées pendant 20 minutes environ.

Dans un bécher, 20 g de glucose et 20 g d'agar en poudre sont ajoutés à de l'eau de pommes de terre tout en agitant. Ensuite, on applique de la chaleur pour éviter la formation de grumeaux, puis on complète avec de l'eau distillée jusqu'à atteindre un volume total de 1000 ml, en veillant à bien mélanger. Le mélange est ensuite stérilisé dans un autoclave à 120°C pendant 30 minutes à une pression de 1 bar [82].



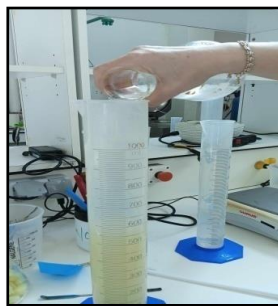
200g pommes de terre + eau distillée + chauffage



20 g de glucose



Mettez les pommes de terre à bouillir pendant 15 minutes, puis filtrez-les sur le glucose.



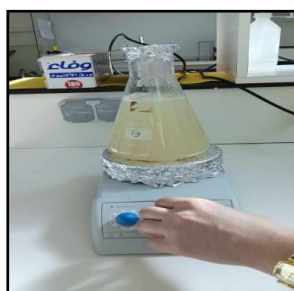
Lorsque tous les ingrédients sont homogénéisés, nous complétons le volume du mélange jusqu'à 1000 ml



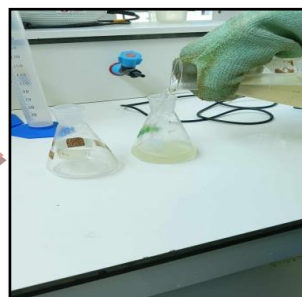
Ajouter 20 g d'agar au mélange avec agitation continue



Agitation + chauffage



Agitation + chauffage



Répartition en 6 Erlenmeyer.



Mettre en autoclave pendant 20 minutes à une température de 121°C.

Figure II.14 : Préparation du milieu PDA

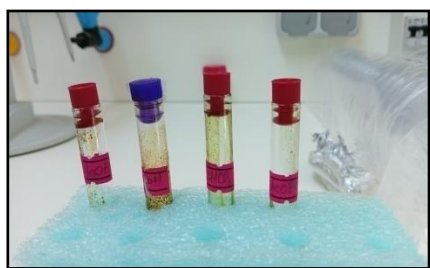
### II.7.2. Procédure

Le test de toxicité des champignons se concentre sur un champignon phytopathogène spécifique, le *Fusarium oxysporum* f. sp *lycopersici* (FOL), en évaluant comment il inhibe la croissance mycélienne des autres agents phytopathogènes.

En mesurant la croissance radiale du champignon sur un milieu PDA, on peut évaluer l'activité inhibitrice des différents composés sur la croissance mycélienne de l'agent phytopathogène.

#### Préparation des extraits :

On dissout 100 mg d'extrait dans 200  $\mu$ l de MeOH



4 extraits de la plante *Viola odorata*.



Peser 100 mg de chaque extrait

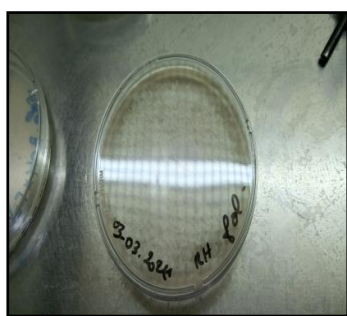


Dissoudre l'extrait dans 200 microlitres de méthanol.

**Figure II.15 :** Préparation des extraits

- Couler le milieu de culture PDA dans des boîtes de pétri;
- Laisser le milieu solidifier pendant 30 min ;
- Prélèvement de disque de 5 mm de diamètre de champignon d'une culture jeune fongique avec une pipette pasteur en verre stérile et pointu ;
- Le dépôt de disque dans le centre de la boîte de pétri ;
- Mettre 25  $\mu$ l de l'extrait sur le disque de champignon à l'aide d'une micropipette ;
- Répétions trois fois pour chaque extrait ;
- Incubation pendant 48 h à 25°C ;
- Lecture : avec une règle, on a mesuré le diamètre de la zone d'inhibition

De la même manière, 1 ml de DMSO a été ajouté à 100 ml de milieu PDA, considéré comme un contrôle positif. Le contrôle négatif consiste en du milieu PDA sans aucun autre ajout.



La préparation des boîtes de pétri



Remplir les boîtes de pétri avec le milieu PDA et et laisser sécher 30 minutes



La stérilisation de la pince en platine.



Placer l'extrait à tester



Placer le disque



Préparer les disques de champignon.

**Figure II.16** : Protocol de l'activité antifongique

Ainsi, l'activité d'inhibition a été exprimée en pourcentage et calculée selon la formule

$$I = \frac{C - T}{C} \times 100$$

- **I** = taux d'inhibition en %
- **C** = croissance radiale de l'agent phytopathogène en mm sur milieu PDA avec DMSO (contrôle positif)
- **T** = croissance radiale en mm de l'agent phytopathogène sur milieu PDA contenant le complexe à tester.

Pour déterminer la concentration inhibitrice minimale, l'expérience a été répétée. La répétition du même résultat suggère que la concentration efficace minimale pourrait être plus basse.

## II.8. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne est une estimation qualitative de l'effet inhibiteur de l'extrait sur la croissance bactérienne par diverses méthodes [83]. Dans notre cas, la méthode choisie pour déterminer l'activité antibactérienne des extraits (chloroforme, acétate d'éthyle, *n*-butanol et méthanol) est celle de la diffusion de disque sur un milieu gélosé.

### ▪ Souches bactériennes testées

Les souches bactériennes utilisées dans cette étude sont des bactéries non pathogènes, comme indiqué dans le tableau ci-dessous :

**Tableau II.1** : Les souches bactériennes utilisées.

Nom de la souche et code de référence	Gram	Famille
Staphylococcus aureus ATCC 25923	Positif	Micrococcaceae
Escherichia coli ATCC 25922	Négatif	Enterobacteriaceae

### ▪ Repiquage et purification des souches

Pour évaluer l'efficacité antibactérienne des extraits des repiquages, on a utilisé la technique des stries dans des boîtes de pétri contenant de la gélose nutritive, puis on les a incubées pendant 24 heures à 37 ° C à fin d'obtenir des cultures jeunes.

### ▪ Préparation de l'inoculum

A partir des cultures jeunes, on sélectionne des colonies pures afin de préparer l'inoculum bactérien. Toutes les colonies sont suspendues dans 10 ml d'eau physiologie. Un densitomètre est utilisé pour mesurer la turbidité de la suspension, puis elle est ajustée à 0,08 -0,1 Mc Farland.

### ▪ Préparation des milieux de culture

La gélose de Muller Hinton est coulée et répartie dans des boîtes de pétri stériles. Avant utilisation, ces boîtes sont séchées pendant 30 minutes à température ambiante.

### Ensemencement

La suspension bactérienne est versée dans une boîte de pétri contenant le milieu de culture (Mueller Hinton) pour ensemer l'inoculum, puis laissée pendant 2 minutes. Ce processus d'ensemencement est mis en place pour assurer une distribution homogène des bactéries sur la gélose.

### ▪ Préparation des disques

On ajoute des disques à la gélose molle déjà inoculée avec les microorganismes à tester.

### ▪ Préparation des dilutions

L'efficacité antibactérienne des diverses fractions d'extraits (chloroforme, acétate d'éthyle, *n*-butanol et méthanol) à diverses concentrations a été examinée en préparant chaque extrait dans du méthanol (témoin négatif avec les souches bactériennes utilisées).

Les concentrations utilisées étaient respectivement de 200 mg/ml, 100 mg/ml, 50 mg/ml et 25 mg/ml pour les extraits. En utilisant une micropipette stérile, un échantillon de 30 µl a été déposé sur les disques, puis ces disques ont été disposés sur la gélose molle déjà ensemencée avec les micro-organismes cibles. Les boîtes de pétri ont été incubées pendant 18 heures à 37°C.

L'activité antibactérienne est évaluée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition formée autour des disques après 18 heures d'incubation à une température de 37 °C.

Le diamètre des zones d'inhibition de la croissance bactérienne, noté D, a été classé selon l'échelle d'estimation de l'activité antibactérienne :

- (-) souche résistante ( $D < 8$  mm)
- (+) souche sensible ( $9 \text{ mm} < D < 14\text{mm}$ )
- (++) souche très sensible ( $15\text{mm} < D < 19$  mm)
- (+++) dextrement sensible ( $D > 20$  mm) **[84]**.

# **C** HAPITRE III

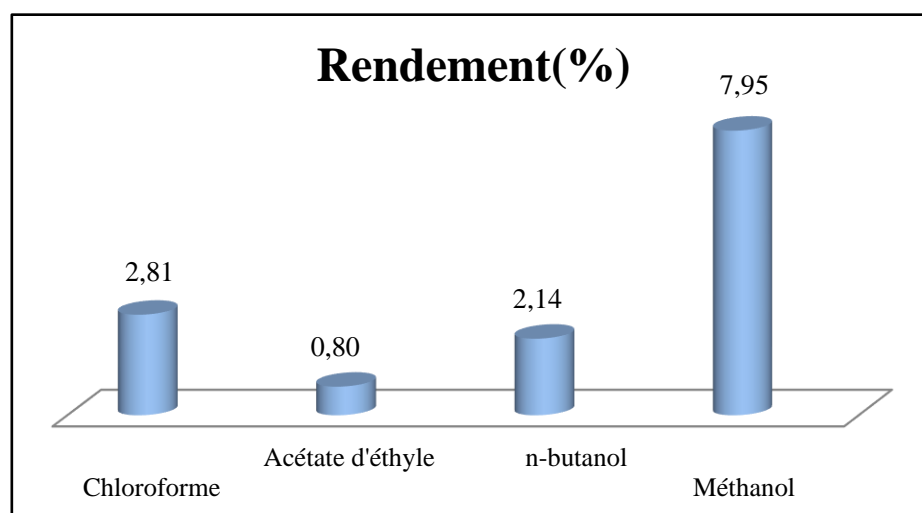
## **RESULTATS ET DISCUSSIONS**

### III.1. Rendement

Le rendement est déterminé en comparant la masse de l'extrait sec après évaporation à celle de la matière végétale utilisée. Le poids de l'extrait sec est déterminé par la différence entre le poids du ballon plein et vide. Le rendement a été évalué en se basant sur 100g de matière végétale. Les résultats sont présentés dans le tableau III.1 et la figure III.1 ci-dessous.

**Tableau III.1 : Rendement des extraits**

Matière végétale	Extraits	Masse (g)	Rendement (%)	Aspect
100g	Chloroforme	2,8146	2,81	pâteux
	Acétate d'éthyle	0,8003	0,80	pâteux
	<i>n</i> -butanol	2,1439	2,14	pâteux
	Méthanol	7,9536	7,95	Visqueux



**Figure III.1 : Le Rendement en % des différents extraits**

Les résultats obtenus démontrent une disparité dans les rendements des quatre extraits. Le rendement le plus élevé, soit 7,95%, est observé dans l'extrait méthanolique, suivi par celui de l'extrait chloroforme à 2,81%. Ensuite, l'extrait *n*-butanol affiche un rendement de 2,14%, tandis que l'extrait acétate d'éthyle présente le rendement le plus bas, soit 0,80%.

Le changement des résultats d'un extrait à l'autre est principalement dû au solvant d'extraction utilisé, notamment les solvants polaires présentent de meilleur rendement

d'extraction par rapport aux solvants moins polaire. La différence de polarité des solvants utilisés permet l'extraction d'une large gamme de métabolites secondaires.

### III.2. Résultats de screening phytochimique

Les résultats de l'analyse phyto-chimique qualitative de *Viola Odorata* ont montré la présence des flavonoïdes, des tanins, des stéroïdes et des alcaloïdes. Les résultats expérimentaux de ces tests phyto-chimiques sont présentés dans le tableau III.2 ci-dessous.

Les résultats ont été évalués comme suit :

- + : Présence en quantité moyenne.
- ++ : Présence en quantité maximale.
- - : Absence de substance chimique.

**Tableau III.2 :** Résultats de screening phytochimique

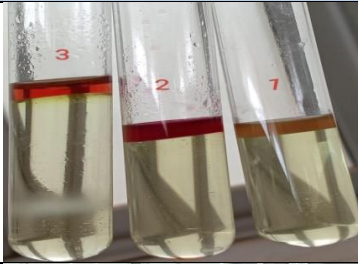


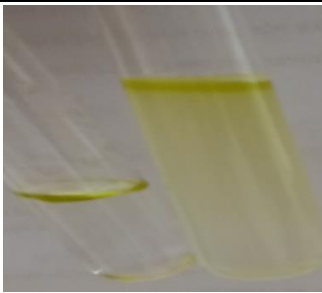



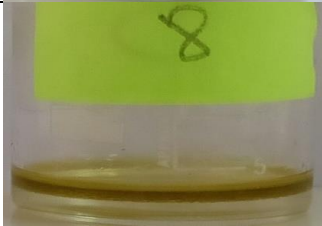


Groupes chimiques	Réactifs	Observation	Résultats	Image des résultats.
Terpènes	Acide sulfurique	Apparition de la couleur rouge cerise (tube 2)	++	
Stérols insaturés	Anhydride acétique	Changement rapide de la couleur (tube 3)	++	
Triterpènes	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> concentré	Formation d'un anneau rouge brunâtre	++	
Saponines	Pouvoir moussant	Formation d'une mousse persistante	+	

Tableau III.2 : Résultats de screening phytochimique (Suite)

Groupes chimiques	Réactifs	Observation	Résultats	Image des résultats.
Coumarines	Ammoniaque	Sous une lumière UV à 365 nm, le tube contenant de l'ammoniaque ne montre pas de fluorescence intense.	-	
Flavonoïdes	NaOH; HCl concentré; coupeaux de Magnésium	Apparition des couleurs : Jaune-rougeâtre, rouge à rouge-violacé, jaune	++	
Leucoanthocyanes	NaOH; HCl concentré	Coloration rouge	++	
Anthocyanes	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ; ammoniaque	Il n'y a pas de coloration jaune clair qui vire au bleu-violacé.	-	
Quinones	HCl; Ether de pétrole; NaOH	Il n'y a pas de changement de couleur de rouge à violet.	-	
Tanins	FeCl <sub>3</sub>	Apparition d'une coloration ou la formation d'un précipité	+	
Alcaloïdes	Réactif de Wagner (KI, I <sub>2</sub> )	Formation d'un précipité de coloration rouge brun	++	

Selon les données présentées dans le tableau III.2, on observe une forte présence de métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les terpènes, les stérols insaturés, les triterpènes, les alcaloïdes et les leucoanthocyanes dans l'organe étudié. Cela met en lumière l'abondance de ces composés dans la partie aérienne de la plante, comme indiqué dans l'analyse.

En outre, une présence modérée de saponines et de tanins a été constatée.

De plus, l'analyse des coumarines, des anthocyanes et des quinones s'est révélée négative, ce qui indique l'absence de ces composés dans notre plante.

Des études antérieures portant sur le screening phytochimique des plantes *Viola odorata* ont confirmé la présence des flavonoïdes, des terpènes, des stéroïdes, des triterpènes, des alcaloïdes et des saponines [85], ce qui est cohérent avec nos propres résultats. Toutefois, notre recherche met en évidence la présence des tanins, ce qui contredit les résultats de cette référence qui indiquait leur absence dans cette espèce.

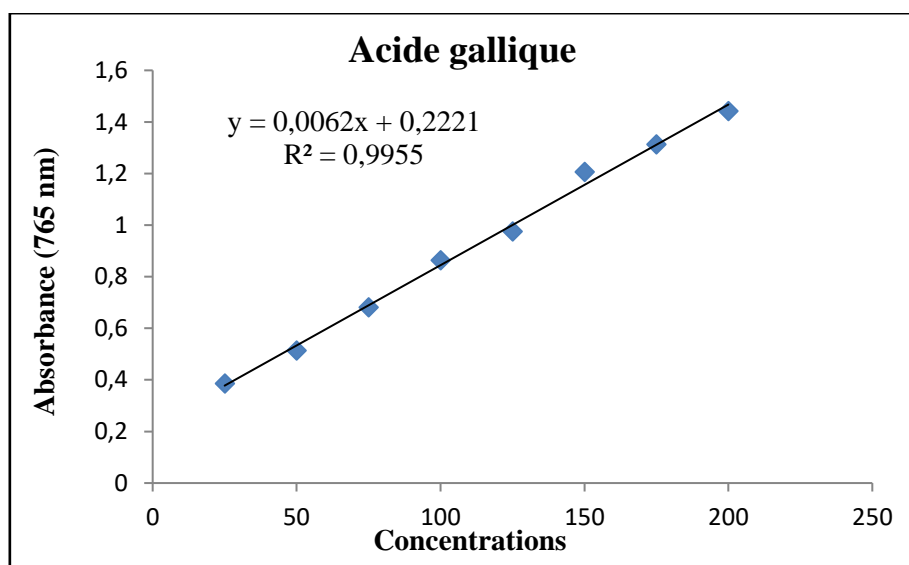
### III.3. Discussion des résultats de l'activité antioxydante

Pour évaluer l'activité antioxydante des divers extraits, une étape préliminaire a été de les examiner via une analyse spectrophotométrique afin de mesurer leur concentration en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux.

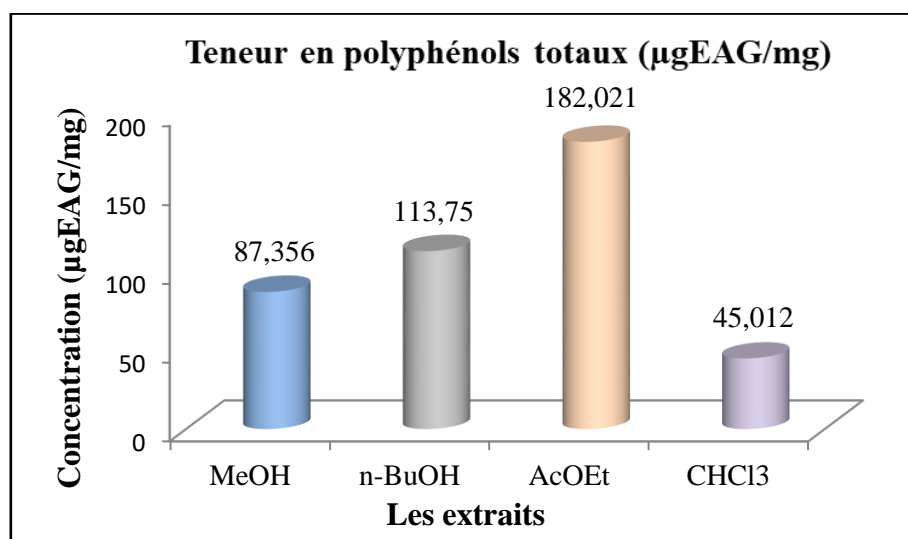
Les valeurs exprimées représentent la moyenne  $\pm$  l'écart type (S.D) des trois répétitions pour chaque essai.

#### III.3.1. Dosage des polyphénols totaux (TPC)

Les polyphénols totaux des extraits de *V. odorata* ont été dosés à l'aide de la méthode spectrophotométrique de Folin-Ciocalteu (FCR). La concentration de polyphénols totaux est exprimée en  $\mu\text{g}$  équivalent d'acide gallique par mg d'extrait, calculée à partir de l'équation de régression linéaire établie à partir de la courbe d'étalonnage réalisée avec de l'acide gallique, mesurée à une longueur d'onde de 765 nm, sont représentés dans les figure III.2 et figure III.3.



**Figure III.2 :** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique



**Figure III.3:** Evaluation de la teneur des polyphénols totaux des extraits de *V. odorata*.  
 (Chaque valeur représente une moyenne  $\pm$  écart-type, en triplicata)

La figure III.3 révèle une décroissance des taux de polyphénols dans les différents extraits, classés dans l'ordre suivant : extrait d'acétate d'éthyle, extrait *n*-butanol, extrait méthanolique et extrait chloroforme. En analysant le profil de dosage des polyphénols totaux, obtenus en extrapolant l'absorbance des extraits sur la courbe d'étalonnage de l'acide gallique, on constate que l'extrait d'acétate d'éthyle et l'extrait *n*-butanol sont les plus riches en polyphénols, avec des teneurs de  $(182,021 \pm 2,257 \mu\text{g EAG/mg})$  et  $(113,075 \pm 2,760 \mu\text{g EAG/mg})$  respectivement.

L'extrait méthanolique présente une teneur intermédiaire de  $(87,356 \pm 3,119 \mu\text{g EAG/mg})$ , tandis que l'extrait chloroforme affiche la plus faible teneur avec  $(45,102 \pm 0,493 \mu\text{g EAG/mg})$ .

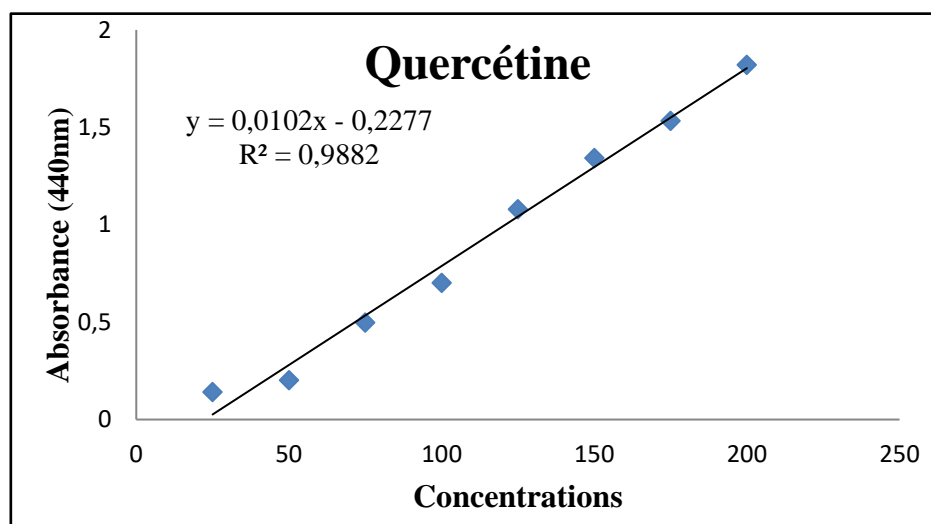
Les concentrations totales de polyphénols mesurées ne représentent pas des quantités absolues de polyphénols présentes dans le matériel de départ, mais plutôt sont établies en fonction de leur capacité réductrice relative à une équivalence avec l'acide gallique. Les résultats obtenus par la méthode colorimétrique fournissent des informations directes sur le nombre de groupes polyphénoliques antioxydants contenus dans l'extrait, ce qui est principalement influencé par la présence de groupes hydroxyles dans celui-ci [86].

Les profils polyphénoliques des extraits de plantes peuvent varier en fonction de divers facteurs tels que la diversité des espèces, les conditions climatiques et géographiques, les solvants utilisés, ainsi que les méthodes d'extraction, entre autres.

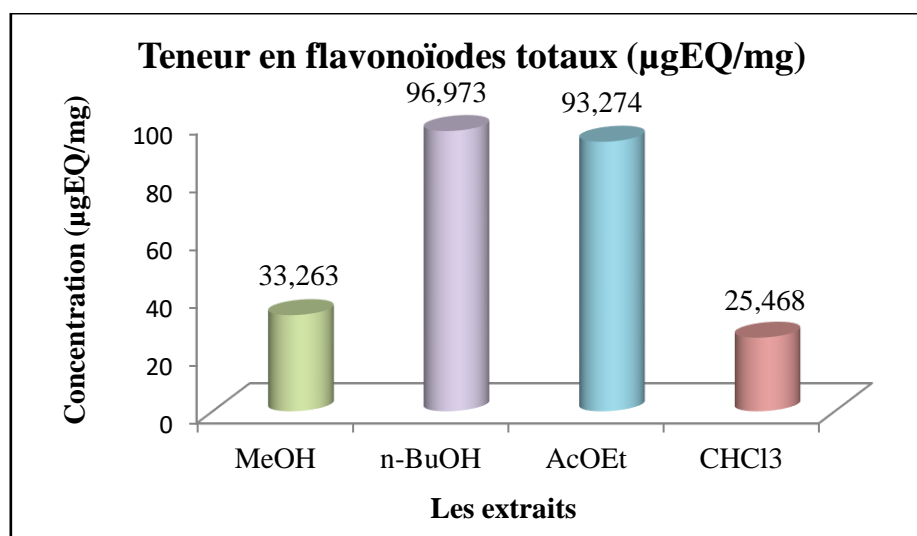
### III.3.2. Dosage des flavonoïdes totaux (TFC)

Les flavonoïdes ont été quantifiés en utilisant la méthode du trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ), où la quercétine a servi de référence. L'absorbance a été enregistrée à une longueur d'onde de 440 nm.

La teneur en flavonoïdes totaux est indiquée en  $\mu\text{g}$  d'équivalent quercétine par mg d'extrait ( $\mu\text{gEQ/mg}$  de l'extrait), calculée à l'aide de l'équation de régression linéaire dérivée de la courbe d'étalonnage établie avec la quercétine (Figure III.4 et Figure III.5).



**Figure III.4:** Courbe d'étalonnage de la Quercétine. (Chaque valeur représente une moyenne  $\pm$  écart-type, en triplicata)



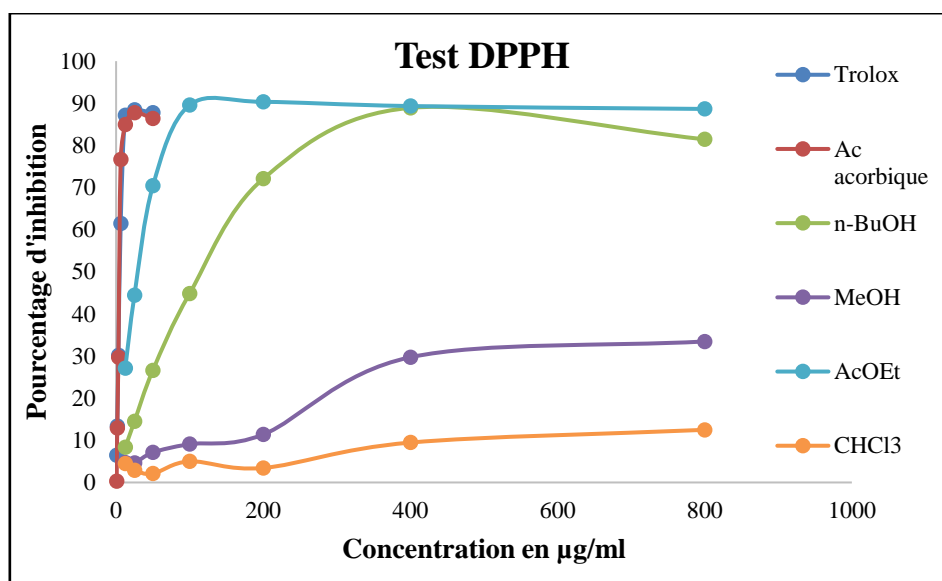
**Figure III.5 :** Evaluation de la teneur de flavonoïdes totaux des extraits de *V. odorata*.  
(Chaque valeur représente une moyenne  $\pm$  écart-type, en triplicata)

D'après ces résultats, il est clair que tous les extraits de notre plante étudiée sont riches en flavonoïdes, mais à des niveaux variables. La figure III.5 indique que l'extrait *n*-butanol présente la plus forte teneur en flavonoïdes ( $96,973 \pm 4,380 \mu\text{g EQ/mg}$  d'extrait), suivi par l'extrait d'acétate d'éthyle ( $93,274 \pm 1,175 \mu\text{g EQ/mg}$  d'extrait) et l'extrait méthanolique ( $33,263 \pm 1,211 \mu\text{g EQ/mg}$  d'extrait), respectivement. En revanche, la teneur la plus faible est observée dans l'extrait chloroforme ( $25,468 \pm 1,378 \mu\text{g EQ/mg}$  d'extrait).

Ces analyses révèlent que les quantités de flavonoïdes dans les extraits d'acétate d'éthyle et de *n*-butanol sont plus similaires en termes de concentration.

### III.3.3. Test de réduction du radical DPPH

L'activité antioxydante des quatre extraits de *Viola odorata* par rapport au radical DPPH<sup>+</sup> a été mesurée par spectrophotométrie à 517 nm, en observant la réduction de ce radical qui se manifeste par un changement de couleur de violet à jaune. Les résultats de ce test ont été comparés à ceux des étalons de référence (Trolox et acide ascorbique). Les résultats de cinétique d'inhibition de DPPH sont illustrés dans la figure II.6.



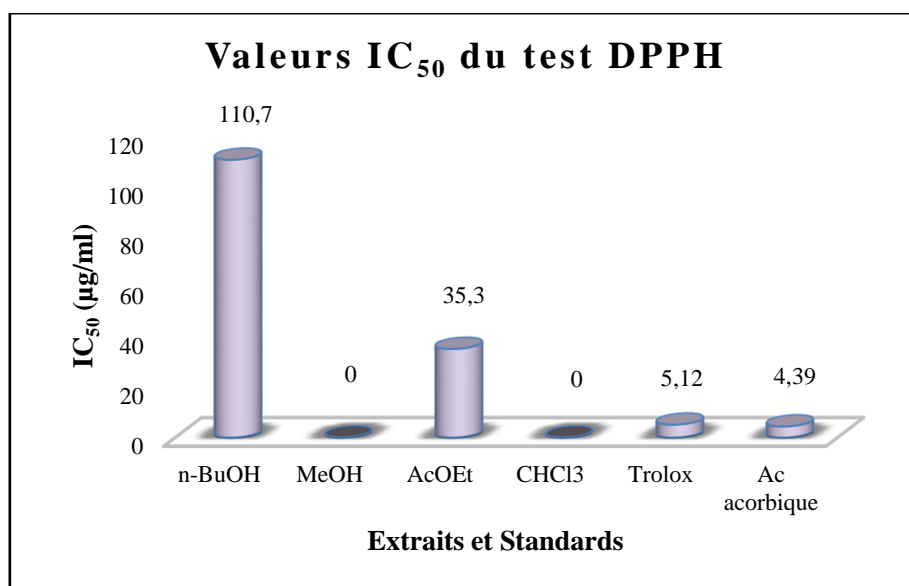
**Figure III.6:** Cinétique d'activité anti-radicalaire des extraits de *V. odorata* sur le radical DPPH. (Chaque valeur représente une moyenne  $\pm$  écart-type, en triplicata)

Un  $IC_{50}$  plus bas (la concentration du substrat provoquant une inhibition de 50 % de l'activité de DPPH) indique une activité antioxydante plus élevée.

Les valeurs de l' $IC_{50}$  pour chaque extrait, ainsi que celles de Trolox et de l'acide ascorbique, sont représentées dans l'histogramme illustré dans la figure III.7 et tableau III.3

**Tableau III.3 :** Valeurs de l' $IC_{50}$  pour l'inhibition du DPPH par les extraits et les standards. (Chaque valeur représente une moyenne  $\pm$  écart-type, en triplicata)

Extraits et standards	$IC_{50}$ (µg/ml)
<i>n</i> -BuOH	110,70 $\pm$ 2,55
MeOH	> 800
AcOEt	35,30 $\pm$ 1,99
CHCl <sub>3</sub>	> 800
Trolox	5,12 $\pm$ 0,21
Acide ascorbique	4,39 $\pm$ 0,01



**Figure III.7:** Valeurs des IC<sub>50</sub> du test DPPH.

Les données présentées dans la figure III.7 révèlent que l'extrait d'acétate d'éthyle (AcOEt) présente une activité antiradicalaire avec un IC<sub>50</sub> de  $35,30 \pm 1,99$  µg/ml, soit près de 7 fois moins élevé que celui du standard Trolox (IC<sub>50</sub> =  $5,12 \pm 0,21$  µg/ml) et 8 fois moins élevé que celui de l'acide ascorbique (IC<sub>50</sub> =  $4,39 \pm 0,01$  µg/ml). Ensuite, l'extrait *n*-butanol (*n*-BuOH) montre une valeur de IC<sub>50</sub> de  $110,70 \pm 2,55$  µg/ml, soit une activité près de 21 fois inférieure à celle du standard Trolox et 25 fois inférieure à celle de l'acide ascorbique. Les extraits méthanolique (MeOH) et chloroforme (CHCl<sub>3</sub>) présentent des valeurs de IC<sub>50</sub> > 800, indiquant ainsi une absence d'activité antiradicalaire par rapport aux antioxydants standards Trolox et acide ascorbique.

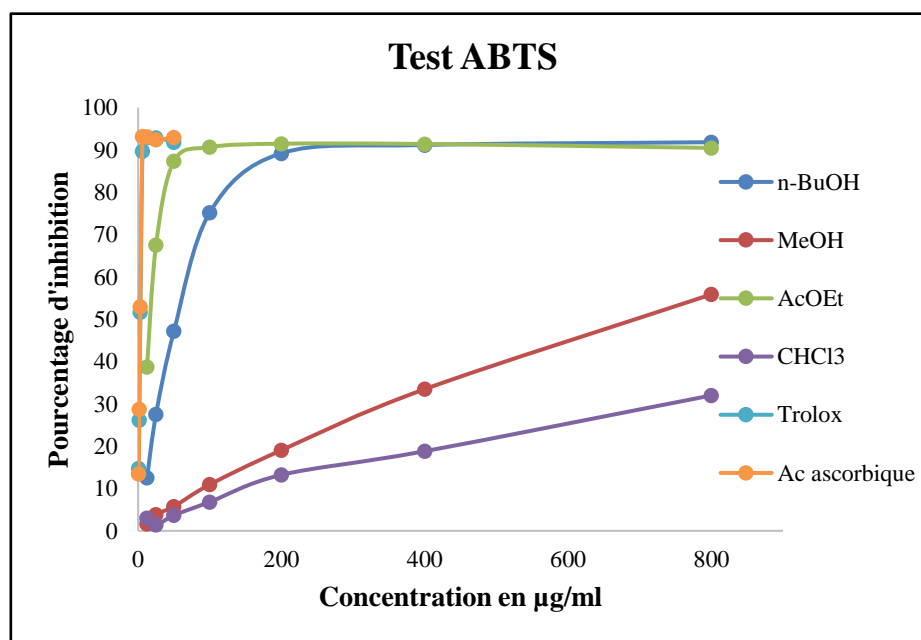
Les extraits AcOEt et *n*-BuOH présentent des activités antioxydantes moins importantes par rapport aux standards Trolox et acide ascorbique. Cependant, l'extrait AcOEt montre une activité antioxydante plus élevée que l'extrait *n*-BuOH.

La faible capacité antioxydante des deux extraits CHCl<sub>3</sub> et MeOH pourrait s'expliquer par leur faible teneur en polyphénols et flavonoïdes.

Des études antérieures sur l'activité antioxydante par piégeage du radical DPPH de la plante *V.odorata* ont révélé que l'extrait d'acétate d'éthyle présente une IC<sub>50</sub> de 518,25 µg/ml, soit moins élevée que celle de l'extrait méthanol avec une IC<sub>50</sub> de 458,27 µg/ml [87], ce qui est en contradiction avec nos résultats.

### III.3.4. Activité du piégeage du cation radical ABTS<sup>•+</sup>

L'ABTS (acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)) est un composé organique stable utilisé pour évaluer l'activité antiradicalaire, avec un pic d'absorption à 734 nm. En présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène, le cation ABTS<sup>•+</sup> subit une réduction et passe de la couleur bleu-vert à un état neutre incolore. Les résultats sont présentés dans la figure III.8.



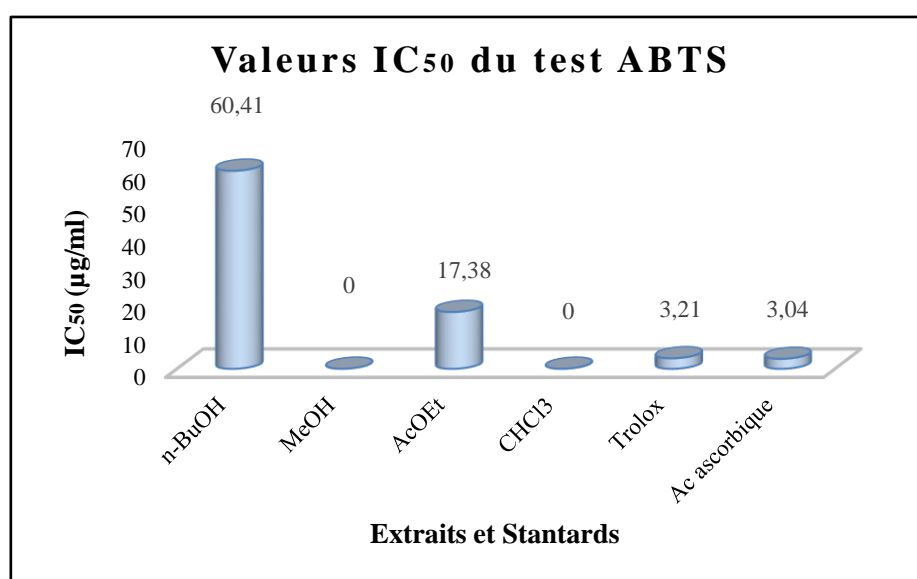
**Figure III.8 :** Courbe de pourcentages d'inhibition du radical ABTS par les extraits testés.

(Chaque valeur représente une moyenne  $\pm$  écart-type, en triplicata)

Les valeurs d'IC<sub>50</sub> concernant les quatre extraits, le Trolox et l'acide ascorbique sont résumées dans le tableau III.4 et la figure III.9.

**Tableau III.4 :** Pouvoir d'inhibition  $IC_{50}$  des extraits et du standard utilisant le test d'ABTS<sup>•+</sup>  
(Chaque valeur représente une moyenne  $\pm$  écart-type, en triplicata)

Extraits et standards	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )
<i>n</i> -BuOH	60,41 $\pm$ 0,89
MeOH	> 800
AcOEt	17,38 $\pm$ 0,21
CHCl <sub>3</sub>	> 800
Trolox	3,21 $\pm$ 0,06
Acide ascorbique	3,04 $\pm$ 0,05



**Figure III.9 :** Histogramme de la  $IC_{50}$  des extraits et des standards par le test ABTS.

Les résultats présentés dans la figure III.9 et le tableau III.4 révèlent que l'extrait AcOEt démontre une activité anti-radicalaire notable avec un  $IC_{50}$  de  $17,38 \pm 0,21 \mu\text{g/ml}$ , suivi par l'extrait *n*-BuOH avec un  $IC_{50}$  de  $60,41 \pm 0,89 \mu\text{g/ml}$  en comparaison avec les antioxydants Trolox et acide ascorbique qu'ils sont utilisés comme standards avec des valeurs de  $IC_{50}$  très faible ( $IC_{50}=3,21 \pm 0,06\mu\text{g/ml}$ ) et ( $IC_{50}=3,04 \pm 0,05\mu\text{g/ml}$ ) respectivement. Tandis que, les extraits CHCl<sub>3</sub> et MeOH ne démontrent pas d'activité inhibitrice significative vis-à-vis du radical ABTS<sup>•+</sup> ( $IC_{50} > 800$ ).

La faible activité de deux extraits (CHCl<sub>3</sub> et MeOH) peut être expliquée par leur manque de propriété de donation d'hydrogène et par conséquent leur faible capacité de neutraliser les radicaux libres

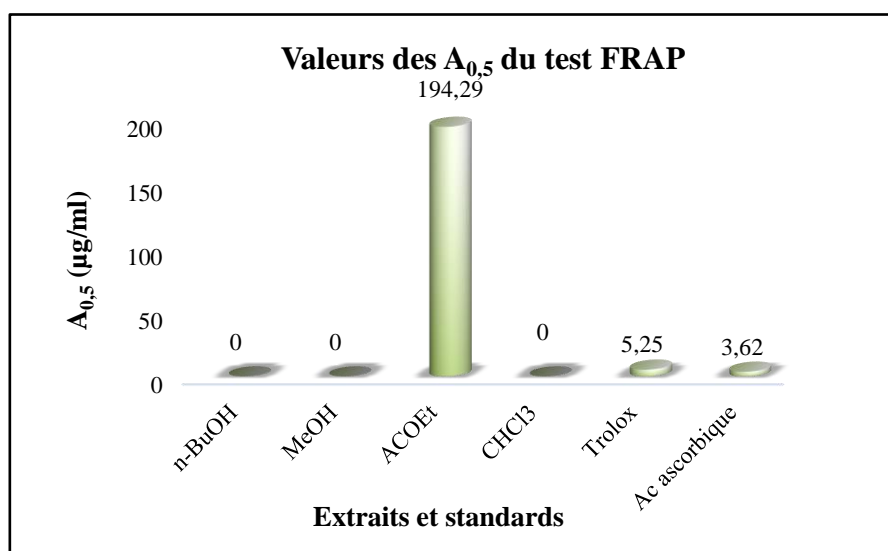
### III.3.5. Activité du pouvoir réducteur (FRAP)

L'évaluation de cette activité base sur la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique ( $\text{Fe}^{+3}$ ), qui est de couleur jaune, en fer ferreux ( $\text{Fe}^{+2}$ ), de couleur bleu-vert, avec un pic d'absorption maximal à 700 nm. Les valeurs de  $A_{0,5}$  sont mesurées et comparées à celles des standards, l'acide ascorbique et Trolox. Les résultats sont présentés dans la figure III.10 et le tableau III.5.

**Tableau III.5 :** Pouvoir réducteur  $A_{0,5}$  des extraits et du standard utilisant le test FRAP.

(Chaque valeur représente une moyenne  $\pm$  écart-type, en triplicata)

Extraits et standards	$A_{0,5}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )
<i>n</i> -BuOH	>200
MeOH	>200
AcOEt	194,29 $\pm$ 70,97
$\text{CHCl}_3$	>200
Trolox	5,25 $\pm$ 0,20
Acide ascorbique	3,62 $\pm$ 0,29



**Figure III.10 :** L'histogramme présente les valeurs de  $A_{0,5}$  du test FRAP.

Une valeur plus petite de  $A_{0,5}$  indique une meilleure capacité antioxydante.

Les résultats représentés dans la figure III.10, montrent que l'extrait AcOEt possède une très faible activité antiradicalaire ( $A_{0,5} = 194,29 \pm 70,97 \mu\text{g/ml}$ ), tandis que les extraits ( $\text{CHCl}_3$ ,

MeOH et *n*-BuOH ) ne possèdent pas une activité réductrice significative avec des valeurs de ( $A_{0,5} > 200$ ), en comparaison avec les standards; acide ascorbique et Trolox qui ont montré une propriété réductrice très élevée avec des valeurs faibles de ( $A_{0,5} = 3,62 \pm 0,29 \mu\text{g/ml}$ ) et ( $A_{0,5} = 5,25 \pm 0,20 \mu\text{g/ml}$ ) respectivement.

Par la suite, on peut expliquer la faible activité réductrice des trois extraits ( $\text{CHCl}_3$ , MeOH et *n*-BuOH) par l'absence et/ou la faible concentration des agents réducteurs, qui sont responsables de la propriété de donation d'électrons. De plus, le faible pouvoir réducteur des extraits est probablement dû au nombre réduit de groupement hydroxyle dans les composés phénoliques qui peuvent servir comme donneurs d'électrons [88].

### III.3.6. Activité de réduction par la formation du complexe $\text{Fe}^{2+}$ -

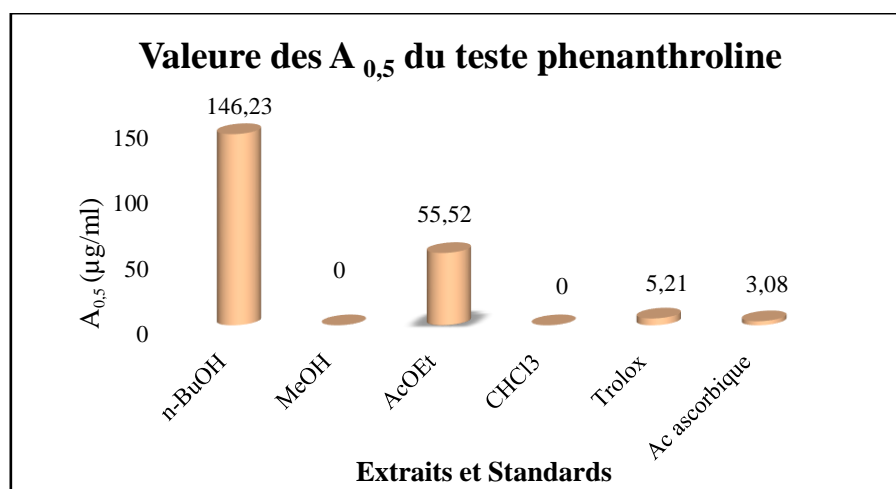
#### Phénanthroline

La méthode de la phénanthroline est couramment utilisée pour évaluer la capacité antioxydante totale des substances antioxydantes. Cette méthode est basée sur la capacité d'un agent antioxydant à réduire le fer trivalent ( $\text{Fe}^{3+}$ ) en fer divalent ( $\text{Fe}^{2+}$ ). L'ion  $\text{Fe}^{2+}$  formé réagit ensuite avec la phénanthroline pour former un complexe de couleur rouge orangé, qui peut être quantifié par sa capacité d'absorption à une longueur d'onde de 510 nm [89]

Le tableau III.6 et la figure III.11 présentent les valeurs d' $A_{0,5}$  pour les quatre extraits, le Trolox et l'acide ascorbique.

**Tableau III.6 :** Les valeurs de  $A_{0,5}$  des extraits et du standard sont obtenues en utilisant le test de phénanthroline. (Chaque valeur représente une moyenne  $\pm$  écart-type, en triplicate)

Extraits et standards	$A_{0,5}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )
<i>n</i> -BuOH	146,23 $\pm$ 2,74
MeOH	>200
AcOEt	55,52 $\pm$ 14,84
$\text{CHCl}_3$	>200
Trolox	5,21 $\pm$ 0,27
Acide ascorbique	3,08 $\pm$ 0,02



**Figure III.11 :** Valeurs de  $A_{0,5}$  du test de phénanthroline

Les résultats représentés dans le tableau III.6 indiquent que les extraits d'acétate d'éthyle et de butanol sont les plus actifs, avec des valeurs de  $A_{0,5}$  de  $55,52 \pm 14,84$  et  $146,23 \pm 2,74 \mu\text{g/ml}$ , respectivement. En revanche, les extraits  $\text{CHCl}_3$  et MeOH ne montrent pas d'activité réductrice ( $A_{0,5} > 200$ ) comparativement aux antioxydants standards Trolox ( $A_{0,5} = 5,21 \pm 0,27 \mu\text{g/ml}$ ) et acide ascorbique ( $A_{0,5} = 3,08 \pm 0,02 \mu\text{g/ml}$ ), qu'ils sont utilisés comme standards car ils présentent les propriétés réductrices les plus élevés

Les résultats des profils d'activité réductrice révèlent un potentiel antioxydant très faible pour les extraits testés ( $\text{CHCl}_3$ , MeOH), avec une capacité presque inexistante à capturer les radicaux libres. Cette absence est attribuée au manque de propriété de donation d'électrons, expliqué par une insuffisance de composés donneurs d'électrons. Notamment, la méthode utilisant la phénanthroline suit le mode d'action du transfert d'électrons (ET). De plus, la faible teneur en polyphénols et flavonoïdes pourrait expliquer cette activité antioxydante moins prononcée.

### III.4. Evaluation de l'activité antifongique

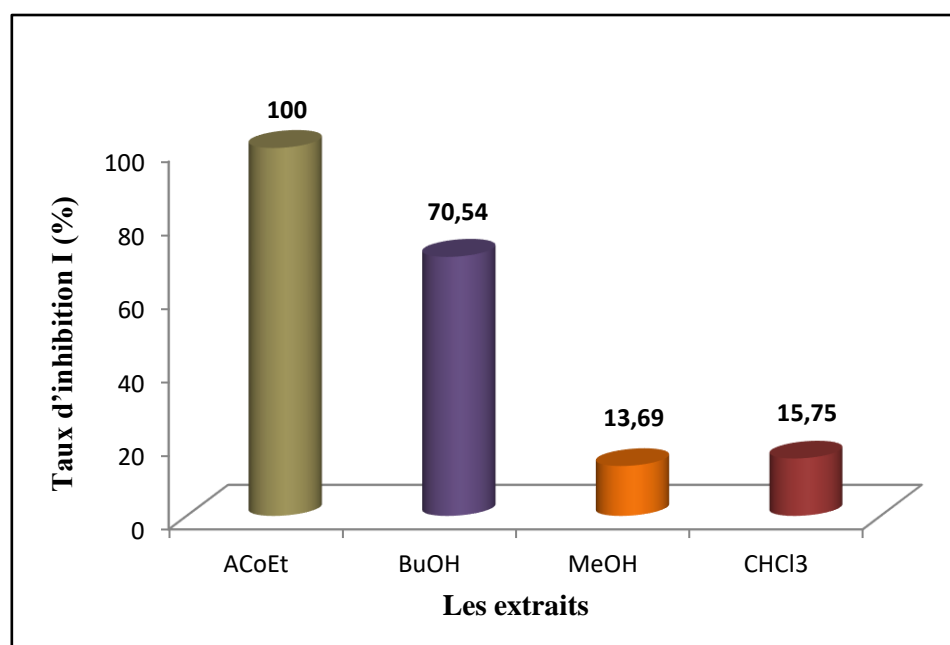
La présence ou l'absence de croissance mycélienne reflète l'activité antifongique. Après l'application des quatre extraits de la plante *Viola odorata* sur le champignon, une croissance mycélienne est observée après 48 heures, avec des diamètres variés.

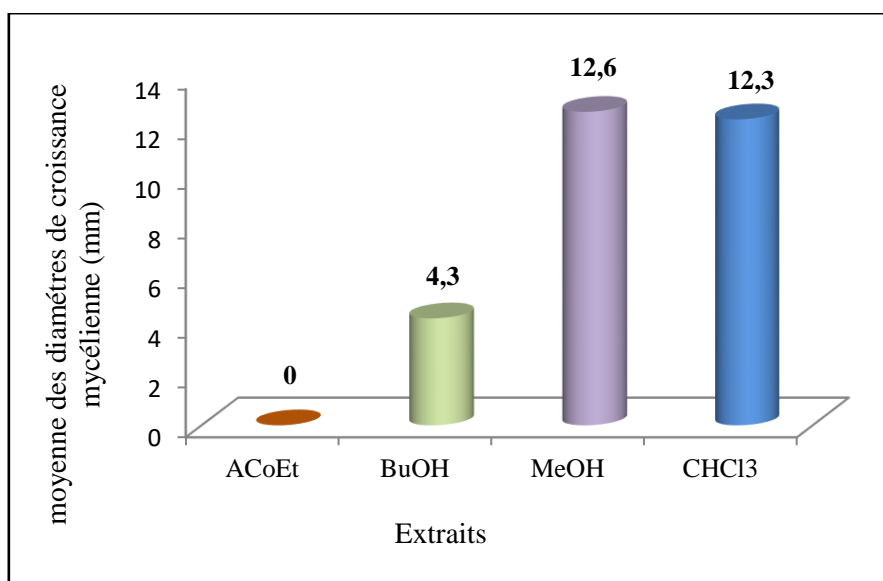
L'effet des quatre extraits sur la cinétique de croissance mycélienne est exposé dans le tableau III.7.

**Tableau III.7** : Résultats du test antifongique des quatre extraits.

Extraits	Concentrations (mg/ml)	Diamètre des colonies du champignon après 48 h d'incubation à 25°C ( mm )	Taux d'inhibition I (%)
AcOEt	500	-	100
<i>n</i> -BuOH	500	4,3	70,54
MeOH	500	12,6	13,69
CHCl <sub>3</sub>	500	12,3	15,75
T(+)	-	1,46	-
T(-)	-	1,43	-

Les résultats montrent que les diamètres des témoins (+ et -) après 48 heures sont respectivement de 1,46 et 1,43 mm de la souches *Fusarium oxysporum*.

**Figure III.12** : Taux d'inhibition des quatre extraits.



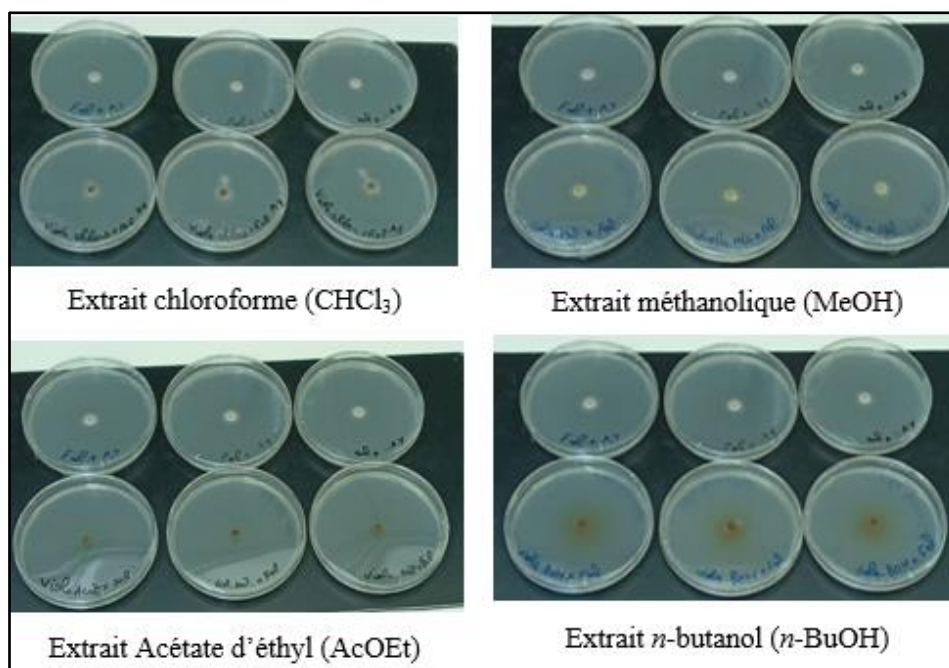
**Figure III.13** : La croissance mycélienne des quatre extraits

Dans la Figure III.12, on peut observer que l'extrait AcOEt a l'effet le plus important par rapport aux autres extraits, et cet effet augmente jusqu'à atteindre un taux d'inhibition maximal de 100% à une concentration de 500  $\mu\text{g/ml}$ .

La figure III.12 et la figure III.13 montre que l'extrait de l'acétate d'éthyle possède le taux d'inhibition le plus élevée (100%), suivi par l'extrait *n*-butanol (70,54%), et l'extrait Chloroforme (15,75%) respectivement, tandis que la plus faible taux d'inhibition est celui de l'extrait méthanolique (13,69%).

La croissance mycélienne des quatre extraits est illustrée dans la figure III.13. On peut constater que les diamètres de croissance mycélienne moyens (mm) pour les extraits d'acétate d'éthyle, *n*-butanol, méthanolique et chloroforme sont respectivement de 0, 4,3, 12,6 et 12,3.

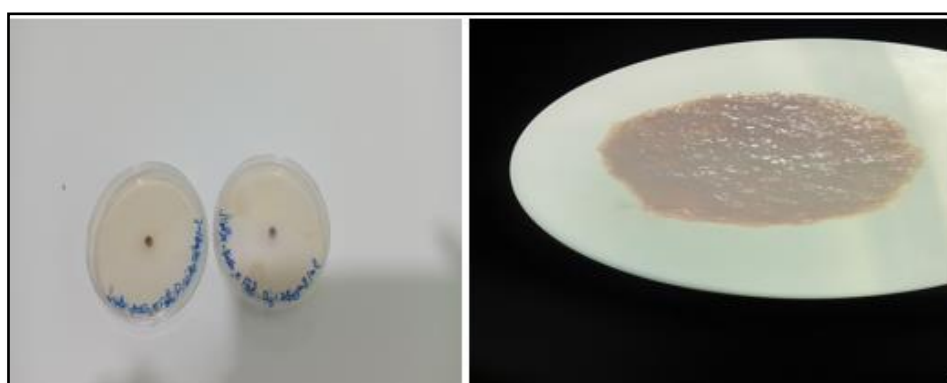
La figure III.14 présentent les zones d'inhibition observées autour des disques imprégnés des différents extraits étudiés après 2 jours d'incubation à 25°C.



**Figure III.14 :** Activité antifongique des extraits de l'espèce *Viola Odorata*.

Après avoir constaté l'absence de croissance fongique dans l'extrait d'acétate d'éthyle, nous avons déplacé le disque vers le côté. Il a été noté que même après ce déplacement, aucune croissance de champignons n'était observée.

Pour confirmer que l'extrait d'acétate était fatal aux champignons, nous avons diminué la concentration à 250 mg/ml et avons observé les résultats après une incubation de 6 jours à 25°C.



**Figure III.15:** Activité antifongique de l'extrait AcOEt (250 mg/ml)

Dans la figure III.15, l'absence de développement fongique est observée. Cette observation suggère que l'extrait d'acétate agit comme un fongicide, entravant la croissance du champignon *Fusarium oxysporum*.

Une étude indique que les extraits méthanolique et chloroforme de *Viola odorata* originaire d'Iran, ainsi que les huiles essentielles de cette plante, n'ont présenté aucune activité antifongique contre *C. albicans* [40]. Cependant, les huiles essentielles de *Viola odorata* ont démontré une activité modérée contre les hyphes et les spores d'*Aspergillus niger* [51]







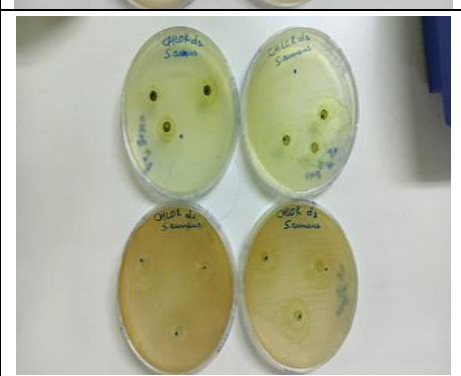

### **III.5. Activité antibactérienne**

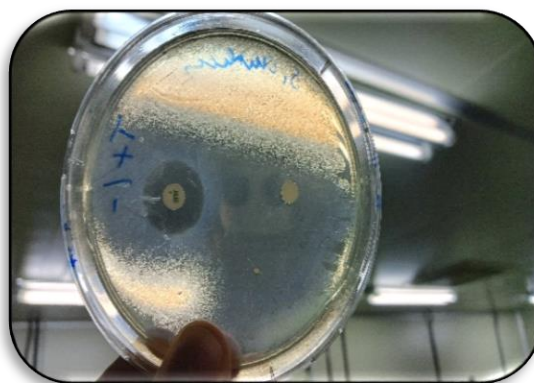
L'effet antibactérien des extraits de la partie aérienne de la plante a été étudié in vitro sur deux souches bactériennes à l'aide de la méthode de diffusion sur disque en milieu gélosé. On a évalué cette activité en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les échantillons testés par rapport à deux types de bactéries : *Staphylococcus aureus* à Gram positif et *Escherichia coli* à Gram négatif. Les résultats obtenus sont présentés dans les tableaux et les figures ci-dessous.

**Tableau III.8:** Résultats du test antibactérien des quatre extraits.

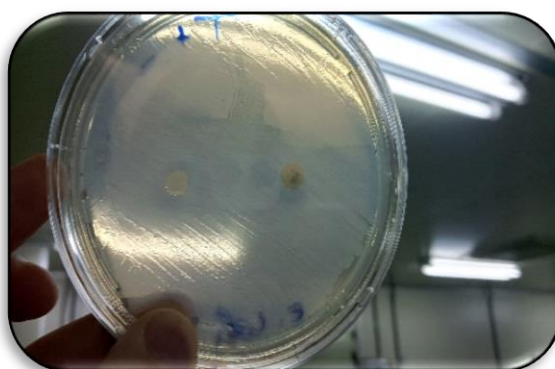
Extraits	Concentrations	Diamètre de la zone d'inhibition des Souches bactériennes (mm)	
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
<b>CHCl<sub>3</sub></b>	200 mg/ml	15,66	14,33
	100 mg/ml	21,00	16,66
	50 mg/ml	15,00	16,66
	25 mg/ml	13,66	17,33
<b>AcOEt</b>	200 mg/ml	23,66	19,66
	100 mg/ml	22,00	20,66
	50 mg/ml	17,00	20,00
	25 mg/ml	17,66	18,00
<b><i>n</i>-BuOH</b>	200 mg/ml	15,33	14,33
	100 mg/ml	13,00	12,66
	50 mg/ml	15,33	16,33
	25 mg/ml	13,33	16,66
<b>MeOH</b>	200 mg/ml	13,33	14,66
	100 mg/ml	14,66	15,33
	50 mg/ml	14,66	15,66
	25 mg/ml	14,66	15,33

Tableau III.9 : Photos montrant la sensibilité des bactéries avec les quatre extraits

Extraits	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
<b>MeOH</b>		
<b>n-BuOH</b>		
<b>AcOEt</b>		
<b>CHCl<sub>3</sub></b>		



**Figure III.16:** T- et T+ *Staphylococcus aureus*



**Figure III.17:** T- et T+ *Escherichia coli*

D'après les résultats présentés dans le tableau III.9, la méthode de diffusion sur disques a montré la présence d'une moyenne et très sensible activité pour nos extraits sur la plupart des souches bactériennes utilisées (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*)

- On constate que l'extrait Méthanol à la concentration 200 et 100 et 50, 25 mg/ml montre une activité antibactérienne (sensible) contre *Staph.aureus* avec une zone d'inhibition de 13,33 ,14,66 et 14,66, 14,66 mm respectivement, l'extrait méthanolique montre aussi une activité contre *E.coli* avec une zone d'inhibition de 14,66, 15,33 et 15,66, 15,33 mm respectivement toujours dans les mêmes concentrations (200, 100 et 50, 25 mg/ml).
- L'extrait Acétate à la concentration de 200 et 100, 50, 25 mg/ml respectivement, montre la présence d'une sensibilité antibactérienne contre les deux souches étudiées, pour la *Staphylococcus aureus* la zone d'inhibition de 23,66mm et 22 et 17 et 17,66 mm, et pour l'*E.coli* la zone d'inhibition de 19,66 et 20,66 et 20 et 18,00 mm.

- L'extrait *n*-butanol à une concentration de 200, 100, 50, 25 mg/ml respectivement montre une activité antibactérienne contre la souche *Staph. Aureus* avec une zone d'inhibition de 15,33, 13, 15,33 et 13,33 mm, Pour *E.coli* la sensibilité ou la zone d'inhibition a été observé avec une zone d'inhibition de 14,33 et 12,66 et 16,33; 16,66 mm
- L'extrait chloroforme à une concentration de 200, 100, 50, 25 mg/ml respectivement montre une activité antibactérienne contre les deux souches *Staph.aureus*, *E.coli*, avec des zones d'inhibitions de 15,66 mm et 21 mm et 15 mm et 13,66mm respectivement avec *Staph.aureus* ; *E.coli* avec une zone d'inhibition de 14,33 mm et 16,66 mm et 16,66mm et 17,33mm respectivement.

Enfin on peut dire que l'extrait MeOH possédé un activité bactérienne classé comme sensible et l'extraits *n*-BuOH et CHCl<sub>3</sub> classé comme très sensible avec des souches étudiées, la même remarque pour Acétate qui possède une sensibilité très élevé vis - à- vis les souches étudiées.

Selon la bibliographie, divers facteurs peuvent avoir un impact sur la détermination de l'activité antibactérienne, tels que le type de micro-organismes visés (Gram+ ou Gram-), la concentration (la résistance des souches bactériennes peut être liée à la capacité de l'agent antibactérien à se diffuser de manière homogène dans la gélose et à la charge des disques par l'agent antibactérien), le type d'extrait utilisé, ainsi que le solvant utilisé pour l'extraction, et enfin la partie de la plante utilisée.

Les études indiquent que la *Viola odorata*, originaire d'Iran, présente une activité antimicrobienne significative contre les bactéries phytopathogènes à Gram négatif [52]. Les extraits de méthanol et d'éthanol des feuilles de *Viola odorata* se sont avérés efficaces contre toutes les souches bactériennes testées, l'extrait d'éthanol montrant une inhibition plus marquée contre *E. coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* [53].

# C ONCLUSION GENERALE

## CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

---

La grande variété de plantes médicinales traditionnellement reconnues dans notre pays renferme un riche ensemble de métabolites secondaires aux propriétés thérapeutiques et pharmacologiques spécifiques, qui méritent d'être explorées plus en profondeur par la recherche scientifique.

Ce travail nous a permis en premier lieu de maîtriser des techniques analytiques de base tels que l'analyse qualitative et quantitative des métabolites secondaires issus des extraits d'une plante médicinale du genre *Viola* qui appartient à la famille des Violacées, ainsi que, nous avons procédé à l'évaluation de son potentiel antioxydant, antifongique et antibactérienne.

L'analyse qualitative par criblage phytochimique a révélé la présence de composés phénoliques tels que les tanins, les anthocyanes, ainsi que des terpénoïdes et des alcaloïdes dans cette plante.

Du point de vue quantitatif, l'analyse du contenu total en polyphénols a révélé des quantités significatives dans les trois extraits AcOEt, *n*-BuOH et MeOH. De plus, les dosages des flavonoïdes ont montré des niveaux élevés dans les extraits d'acétate d'éthyle et de *n*-butanol.

Le potentiel antioxydant des extraits a été évalué à l'aide de plusieurs méthodes. Les résultats indiquent que l'extrait d'acétate d'éthyle présente une activité antioxydante significative, tandis que les extraits de méthanol et de chloroforme montrent une activité antioxydante considérablement plus faible par rapport aux standards utilisés, tels que l'acide ascorbique et le Trolox.

En ce qui concerne l'activité antifongique, les quatre extraits de *Viola odorata* ont été évalués pour leur efficacité contre *Fusarium oxysporum*. Il a été observé que l'extrait d'acétate d'éthyle a totalement inhibé la croissance de ce dernier.

La méthode de diffusion par la gélose permet d'évaluer les capacités antibactériennes de différents extraits sur deux souches bactériennes : *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*. La sensibilité des deux bactéries avec l'extrait AcOEt est extrêmement élevée dans les différentes concentrations.

En conclusion, l'étude des extraits de cette plante ouvre des perspectives encourageantes pour le développement de nouvelles applications et marque une avancée initiale dans la recherche sur les composés naturels biologiquement actifs. Les résultats obtenus suggèrent que l'extrait d'acétate d'éthyle présente une activité antifongique remarquable.

**R**EFERENCES  
**R**BIBLIOGRAPHIQUES

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- [1] Carillon, A. (2009, May). Place de la phytothérapie dans les systèmes de santé au XXI. In *Conférence SIPAM Djerba Island, Island* (Vol. 28).
- [2] Tabuti, J. R., Lye, K. A., & Dhillon, S. S. (2003). Traditional herbal drugs of Bulamogi, Uganda: plants, use and administration. *Journal of ethnopharmacology*, 88(1), 19-44.
- [3] Richard, L. N., Stussman, B. J. (2009). Costs of Complementary and Alternative Medicine (CAM) and Frequency of Visits to CAM Practitioners. *National Health Statistics Reports*, 18, 15.
- [4] Iris, F. F. B., Wachtel-Galor, S. (2011). Herbal medicine – Biomolecular and clinical aspects. 2<sup>ème</sup> edition, CRC Press, *Taylor and Francis Group*, 1-10.
- [5] Benarba, B., Belabid, L., Righi, K., amine Bekkar, A., Elouissi, M., Khaldi, A., & Hamimed, A. (2015). Ethnobotanical study of medicinal plants used by traditional healers in Mascara (North West of Algeria). *Journal of ethnopharmacology*, 175, 626-637
- [6]. Jamous, R. M., Zaitoun, S. Y. A., Husein, A. I., Qasem, I. B., & Ali-Shtayeh, M. S. (2015). Screening for biological activities of medicinal plants used in traditional Arabic Palestinian herbal medicine. *European Journal of Medicinal Plants*, 9(1), 1-13.
- [7] Mabberley, D.J. (1987). *The Plant Book: A Portable Dictionary of the Higher Plants*. Cambridge University Press, Cambridge, p.707
- [8] Dobignard, A., & Chatelain, C. (2013). Index synonymique de la flore d’Afrique du Nord, volume 5, éditions des Conservatoire et Jardin botaniques de la Ville de Genève, 11d.
- [9] Munzinger, J. K., & Ballard, H. E. (2003). *Hekkingia* (Violaceae), a new arborescent violet genus from French Guiana, with a key to genera in the family. *Systematic botany*, 28(2), 345-351.
- [10] Qaiser, M., & Omer, S. (1985). Violaceae. In: *Flora of Pakistan*. Karachi University Press, Karachi, and Missouri Botanical Garden Press, St. Louis. vol. 166. (Eds.) : E. Nasir & S.I. Ali, 166, 1-28. Karachi.
- [11] Albert. (1853-1937). *Violacees (Violaceae): famille de la Violette, de la Pensée*. Publié par Paul PAREY à Berlin (1901) . <http://botablog2.unblog.fr/2010/03/13/violacee>
- [12] Ballard, H. E., Sytsma, K. J., Kowal, R. R. (1999). Shrinking the violets: phylogenetic relationships of infrageneric groups in *Viola* (Violaceae) based on internal transcribed spacer DNA sequences. *Systematic Botany*, (23), 439-458.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- [13] Yousefi, N., Saeidi Mehrvarz, S., Marcussen, T. (2012). Anatomical studies on selected species of *Viola* (Violaceae). *Nordic Journal of Botany*. (30), 4, 461- 469.
- [14] Raab-Straube, E., Von. & Henning, T. (2018). Violaceae. – In: Euro+MedPlantbase - the information resource for Euro-Mediterranean plant diversity .Sp. Pl.: 933. 1753
- [15] Liu, W., Shu, W., & Lan, C. (2004). *Viola baoshanensis*, a plant that hyperaccumulates cadmium. Chinese. *Science Bulletin*, (49), 1. pp. 29–32
- [16] Qaiser, M., & Omer, S. (1985). Flora of Pakistan: no. 166. Violaceae. Islamabad: *Agricultural Research Council* 28p-illus, map, keys En Icones, Maps Geog, 6.
- [17] Mittal, P., Gupta, V., Goswami, M., Thakur, N., & Bansal, P. (2015). Phytochemical and pharmacological potential of *Viola odorata*. *International Journal of Pharmacognosy*, 2(5), 215-20.
- [18] Kirtikar, K. R., & Basu, B. D. (1999). International Book Distributors, Dehradun, India. *Indian Medicinal Plant*, 3, 2262-2263.
- [19] Hakim, H., Bustanul Mufradat, A. (2002). New Delhi: Kitabulshifa, 138-139. Vol. 15
- [20] Kabiruddin, M., Makhzanul Mirada. (2007). New Delhi: Idara Kitabul Shifa, 116-117.
- [21] Anonymous. (1992). Standardization of single drugs of unani medicine. Part II. New Delhi: Central Council for Research in Unani Medicine (CCRUM). Ministry of Health & Family Welfare, Govt. India, p 149- 152.
- [22] Kokate, C., K, Purohit, A.P., Gokhale, S.B. (2009). *Pharmacognosy*. 43: 11.54, 11.55
- [23] Khare, CP. (2007). Indian Medicinal plants an illustrated dictionary with 215 pictures of crude herbs. New Delhi, 706.
- [24] Kirtikar, K. R., & Basu, B. D. (2012). Indian Medicinal Plants. Delhi: Periodical Expert Book Agency. vol .2, 207-208.
- [25] Bakhshaei, S. (2017). Phyto-pharmacological effect of nine medicinal plants as a traditional treatment on depression. *Journal of Applied Pharmacy*, 9(3), 2-5.
- [26] Feyzabadi, Z., Jafari, F., Kamali, S. H., Ashayeri, H., Aval, S. B., Esfahani, M. M., & Sadeghpour, O. (2014). Efficacy of *Viola odorata* in treatment of chronic insomnia. *Iranian Red Crescent Medical Journal*, 16(12).
- [27] Qasemzadeh, M. J., Sharifi, H., Hamedanian, M., Gharehbeqlou, M., Heydari, M., Sardari, M., & Minae, M. B. (2015). The effect of *Viola odorata* flower syrup on the

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- cough of children with asthma: a double-blind, randomized controlled trial. *Journal of evidence-based complementary & alternative medicine*, 20(4), 287-291.
- [28] Mahboubi, M., & Kashani, L. M. T. (2018). A Narrative study about the role of *Viola odorata* as traditional medicinal plant in management of respiratory problems. *Advances in Integrative Medicine*, 5(3), 112-118.
- [29] Choopani, R., Sadr, S., Kaveh, S., Kaveh, N., & Dehghan, S. (2015). Pharmacological treatment of catarrh in Iranian traditional medicine. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 5(2), 71-74.
- [30] Singh, A., Dhariwal, S., & Navneet, D. (2018). Traditional uses, antimicrobial potential, pharmacological properties and phytochemistry of *Viola odorata*: A mini review. *Int. J. Phytopharm*, 7, 103-105.
- [31] Harborne, J. B. (1963). Plant polyphenols IX. The glycosidic pattern of anthocyanin pigments. *Phytochemistry*, 2(1), 85-97.
- [32] Harborne, J. B. (1964). Plant polyphenols—XI. The structure of acylated anthocyanins. *Phytochemistry*, 3(2), 151-160.
- [33] Karioti, A., Furlan, C., Vincieri, F. F., & Bilia, A. R. (2011). Analysis of the constituents and quality control of *Viola odorata* aqueous preparations by HPLC-DAD and HPLC-ESI-MS. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 399, 1715-1723.
- [34] Cu, J. Q., Perineau, F., & Gaset, A. (1992). Volatile components of violet leaves. *Phytochemistry*, 31(2), 571-573.
- [35] Beierbeck, H., & Saunders, J. K. (1980). Analysis of <sup>13</sup>C nuclear magnetic resonance chemical shifts of acyclic hydrocarbons. *Canadian Journal of Chemistry*, 58(12), 1258-1265.
- [36] Muhammad, N., Saeed, M., Aleem, A., & Khan, H. (2012). Ethnomedicinal, phytochemical and pharmacological profile of genus *Viola*. *Phytopharmacology*, 3(1), 214-26.
- [37] Rodrigues, V. H., Cardoso, C., Paixão, J. A., & Costa, M. M. R. R. (2007). 2, 2, 6, 6-Tetramethyl-4-oxopiperidinium nitrate. *Acta Crystallographica Section C: Crystal Structure Communications*, 63(4), 243-245.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- [38] Erdogan Orhan, I., Senol, FS., Aslan Erdem, S., Tatli, II., Kartal, M., Alp, S. (2015). Tyrosinase and cholinesterase inhibitory potential and flavonoid characterization of *Viola odorata* L. (Sweet Violet). *Phytother. Res*, 29: 1304–1310
- [39] Kumar, V., Surati, V., Singh, R.P., Srivastava, GK., & Singh, AK. (2015). Evaluation of in vitro antimicrobial activity and essential oil composition of ethanol extract of *Viola odorata* leaves. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*; 4(5), 1121-1129.
- [40] Akhbari, M., Batooli, H., & Kashi, F. J. (2012). Composition of essential oil and biological activity of extracts of *Viola odorata* L. from central Iran. *Natural product research*, 26(9), 802-809.
- [41] Koochek, M. H., Pipelzadeh, M. H., & Mardani, H. (2003). The effectiveness of *Viola odorata* in the prevention and treatment of formalin-induced lung damage in the rat. *Journal of herbs, spices & medicinal plants*, 10(2), 95-103.
- [42] Lindholm, P., Göransson, U., Johansson, S., Claeson, P., Gullbo, J., Larsson, R., & Backlund, A. (2002). Cyclotides: a novel type of cytotoxic agents. *Molecular Cancer Therapeutics*, 1(6), 365-369.
- [43] Gerlach, S. L., Rathinakumar, R., Chakravarty, G., Göransson, U., Wimley, W. C., Darwin, S. P., & Mondal, D. (2010). Anticancer and chemosensitizing abilities of cycloviolacin O2 from *Viola odorata* and psyle cyclotides from *Psychotria leptothyrsa*. *Peptide science*, 94(5), 617-625.
- [44] Siddiqi, H. S., Mehmood, M. H., Rehman, N. U., & Gilani, A. H. (2012). Studies on the antihypertensive and antidyslipidemic activities of *Viola odorata* leaves extract. *Lipids in health and disease*, 11, 1-12.
- [45] Vishal, A., Parveen, K., Pooja, S., Kannappan, N., & Kumar, S. (2009). Diuretic, laxative and toxicity Studies of *Viola odorata* aerial parts. *Pharmacol online*, 1, 739-748.
- [46] Ebrahimzadeh, M. A., Nabavi, S. M., Nabavi, S. F., Bahramian, F., & Bekhradnia, A. R. (2010). Antioxidant and free radical scavenging activity of *H. officinalis* L. var. *angustifolius*, *V. odorata*, *B. hyrcana* and *C. speciosum*. *Pak J Pharm Sci*, 23(1), 29-34.
- [47] Stojković, D., Glamočlija, J., Ćirić, A., Šiljegović, J., Nikolić, M., & Soković, M. (2011). Free radical scavenging activity of *Viola odorata* water extracts. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 17(3), 285-290.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- [48] Matsubara, K., Matsuura, Y., Bacic, A., Liao, M. L., Hori, K., & Miyazawa, K. (2001). Anticoagulant properties of a sulfated galactan preparation from a marine green alga, *Codium cylindricum*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 28(5), 395-399.
- [49] Guglielmone, H. A., Agnese, A. M., Montoya, S. C. N., & Cabrera, J. L. (2002). Anticoagulant effect and action mechanism of sulphated flavonoids from *Flaveria bidentis*. *Thrombosis Research*, 105(2), 183-188.
- [50] Xia, Y., Xiu-zhen, L., & Chen, X. (2010). Chemical constituents from *Viola yedoensis*. *Chemistry of natural compounds*, 46, 809-810.
- [51] Pawar, V. C., & Thaker, V. S. (2006). In vitro efficacy of 75 essential oils against *Aspergillus niger*. *Mycoses*, 49(4), 316-323.
- [52] Zarrabi, M., Dalirfardouei, R., Sepehrizade, Z., & Kermanshahi, R. K. (2013). Comparison of the antimicrobial effects of semipurified cyclotides from Iranian *Viola odorata* against some of plant and human pathogenic bacteria. *Journal of applied microbiology*, 115(2), 367-375.
- [53] Pránting, M., Lööv, C., Burman, R., Göransson, U. L. F., & Andersson, D. I. (2010). The cyclotide cycloviolacin O2 from *Viola odorata* has potent bactericidal activity against Gram-negative bacteria. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 65(9), 1964-1971.
- [54] Lindholm, P., Göransson, U., Johansson, S., Claeson, P., Gullbo, J., Larsson, R., & Backlund, A. (2002). Cyclotides: a novel type of cytotoxic agents. *Molecular Cancer Therapeutics*, 1(6), 365-369.
- [55] Khattak, S.G., Gilani, S.N., Ikram, M. (1985). Antipyretic studies on some indigenous Pakistani medicinal plants. *J Ethnopharmacol.* 14(1), 45-51.
- [56] Amer, A., & Mehlhorn, H. (2006). Repellency effect of forty-one essential oils against *Aedes*, *Anopheles*, and *Culex* mosquitoes. *Parasitology research*, 99, 478-490.
- [57] <http://apps.rhs.org.uk/plantselector/plant?Plantid=4303>
- [58] Debuigne, G., & Couplan, F. (2009). Petit Larousse des plantes médicinales, 1<sup>er</sup> éd, Larousse, p. 1-383,

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- [59] Owen, P. L., & Johns, T. (1999). Xanthine oxidase inhibitory activity of northeastern North American plant remedies used for gout. *Journal of ethnopharmacology*, 64(2), 149-160.
- [60] Chaouche, T., Haddouchi, F., & Bekkara, F. A. (2011). Phytochemical study of roots and leaves of the plant *Echium pycnanthum* Pomel. *Der Pharmacia Lettre*, 3(2), 1-4.
- [61] Bruneton, J. (2009). Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. 4<sup>e</sup> éd, revue et augmentée, Paris, Tec & Doc, *Éditions médicales internationales*, 1288p.
- [62] Sofowora, E.A. (1982). Medicinal Plants and Traditional Medicine in Africa. 2<sup>nd</sup> ed John wiley and Sons. Chichester, p. 256.
- [63] Haddouchi, F., Zerhouni, K., Sidi-Yekhelef, A., & Chaouche, T. M. (2016). Évaluation de l'activité antimicrobienne de différents extraits d'*Helichrysum stoechas* sub sp. rupestre. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de liège*, 85, 152-159.
- [64] Kosalec, I., Bakmaz, M., Pepeljnjak, S., & Vladimir-Knezevic, S. A. N. D. A. (2004). Quantitative analysis of the flavonoids in raw propolis from northern Croatia. *Acta pharmaceutica*, 54(1), 65-72.
- [65] Da Silva, J. M. R., Darmon, N., Fernandez, Y., & Mitjavila, S. (1991). Oxygen free radical scavenger capacity in aqueous models of different procyanidins from grape seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39(9), 1549-1552.
- [66] Marc, F., Davin, A., Deglene-Benbrahim, L., Ferrand, C., Baccaunaud, M., & Fritsch, P. (2004). Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *Médecine Sciences*, 20 (4), 458-463.
- [67] Bartosz, G. (2003). Generation of reactive oxygen species in biological systems. *Comments on Toxicology*, 9(1), 5-21.
- [68] Da Silva, J. M. R., Darmon, N., Fernandez, Y., & Mitjavila, S. (1991). Oxygen free radical scavenger capacity in aqueous models of different procyanidins from grape seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39(9), 1549-1552.
- [69] Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical biochemistry*, 239(1), 70-76.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- [70] Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26 (9-10), 1231-1237.
- [71] Sharma, O. P., & Bhat, T. K. (2009). DPPH antioxidant assay revisited. *Food chemistry*, 113(4), 1202-1205.
- [72] Popovici, C., Saykova, I., & Tylkowski, B. (2009). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel*, 4(8), 25-39.
- [73] 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.
- [74] Teixeira, E. I., Fischer, G., Van Velthuizen, H., Walter, C., & Ewert, F. (2013). Global hot-spots of heat stress on agricultural crops due to climate change. *Agricultural and Forest Meteorology*, 170, 206-215.
- [75] Bedlovičová, Z., Strapáč, I., Baláž, M., & Salayová, A. (2020). A brief overview on antioxidant activity determination of silver nanoparticles. *Molecules*, 25(14), 3191. <https://doi.org/10.3390/molecules25143191>
- [76] Ribeiro, S. M. R., Barbosa, L. C. A., Queiroz, J. H., Knödler, M., & Schieber, A. (2008). Phenolic compounds and antioxidant capacity of Brazilian mango (*Mangifera indica* L.) varieties. *Food chemistry*, 110(3), 620-626.
- [77] Balasundram, N., Tan, Y. A., Sambanthamurthi, R., Sundram, K., & Samman, S. (2005). Antioxidant properties of palm fruit extracts. *Asia Pacific journal of clinical nutrition*, 14(4), 319.
- [78] Karagözler, A. A., Erdağ, B., Emek, Y. Ç., & Uygun, D. A. (2008). Antioxidant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechas hastata*. *Food Chemistry*, 111(2), 400-407.
- [79] Szydłowska-Czerniak, A., Dianoczki, C., Recseg, K., Karlovits, G., & Szłyk, E. (2008). Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta*, 76(4), 899-905.
- [80] Koronkiewicz, S. (2021). Photometric determination of iron in pharmaceutical formulations using double-beam direct injection flow detector. *Molecules*, 26(15), 4498.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- [81] Szydłowska-Czerniak, A., Dianoczki, C., Recseg, K., Karlovits, G., & Szłyk, E. (2008). Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta*, 76(4), 899-905.
- [82] Dennis, C., Webstert, J. (1971). Antagonistic Properties of Species-Groups of Trichoderma: II. Production of Volatile Antibiotics. *Transactions of the British Mycological Society*, 57, 363-369.
- [83] Barchan, A., Bakkali, M., Arakrak, A., & Laglaoui, A. (2016). Antibacterial and anti-biofilm Effects of three species of Mentha: Mentha spicata, Mentha pulegium and Mentha piperita. *Phytothérapie*, 14, 88-96.
- [84] Ponce, A. G., Fritz, R., Del Valle, C., & Roura, S. I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT-Food Science and Technology*, 36(7), 679-684.
- [85] Tiwari, K., Bhatt, S., Jain, N. (2022). Phytochemical screening and antimicrobial potential of *Viola Odorata* flower hydroalcoholic extract. *Journal of Pharmaceutical Negative Results*, (13), 10, 2434- 2436
- [86] Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food chemistry*, 99(1), 191-203.
- [87] Aslam, L., Kaur, R., Kapoor, N., Mahajan, R. (2019). Phytochemical composition and antioxidant activities of leaf extracts of *Viola odorata* from Kishtwar, Jammu and Kashmir. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, DOI: 10.1080/10496475.2019.167783
- [88] Siddhuraju, P., & Becker, K. (2007). The Antioxidant and Free Radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) Seed Extracts. *Food Chemistry*, 101(1): 10-19
- [89] Szydłowska-Czerniak, A., Dianoczki, C., Recseg, K., Karlovits, G., & Szłyk, E. (2008). Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta*, 76(4), 899-905.

# RESUME

Ce travail est consacré à l'étude phytochimique et l'évaluation des activités biologiques (activité antioxydante, antibactérienne et antifongique) des extraits d'une plante médicinale du genre *Viola* qui appartient à la famille des Violacées.

Les résultats de l'analyse phytochimique qualitative ont révélé une abondance notable de différents métabolites secondaires dans les extraits de cette plante, tels que les tanins, les anthocyanes, les terpénoïdes et les alcaloïdes.

L'évaluation quantitative des polyphénols et flavonoïdes totaux a indiqué que les extraits AcOEt et *n*-BuOH présentent des concentrations similaires.

Le potentiel antioxydant est évalué à l'aide d'une gamme de tests *in vitro*, y compris le piégeage des radicaux libres (DPPH), le piégeage des radicaux libres (ABTS), la phénanthroline, et le pouvoir réducteur (FRAP). Les résultats ont montré que l'extrait d'acétate d'éthyle présente un pouvoir antioxydant significatif.

La méthode de diffusion sur gélose a été employée pour évaluer l'activité antibactérienne des quatre extraits. Les résultats obtenus révèlent que l'extrait AcOEt montre une activité antibactérienne prometteuse contre *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*. De plus, les extraits de la plante ont été testés pour leur activité antifongique contre *Fusarium oxysporum*, et l'acétate d'éthyle a présenté des résultats satisfaisants en tant qu'agent fongicide.

**Mots clés** : *V. odorata*, Activité antioxydante, Activité antibactérienne, Activité antifongique.

# ABSTRACT

This work is devoted to the phytochemical study and evaluation of the biological activities (antioxidant, antibacterial and antifungal activity) of extracts from a medicinal plant of the *Viola* genus, which belongs to the Violaceae family.

The results of the qualitative phytochemical analysis revealed a significant abundance of various secondary metabolites in the extracts of this plant, such as tannins, anthocyanins, terpenoids and alkaloids.

Quantitative evaluation of total polyphenols and flavonoids indicated that AcOEt and *n*-BuOH extracts had similar concentrations.

Antioxidant potential was assessed using a range of *in vitro* assays, including free radical scavenging (DPPH), free radical scavenging (ABTS), phenanthroline, and reducing power (FRAP). The results showed that ethyl acetate extract has significant antioxidant power.

The agar diffusion method was used to assess the antibacterial activity of the four extracts. The results show that the AcOEt extract shows promising antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. In addition, the plant extracts were tested for their antifungal activity against *Fusarium oxysporum*, and ethyl acetate showed satisfactory results as a fungicidal agent.

**Key words:** *V. odorata*, Antioxidant activity, Antibacterial activity, Antifungal activity.

# الملخص

هذا العمل مخصص لدراسة الكيمياء النباتية وتقييم الأنشطة البيولوجية (النشاط المضاد للأوكسدة والمضاد

للبيكتيريا والفطريات) لمستخلصات نبات طبي من جنس الفيولا الذي ينتمي إلى فصيلة الفيولاسيات.

كشفت نتائج التحليل الكيميائي النباتي النوعي عن وفرة كبيرة من المستقلبات الثانوية المختلفة في مستخلصات

هذا النبات، مثل العفص والأنثوسيانين والتريينويدات والقلويدات.

أظهر التحليل الكمي لمجموع البوليفينول والالفونويد إلى أن مستخلصات أسيتات الإيثيل والبتانول تحتوي

على تركيزات مماثلة.

تم تقييم إمكانات مضادات الأوكسدة باستخدام مجموعة من المقاييس المختبرية، بما في ذلك مسح الجذور

الحرّة (DPPH)، ومسح الجذور الحرّة (ABTS)، والفينانثرولين، وقوة الاختزال (FRAP). أظهرت النتائج أن

مستخلص أسيتات الإيثيل له قوة كبيرة مضادة للأوكسدة.

استُخدمت طريقة انتشار الآجار لتقييم النشاط المضاد للبيكتيريا للمستخلصات الأربعة. أظهرت النتائج أن

مستخلص أسيتات الإيثيل أظهر نشاطاً واعداً مضاداً للبيكتيريا ضد *Escherichia* و *Staphylococcus aureus*

*coli*. وبالإضافة إلى ذلك، تم اختبار المستخلصات النباتية لمعرفة نشاطها المضاد للفطريات ضد *Fusarium*

*oxysporum*، وأظهرت أسيتات الإيثيل نتائج مرضية كعامل مبيد للفطريات.

**الكلمات المفتاحية:** *V. odorata*، النشاط المضاد للأوكسدة، النشاط المضاد للبيكتيريا، النشاط المضاد

للفطريات.