

**République Algérienne Démocratique Et Populaire**  
**Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique**

**Université 20 Août 1955 Skikda**  
**Faculté De Technologie**  
**Département De Génie Des Procédés**



## **Mémoire**

En vue de l'obtention du diplôme de

## **Master**

Filière : Sciences de L'environnement

Spécialité : Génie de l'environnement

# **Évaluation DE L'activité antibactérienne et antioxydante d'une plante médicinale de l'est algérien**

### **Réalisé par**

Meradji Younes

Merdoul Salah Eddine

Nakoub Aymen

### **Encadrant**

Dr. SOBHI CHAFIA

**Année Universitaire 2022-2023**

## Résumé

Le présent travail a pour objectif l'étude de l'activité biologique d'une plante médicinale de l'est algérien très peu étudiée, en l'occurrence *Calicotome spinosa* L. Des études phytochimiques antérieures réalisés sur les parties aériennes ont montré sa richesse en métabolites secondaires surtout les flavonoïdes et les polyphénols. L'étude de l'activité antibactérienne des extraits de la plante a été effectuée sur plusieurs souches bactériennes isolées cliniquement par la méthode de diffusion sur disque, a montré que tous les extraits, MeOH, CH<sub>3</sub>COOEt et le 2-BuOH ont une sensibilité très importante contre la majorité des souches choisies, pareillement le pouvoir antioxydant a été évalué par l'effet scavenger du radical libre DPPH•. Les résultats obtenus révèlent une capacité antioxydante significative de l'extrait chloroformique très proches de celle du témoin (acide ascorbique), alors qu'une faible capacité antioxydante des autres extraits. Le spectre FTIR de l'extrait méthanolique a révélé la présence de plusieurs groupements fonctionnels, ce qui confirme la richesse de cette plante en métabolites secondaires.

**Mots clés:** *Calicotome spinosa* L, extrait, activité antibactérienne, activité antioxydante.

## **Abstract**

The aim of this work is to study the biological activity of a medicinal plant from eastern Algerianamely *Calicotome spinosa* L. Previous phytochemical studies carried out on the aerial partshave shown its richness in secondary metabolites especially flavonoids and polyphenols. Thestudy of the antibacterial activity of the plant extracts was carried out on several bacterial strainsclinically isolated by the disc diffusion method, showed that all the extracts, MeOH, CH<sub>3</sub> COOEtand 2-BuOH have a very high sensitivity. against the majority of the selected strains, the antioxidant power was similarly evaluated by the scavenger effect of the free radical DPPH•. The results obtained reveal a significant antioxidant capacity of the chloroform extract very close to that of the control (ascorbic acid), while a low antioxidant capacity of the other extracts. The FTIR spectrum of the methanolic extract revealed the presence of several functional groups, which confirms the richness of this plant in secondary metabolites.

**Key words:** *Calicotome spinosa* L, extract, antibacterial activity, antioxidant activity.

## الملخص

الهدف من هذا العمل هو دراسة النشاط البيولوجي لنبته طبية من شرق الجزائر وهي Calicotome spinosa L. أظهرت الدراسات الكيميائية النباتية السابقة التي أجريت على الأجزاء الهوائية ثرائها في المستقبلات الثانوية خاصة الفلافونويد والبوليفينول.

أجريت دراسة النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلصات النباتية على العديد من السلالات البكتيرية المعزولة سريريًا بطريقة انتشار القرص ، وأظهرت أن جميع المستخلصات ، MeOH ، CH<sub>3</sub>COOEt و BuOH لديها حساسية عالية جدًا. ضد غالبية السلالات المختارة ، تم تقييم قوة مضادات الأكسدة بالمثل من خلال تأثير الكاسح للجذور الحرة . DPPH • كشفت النتائج التي تم الحصول عليها عن قدرة مضادات الأكسدة الكبيرة لمستخلص الكلوروفورم قريبة جدًا من عنصر التحكم (حمض الأسكوربيك) ، في حين أن السعة المضادة للأكسدة منخفضة في المستخلصات الأخرى. كشف طيف FTIR للمستخلص الميثانولي عن وجود عدة مجموعات وظيفية ، مما يؤكد ثراء هذا النبات في المستقبلات الثانوية.

**الكلمات المفتاحية:** Calicotome spinosa L ، مستخلص ، نشاط مضاد للجراثيم ، نشاط مضاد للأكسدة.

# REMERCIEMENT

Avant toute chose, Nous remercions notre Dieu tout puissant, qui nous a donné la force et la patience, pour réaliser ce modeste travail.

Nous tenons à remercier en particulier notre encadrant **Pr. SOBHI CHAFIA**, qui a guidé, surveillé le déroulement et l'exécution du travail en me prodiguant toute aide disponible, et en me consacrant de son temps précieux.

Nous tenons aussi à exprimer notre profonde reconnaissance et nos vifs remerciements à notre Co-encadrant **Dr. BOUDAGHA SIFE EL ISLAM** Maître de conférence à l'université 20 Aout 1995 Skikda pour son aide, sa disponibilité et ses conseils précieux.

Nous remercions très sincèrement **Mr. Djilali Karim ingénieur** de laboratoire de chimie pour son accueil et l'aide qu'il nous a apporté.

Nous vifs remerciements vont aux membres du jury

Nos chaleureux remerciements aux membres du laboratoire de chimie et de biologique du hall technologique pour la réalisation des expériences de l'activité antibactérienne

Tous nos remerciements et notre reconnaissance à nos parents, pour leurs soutiens indéfectibles constants.

Merci à tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail de près ou de loin et merci du fond du cœur pour votre don constant.

**Aymen, Salah Eddine et Younes**

# **DEDICACE**

Je dédie ce modeste travail à :

En premier lieu, à ma mère et à mon père qui ont consenti beaucoup de sacrifices pour me permettre de réaliser mes objectifs. Qu'ils trouvent ici toute ma reconnaissance et ma gratitude.

A tous mes frères et toute ma famille.

A tous mes amis.

A tous mes collègues de la promotion de Master génie de l'environnement

A tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à me remonter le moral et me soutenir dans les moments difficiles.

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux et le fruit de votre soutien infailible.

Merci d'être toujours là pour moi

**AYMEN**

# **DEDICACE**

Je dédie ce modeste travail à :

En premier lieu, à ma mère et à mon père qui ont consenti beaucoup de sacrifices pour me permettre de réaliser mes objectifs. Qu'ils trouvent ici toute ma reconnaissance et ma gratitude.

A tous mes frères et toute ma famille.

A tous mes amis.

A tous mes collègues de la promotion de Master génie de l'environnement

A tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à me remonter le moral et me soutenir dans les moments difficiles.

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux et le fruit de votre soutien infailible.

Merci d'être toujours là pour moi

**SALAH**

# **DEDICACE**

Je dédie ce modeste travail à :

En premier lieu, à ma mère et à mon père qui ont consenti beaucoup de sacrifices pour me permettre de réaliser mes objectifs. Qu'ils trouvent ici toute ma reconnaissance et ma gratitude.

A tous mes frères et toute ma famille.

A tous mes collègues de la promotion de Master génie de l'environnement

A tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à me remonter le moral et me soutenir dans les moments difficiles.

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux et le fruit de votre soutien infailible.

Merci d'être toujours là pour moi

**YOUNES**

# Table des matières

|                            |   |
|----------------------------|---|
| Introduction Générale..... | 1 |
|----------------------------|---|

## Chapitre I : Étude Bibliographique

|   |    |
|---|----|
| Introduction.....   | 4  |
| I.1. Aspect basique .....                                       | 4  |
| I.2. Etude Botanique de la Calycotome spinosa.....              | 4  |
| I.2.1. Définition de la famille des fabaceae .....              | 4  |
| I.2.2. Le genre de Calycotome.....                              | 5  |
| I.2.3. Description botanique .....                              | 5  |
| I.2.4. Nomenclature .....                                       | 6  |
| I.2.5. Taxonomie de la plante étudiée .....                     | 7  |
| I.2.6. Propriété et usage .....                                 | 7  |
| I.2.6.1. C. spinosa et environnement.....                       | 7  |
| I.2.6.2. C. spinosa et usage thérapeutique.....                 | 7  |
| I.2.6.3. C. spinosa et Phytochimie .....                        | 8  |
| I.3. Métabolites secondaires .....                              | 9  |
| I.3.1. Les métabolites secondaires chez les composées .....     | 9  |
| I.3.2. Les composées phénoliques .....                          | 9  |
| I.3.3. Les terpènes .....                                       | 9  |
| I.3.4. Les alcaloïdes.....                                      | 9  |
| I.3.5. Les hétérosides : .....                                  | 10 |
| I.4. Activité biologique.....                                   | 10 |
| I.4.1. Stress oxydatif.....                                     | 10 |
| I.4.2.1. Les radicaux libres .....                              | 10 |
| I.4.2.1. Les radicaux libres primaires.....                     | 10 |
| I.4.2.2. Les radicaux libres secondaires .....                  | 11 |
| I.4.3. Définition d'un antioxydant .....                        | 11 |
| I.4.4. Classification des antioxydants .....                    | 12 |
| I.4.4.1. Antioxydants endogènes.....                            | 12 |
| I.4.4.2. Antioxydants exogènes .....                            | 12 |
| I.4.5.1. Antioxydants primaires.....                            | 15 |
| I.4.5.2. Les antioxydants secondaires .....                     | 16 |
| I.4.6. Techniques d'évaluation de la capacité antioxydant ..... | 16 |

|   |    |
|---|----|
| I.5. Activité antibactérienne.....                                | 18 |
| I.5.1. Historique.....  | 18 |
| I.5.2. Définition.....  | 18 |
| I.5.3. Nomenclature bactérienne.....                              | 18 |
| I.5.4. Structure des bactéries.....                               | 19 |
| I.5.5. Classifications des bactéries.....                         | 20 |
| I.6. Les antibiotiques.....                                       | 21 |
| I.6.1. Définition.....  | 21 |
| I.6.2. La résistance bactérienne aux antibiotiques.....           | 22 |
| I.6.3. Une résistance naturelle ou intrinsèque.....               | 23 |
| I.6.4. Une résistance acquise.....                                | 23 |
| I.6.5. Caractéristiques des souches utilisées.....                | 23 |
| I.6.5.1. Les bactéries à Gram négatif.....                        | 23 |
| I.6.6. Techniques d'évaluation de l'activité antimicrobienne..... | 25 |
| I.6.6.1. Méthode de diffusion en milieu liquide.....              | 25 |
| I.6.6.2. Méthode de diffusion en milieu solide.....               | 25 |

## **Chapitre II : Matériels Et Méthodes**

|   |    |
|---|----|
| Introduction.....   | 33 |
| II.1. Matériels.....  | 33 |
| II.1.1. Matériels non biologiques.....                                | 33 |
| II.1.2. Matériels biologiques.....                                    | 34 |
| II.1.2.3. Choix du matériel végétal.....                              | 34 |
| II.1.3 Protocole expérimental.....                                    | 34 |
| II.1.3.1. Récolte de la Matière Végétale.....                         | 34 |
| II.2. Méthodes.....   | 35 |
| II.2.1. Préparation de la matière végétale.....                       | 35 |
| II.3. Matériel microbien.....   | 36 |
| II.3.1. Les souches bactériennes.....                                 | 36 |
| II.4. Préparation des extraits.....                                   | 37 |
| II.4.1. Principe d'extraction solide liquide (macération).....        | 37 |
| II.4.2. La méthode classique par gradient de polarité de solvant..... | 37 |
| II.4.3. Extraction par solvant alcoolique utilisant le soxhlet.....   | 40 |
| II.5. Evaluation de l'activité antibactérienne.....                   | 41 |
| II.5.1. Méthodes.....   | 41 |
| II.5.2.1. Méthode de diffusion des disques.....                       | 41 |

|   |    |
|---|----|
| II.5.3. Souche bactérienne et conditions de culture ..... | 42 |
| II.5.3.1. Préparation des disques .....                   | 42 |
| II.5.3.2. Préparation de milieu de culture.....           | 42 |
| II.5.3.3. Revivification des souches .....                | 43 |
| II.5.3.4. Stérilisation du matériel .....                 | 43 |
| II.6. Test de l'activité inhibitrice.....                 | 43 |
| II.6.1. Ensemencement et dépôt des disques.....           | 43 |

### **Chapitre III : Résultats et Discussion**

|   |    |
|---|----|
| III.1. La comparaison entre l'extraction par macération et l'extraction par Soxhlet ..... | 49 |
| III.2 Activité antibactérienne des extraits .....   | 50 |
| III.3. Activité antioxydantes des extraits de la plante <i>C spinosa</i> L.....           | 53 |
| III.4. Les spectres FTIR de des extraits brut des deux méthodes d'extraction .....        | 55 |
| Conclusion générale .....   | 59 |

## Liste des Figures

|   |    |
|---|----|
| <b>Figure I. 1.</b> Morphologie de calicotome spinosa L .....   | 5  |
| <b>Figure I. 2.</b> Comparaison entre Calicotome spinosa and Calicotome villosa .....   | 6  |
| <b>Figure I. 3.</b> Structures chimiques des composés isolés (1–9). [21] .....  | 8  |
| <b>Figure I. 4.</b> Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène (EOR) par les systèmes de défenses antioxydants [29]. .....  | 12 |
| <b>Figure I. 5.</b> Structure de l'acide ascorbique. ....   | 13 |
| <b>Figure I. 6.</b> Structure de la vitamine E (Tocophérol) [37] .....  | 13 |
| <b>Figure I. 7.</b> La structure de la $\beta$ -carotène. ....  | 13 |
| <b>Figure I. 8.</b> (2R,4R)-4-(3-hydroxy-3-(6-methoxyquinolin-4-yl)propyl)-1-(2-((5-methylselenophen-2-yl)thio)ethyl)piperidine-3-carboxylic acide. ....  | 14 |
| <b>Figure I. 9.</b> Structure de base des flavonoïdes. ....   | 14 |
| <b>Figure I. 10.</b> La structure des coumarines. ....  | 15 |
| <b>Figure I. 11.</b> La structure des phénols. ....   | 15 |
| <b>Figure I. 12.</b> Structure d'une bactérie. ....   | 19 |
| <b>Figure I. 13.</b> Les Bactérieest Gram+ et en Gram. ....   | 20 |
| <b>Figure I. 14.</b> Modes d'action des antibiotiques. ....   | 22 |
| <b>Figure I. 15.</b> Bactérie Escherichia coli. ....  | 24 |
| <b>Figure I. 16.</b> Bactérie Klebsiella pneumoniae. ....   | 24 |
| <b>Figure I. 17.</b> Bactérie Pseudomonas aeruginosa .....  | 25 |
| <b>Figure II. 1.</b> Calicotome spinosa L .....   | 35 |
| <b>Figure II. 2.</b> Séchage de la plante. ....   | 36 |
| <b>Figure II. 3.</b> Macération des plante sèche .....  | 37 |
| <b>Figure II. 4.</b> extraction liquide-liquide .....   | 40 |
| <b>Figure II. 5.</b> Extraction par Soxlhet. ....   | 40 |
| <b>Figure II. 6.</b> La méthode de diffusion de disque. ....  | 41 |
| <b>Figure II. 7.</b> Préparation de milieu de culture. ....   | 42 |
| <b>Figure II. 8.</b> préparation des disques .....  | 43 |
| <b>Figure II. 9.</b> La lecture des résultats. ....   | 44 |
| <b>Figure II. 10.</b> le spectre FTIR. ....   | 45 |
| <b>Figure III. 1.</b> Les résultats donnés par les deux méthode s'indiquent que le rendement d'extraction en masse des métabolites secondaires le plus élevé a été obtenu en utilisant le montage Soxlhet. .... | 50 |
| <b>Figure III. 2.</b> Photo graphie montrant l'action des extraits de la plante sur les 4 souches bactériennes ....   | 51 |
| <b>Figure III. 3.</b> Valeurs des IC50 de DPPH pour les extraits de C. spinosa. ....  | 54 |

## Liste Des Tableaux

|   |    |
|---|----|
| <b>Tableau II. 1.</b> Listes de matières non biologiques utilisées pendant le travail expérimental.....   | 33 |
| <b>Tableau II. 2.</b> les souches bactériennes testés.....  | 36 |
| <b>Tableau III. 1.</b> Les teneurs en masse de différents solvant d'extraction .....  | 49 |
| <b>Tableau III. 2.</b> Activité antibactérienne des extraits : MeOH et le 2-Butanol (Calicotome spinosa L )<br>mesurée en mm. ....                  | 51 |
| <b>Tableau III. 3.</b> Activité antibactérienne des extraits : Acétate d'éthyle, MeOH et le 2-Butanol (Calicotome<br>spinosa L) mesurée en mm ..... | 52 |
| <b>Tableau III. 4.</b> Pourcentage d'inhibition du DPPH (%) par les extraits et les fractions de C. spinosa. ....                                   | 53 |

## **Abréviations et acronymes**

|                   |                                    |
|-------------------|------------------------------------|
| PH :              | potentiel hydrogène                |
| CC :              | Colonne Chromatographique          |
| CI50 :            | Concentration inhibant 50%         |
| CMI:              | Concentration minimale inhibitrice |
| CMB:              | Concentration minimale bactéricide |
| D/IC :            | Désorption / Ionisation chimique   |
| DPPH :            | 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl      |
| MeOH:             | Méthanol                           |
| % :               | Pourcentage                        |
| AcOEt :           | Acétate d'éthyle                   |
| 2-BuOH :          | 2-Butanol                          |
| CCM :             | Chromatographie sur couche mince   |
| H <sub>2</sub> O: | Eau                                |
| Hcl:              | Acide chlorhydrique                |
| mg :              | Milligramme                        |
| ml :              | Millilitre                         |
| mm :              | Millimètre                         |
| UV :              | Ultraviolet                        |

## Introduction générale

La nature dans tous ces alentours est prédominée par la couleur verte des plantes. Ces plantes ont toujours une attraction pour l'homme et les animaux. Depuis toujours, l'homme a appris l'utilisation des plantes dans sa vie quotidienne telles que les tisanes, les compresses à base d'herbes comme remède contre les maladies. La flore algérienne avec plus de 3000 espèces est à ce jour peu explorée, plus de 15 % de ces plantes sont endémiques [1].

Récemment, des solutions thérapeutiques alternatives basées sur l'exploitation des ressources naturelles ont fait l'objet de recherches approfondies. Pour tenter de trouver de nouveaux traitements naturelle, la communauté scientifique s'est récemment tournée vers les constituants des métabolite secondaire, car un nombre non négligeable de principes actif, tels que les flavonoïdes, les alcaloïdes et les polyphénols ont montré des activités pharmacologiques remarquables contre les maladies comme le cancer.

Les plantes médicinales constituent donc une source intéressante de nouveaux composés dans la recherche de molécules bioactives.

Comme leurs collègues de par le monde, les chercheurs algériens ont mis au point des programmes de recherche visant à étudier leur flore dans le but d'identifier et de séparer de nouvelles substances actives et d'œuvrer à l'exploration scientifique rationnelle de leur patrimoine.

*Calycotome spinosa* (L.) est une plante algérienne a fait l'objet d'une étude concernant les principes actif existent [2], ce qui nous a encouragé à entreprendre ce travail dont les principales parties sont :

L'étude photochimique de l'espèce *Calycotome spinosa* (L.) a été orientée vers : l'extraction, la séparation, et l'application biologique des différents extraits obtenues.

Le mémoire est construit de deux parties distinctes : la première partie est une récapitulation théorique base sur l'histoire des plantes médicinales suivi d'une étude bibliographique concernant la classification et la description botanique de l'espèce *Calycotome spinosa* (L.) et l'étude des métabolites secondaires les plus abondants de cette espèce avec l'intérêt thérapeutique de quelques composés. Dans le second chapitre des généralités sur activité l'antioxydant et activité antibactérienne ont été mentionné.

La deuxième partie est divisée en deux chapitres le premier est consacré aux matériels et méthodes mis en œuvre pour l'étude de la composition chimique de la plante, préparation des

extraits et l'évaluation de leurs activités biologiques, un test de l'activité antioxydant par la méthode du piégeage du radical libre DPPH• et l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion en milieu solide. Le second chapitre décrit les résultats obtenus et leurs discussions, et on termine par une conclusion générale avec des perspectives dont on souhaite continuer des recherches approfondies sur le potentiel biologique de cette plante.

# **Chapitre I**

## **Étude Bibliographique**

**Introduction**

Depuis des millénaires, toutes les civilisations du monde ont eu recours aux plantes médicinales pour prévenir et guérir les maladies. Encore de nos jours, elles entrent dans la composition de compléments alimentaires, de médicaments et de traitements les plus divers. Les plantes médicinales sont des végétaux supérieurs dont l'une de ses parties racines, feuilles, fleurs, graines, écorce ou tout autre organe peuvent être utilisés à des fins thérapeutiques. Ces propriétés thérapeutiques sont dues à la présence de composés naturel bioactifs appelés métabolites secondaires.

**I.1. Aspect basique**

L'inventaire réalisé par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), vers la fin des années 1970 a estimé que le nombre des espèces ayant des propriétés médicinales était de l'ordre de 21 000 espèces dans le monde.[3]En effet environ 65 à 80 % de la population mondiale à recours aux médecines traditionnelles pour satisfaire ses besoins en soins de santé primaire, en raison de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne.[3, 4]

Avec une superficie de 2 381741 km<sup>2</sup>, l'Algérie est le plus grand pays riverain de la Méditerranée. Il est reconnu par sa diversité variétale en plantes médicinales et aromatiques, ainsi que leurs diverses utilisations populaires dans l'ensemble des terroirs du pays. Ce sont des savoir-faire ancestraux transmis de génération en génération chez les populations, le plus souvent rurales. C'est un héritage familial oral, dominant en particulier chez les femmes âgées et illettrées.[5] La richesse de la flore algérienne est incontestable, avec environ 4300 espèces et sous-espèces de plantes vasculaires.[6]Elle recèle un grand nombre d'espèces classées en fonction de leur degré de rareté : 289 espèces assez rares, 647 espèces rares, 640 espèces très rares, 35 espèces rarissimes et 168 espèces endémiques. [7]

**I.2. Etude Botanique de la Calycotome spinosa****I.2.1. Définition de la famille des fabaceae**

Fabacées vient de « Faba » nom latin désignant la fève (*Vicia faba*) Légumineuses vient de « légume » nom latin qui désigne le fruit (ou gousse) nommé « légume ». C'est une des grandes familles de plantes à fleurs dans le monde après les Orchidées et les Astéracées. Les Fabacées sont présentes sur tous les continents, des climats froids aux climats chauds. Près de 18 000 espèces

réparties en 3 sous familles (les Papilionacées, les Césalpinées, les Mimosées) et plus de 750 genres. [8].

Elles se présentent sous toutes les formes végétatives, de la plus petite herbe aux très grands arbres des régions tropicales. Sur le plan économique, les Fabaceae sont la deuxième famille en importance après les Poaceae et constituent une source de protéines végétales indispensable pour l'alimentation humaine et animale.

### I.2.2. Le genre de Calicotome

Calicotome est un genre de plantes dicotylédones de la famille des Fabaceae, sous famille des Faboideae, originaire du bassin méditerranéen, qui comprend cinq espèces acceptées, contient un certain nombre de cinq espèces [9] qui sont pour la plupart répandue dans la région méditerranéenne, en particulier dans le nord de l'Afrique et Espagne [10]; comme *C. spinosa* (L.) Link, *C. infesta* (C. Presl) Guss., et *C. villosa* (Poir.).

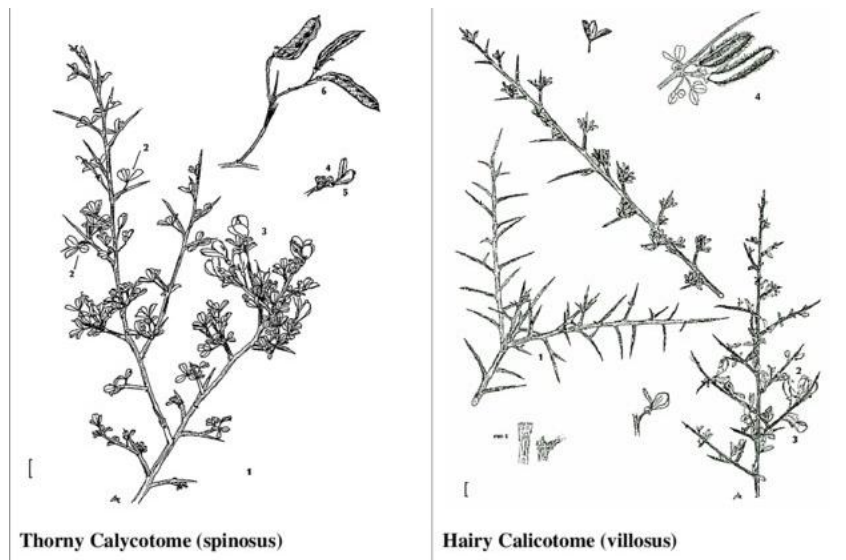
### I.2.3. Description botanique

*Calicotome spinosa* est un arbuste épineux à nombreuses branches qui pousse jusqu'à 3 mètres de haut. Les feuilles sont vert foncé à vert grisâtre, les fleurs sont jaune vif et les épines peuvent mesurer jusqu'à 7,5 cm de long. Les gousses mesurent de 2,5 à 4 cm de long et sont grises, noires ou rougeâtres brun avec deux crêtes sur un bord. Les graines sont lisses, brillantes et brun jaunâtre, environ 3,5 mm de long et 2 mm de large (voir figure 1). [11]



*Figure I. 1. Morphologie de calicotome spinosa L*

Nous notons que cette espèce se rattache beaucoup à la deuxième et la seule plante du même genre dite : Calycotome villosa (voir figure I.2).[12]



*Figure I. 2. Comparison entre Calicotome spinosa and Calicotome villosa*

#### I.2.4. Nomenclature

Cette espèce possède plusieurs noms, citant :[13]

**Nom scientifique** : Cytisus spinosus.

**Nom latin** : Calycotome spinosa Link.

**Nom des anglophones** : Spiny broom, Thorny broom

**Nom commun (français)** : Calycotome épineux.

**Nom vernaculaire** : Genêt.

**Nom arabe** : Guendoul.

## I.2.5. Taxonomie de la plante étudiée

|                           |                     |
|---------------------------|---------------------|
| <b>Embranchement</b>      | <b>Spermaphytes</b> |
| <b>Sous Embranchement</b> | Angiospermes        |
| <b>Règne</b>              | Plantae             |
| <b>Sous règne</b>         | Tracheobionta       |
| <b>Division</b>           | Magnoliophyta       |
| <b>Classe</b>             | Magnoliopsida       |
| <b>Sous –classe</b>       | Rosidae             |
| <b>Ordre</b>              | Fabales             |
| <b>Famille</b>            | Fabaceae            |
| <b>Genre</b>              | Calicotome          |
| <b>Espèce</b>             | Calicotome spinosa  |

## I.2.6. Propriété et usage

*I.2.6.1. C. spinosa et environnement*

Calicotome est une plante mellifère, elle permet aux abeilles de produire du miel. Possède des feuilles et des fruits astringents, dont le pouvoir est de resserrer et d'assécher les tissus, ce qui permet de faciliter leur cicatrisation, mais, à part son pouvoir antimicrobien, c'est une plante ornementale. Ubiquiste elle contribue à la revégétalisation des sites désertiques et à l'amélioration de la fertilisation des sols, grâce à l'établissement d'une symbiose avec des bactéries fixatrices d'azote atmosphérique.[14]

*I.2.6.2. C. spinosa et usage thérapeutique*

Les parties aériennes de ce genre, Calicotome, sont traditionnellement utilisés comme agent anti tumorales et efficace pour le traitement de furoncle, abcès cutané et engelure en Sicile. [15] De plus, la particularité de *C. spinosa* est que son feuillage est très riche en protéines brutes (33,7% de matière sèche), faisant de cette légumineuse un excellent complément protéique pour fourrage de mauvaise qualité et produits fibreux de sous-bois. Malheureusement, cette espèce est également excessivement riche en phénols et en tanins totaux. [16] De même, les fleurs l'infusion de cette plante est utilisée par le peuple palestinien pour la guérison des troubles cardiovasculaires et du système nerveux.[17].

I.2.6.3. *C. spinosa* et Phytochimie

Plusieurs études sur colycotome spinsa algérienne, confirment la richesse de cette plante en antioxydants. Les investigations phytochimiques ultérieures, ont permis l'isolement et l'identification de divers métabolites secondaires constitués essentiellement des flavonoïdes, polyphénols et des tanins.[18] On outre les études réalisées par Valenti, Donatella, et al, on permet l'identification des Disaccharide et des alcaloïdes qui se produisent avec une grande diversité structurale. [19] D'autres recherche ont porté sur les flavonoïdes et leurs activités biologiques. En effet la figure 6 représente certains composés isolés à partir de *C. spinosa* algérienne marocaine.

[20]

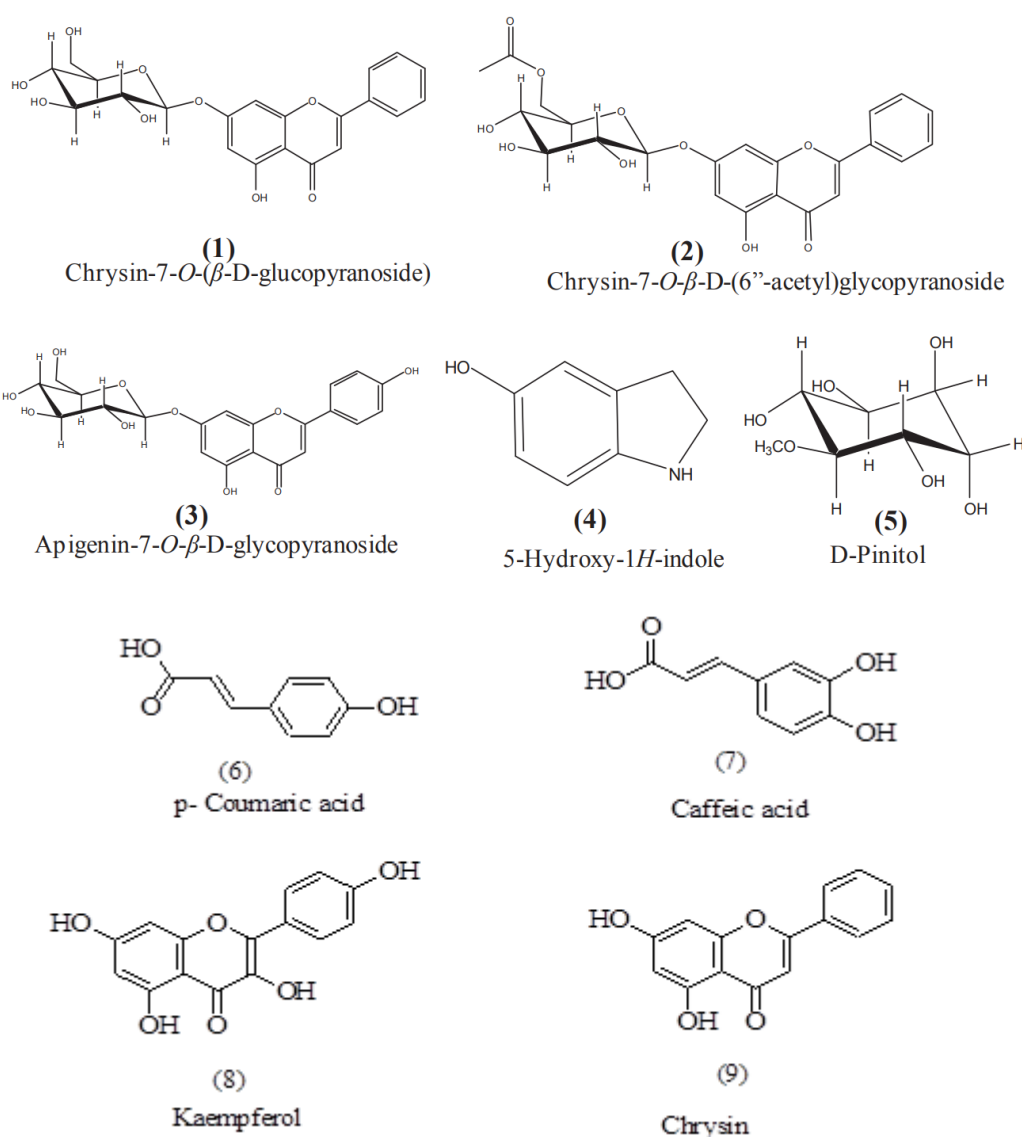


Figure I. 3. Structures chimiques des composés isolés (1–9).[21]

### I.3. Métabolites secondaires

#### I.3.1. Les métabolites secondaires chez les composées

On estime actuellement à peu près un million de métabolites secondaires connus aujourd'hui. Beaucoup de ces biomolécules végétales ont une grande importance économique que ce soient les médicaments, les arômes, les insecticides et les colorants. Ces métabolites peuvent être classés en quatre grandes catégories. [22]

#### I.3.2. Les composées phénoliques

Le principal mode de la formation du noyau aromatique emprunte l'acide shikimique, parmi les composés aromatiques les plus importants, les esters, les coumarines, les lignanes (composés en C6-C3), les flavonoïdes (composés en C6-C3- C6) et les tanins. [22]

#### I.3.3. Les terpènes

Ce sont des hydrocarbures d'une structure basée sur le précurseur isoprène (2-méthyl-but-1-3-diène), selon le nombre d'unité iso préniqque qui les constituent on distingue les monoterpènes en C10, les sesquiterpènes en C15, les diterpènes en C20, les tri terpènes en C30, les tetra terpènes (C40) et les poly terpènes (C4000). [23]

#### I.3.4. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances organiques azotées généralement cycliques où l'azote est assez souvent incorporé dans un noyau hétérocyclique. Généralement les alcaloïdes ont des propriétés très basiques, la plupart, ainsi comme leur nom l'indique ont une réaction alcaline, on peut les subdiviser en trois classes, alcaloïdes vrais, protoalcaloïdes et pseudo alcaloïdes. [23]

*Alcaloïdes vrais*: ils se caractérisent par une importante cytotoxicité, expose une vaste activité physiologique, la plupart sont des bases stables, elle comporte un ou plusieurs atomes d'azotes dans le cycle.

*Protoalcaloïdes*: ce sont des amines simples comme les acides aminés et d'autre alcaloïdes comme Mescaline, Ephédrine.

*Pseudoalcaloïdes*: regroupe les composés azotés, non dérivés des acides aminés; l'incorporation de l'azote dans la structure se fait en phase finale; comme la Caféine. [23]

### I.3.5. Les hétérosides :

Résultent de la combinaison avec élimination d'eau du groupe réducteur d'un ose avec une substance non glucidique l'aglycone ou génine, suivant la nature de la génine, on subdivise les hétérosides en hétérosides à génine phénoliques, hétérosides à génine triterpéniques et hétérosides à génine provenant d'acide aminé. La famille des composées est très répandue, elle est connue pour sa richesse en métabolites secondaires qui sont distribués dans les différentes tribus. [23]

## I.4. Activité biologique

### I.4.1. Stress oxydatif

Le stress oxydatif est causé par un déséquilibre dans l'équilibre entre la production de radicaux libres (pro-oxydants) et la capacité de l'organisme à les neutraliser afin de réparer les dommages oxydants et contrôler leur formation. Ce déséquilibre entraîne des dommages oxydatifs Différents composants cellulaires, protéines, lipides et acides nucléiques, entraînant la mort Les cellules subissent une apoptose ou une nécrose [22]

#### *I.4.2.1. Les radicaux libres*

Nous appelons un radical libre toute espèce, molécule ou atome instable qui a au moins un électron dans son enveloppe externe. Il se forme au cours du processus de rupture de liaison covalente basé sur le transfert d'un seul électron ou la rupture homolytique. Cet électron donne au radical une certaine réactivité par rapport à d'autres molécules pour capturer un autre électron.

c'est un radical oxydant, ou l'abandonner ; alors c'est un radical réducteur. Ces espèces de radicaux libres sont constamment produites dans notre organisme, dans le cadre de nombreux phénomènes biologiques [23].

Il existe deux types de radicaux libres :

#### *I.4.2.1. Les radicaux libres primaires*

Les radicaux libres primaires constituent un groupe limité de composés radicalaires qui jouent des rôles physiologiques importants dans l'homéostasie cellulaire, notamment dans l'activité de certaines enzymes intracellulaires [24]. Radicaux libres générés par les espèces oxygénées (EOR), tels que :

- le radical super oxyde  $O_2^{\bullet-}$
- le radical hydroxyle  $OH^{\bullet}$

- le radical pyroxyde **ROO•**

On distingue aussi les espèces réactives d'azote (ERA) comme le monoxyde d'azote NO•. Il existe aussi d'autres espèces oxygénées qui ne sont pas des radicaux, mais sont actives comme l'oxygène singulet ( $^1O_2$ ), le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) et le nitroperoxyde (ONOOH) du fait qu'ils sont des précurseurs puissants de radicaux libres.

#### ***I.4.2.2. Les radicaux libres secondaires***

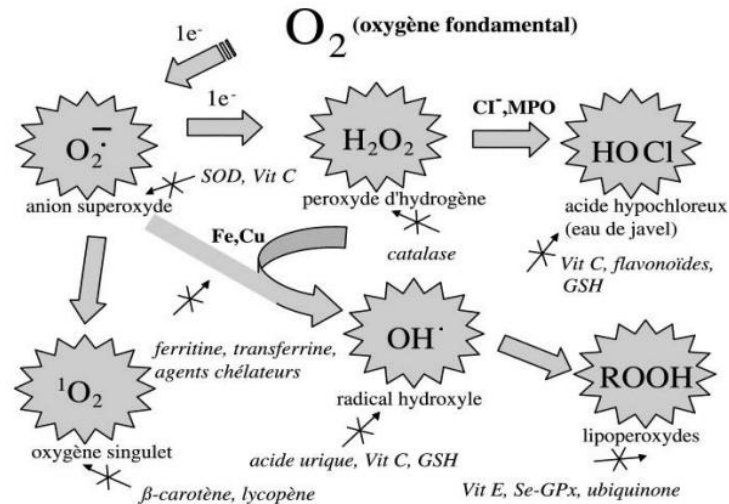
Les radicaux libres dits secondaires sont formés par la réaction de radicaux libres primaires avec des composés biochimiques cellulaires tels que les protéines, les acides gras insaturés, les lipides et l'ADN [4]. L'équilibre entre les effets positifs et négatifs de l'EOR est extrêmement sensible. La production d'EOR est strictement réglementée par notre organisation qui a développé des défenses moyennes, protection antioxydante contre les effets néfastes de l'EOR.

#### **I.4.3. Définition d'un antioxydant**

Selon HALLIWELL, le terme antioxydant regroupe toutes les substances qui, à de faibles concentrations par rapport aux substrats oxydables, sont capables de retarder, de prévenir, de neutraliser ou de réduire les dommages oxydatifs causés par les radicaux libres dans l'organisme et de lui permettre de maintenir des niveaux cellulaires non cytotoxiques. Concentrations d'ERE [26].

Les antioxydants éliminent les radicaux libres en inhibant les réactions dans les cellules provoquées par les molécules d'oxygène et les molécules de peroxyde, également appelées oxygène radicalaire (EOR) [27].

Les antioxydants sont largement présents dans nos aliments, soit sous forme naturelle, soit sous forme d'additifs utilisés dans l'industrie agroalimentaire [28].



**Figure I. 4.** Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène (EOR) par les systèmes de défenses antioxydants [29].

#### I.4.4. Classification des antioxydants

On peut classer les antioxydants selon leur source en deux types :

##### I.4.4.1. Antioxydants endogènes

Les antioxydants endogènes sont des enzymes ou des protéines antioxydantes (SOD, catalase et glutathion peroxydase) que notre corps produit à l'aide de certains minéraux. Ils sont présents en permanence dans l'organisme, mais leur nombre diminue avec l'âge [30].

##### I.4.4.2. Antioxydants exogènes

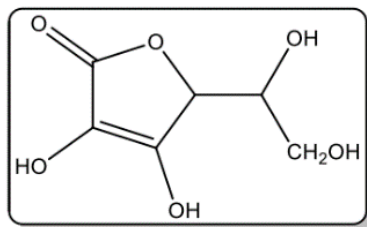
Toutes ces défenses peuvent être renforcées par des apports exogènes en :

**Médicament** Ils constituent une source importante d'antioxydants. Actuellement, les classes thérapeutiques comme les anti-inflammatoires non stéroïdiens, les antihypertenseurs ont été évalués pour leurs propriétés antioxydants.

##### Antioxydants naturelles

- la vitamine C (**acide ascorbique**)

C'est une vitamine hydrosoluble et un antioxydant naturel que l'on trouve principalement dans les légumes et les fruits. Son pouvoir antioxydant se traduit par sa protection des protéines et il participe à la régénération de la vitamine E. La vitamine C capte principalement les ROS directement dans le cytoplasme [31-34].

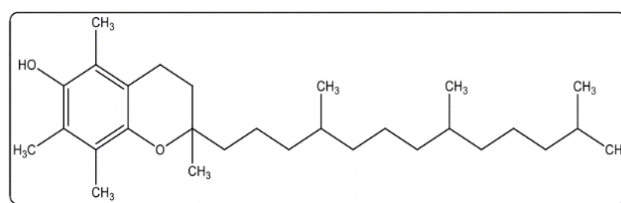


**Figure I. 5.** Structure de l'acide ascorbique.

- la vitamine E ou tocophérol :

Empêche la peroxydation des lipides membranaires *in vivo* en éliminant les radicaux peroxydes. On le trouve dans les huiles végétales (huiles d'arachide, de soja, de chardon, de tournesol et d'olive pressée à froid), ainsi que dans les noix, les amandes, les graines, le lait, les œufs et les légumes à feuilles vertes . [35]

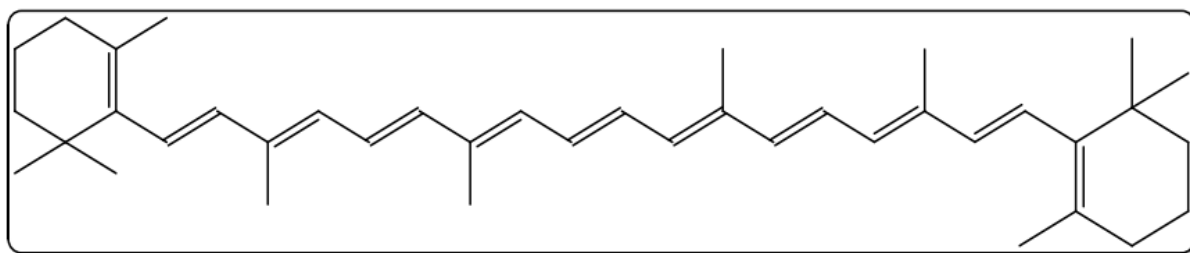
Le développement du cancer et antivieillessement [36].



**Figure I. 6.** Structure de la vitamine E (Tocophérol) [37]

- Les caroténoïdes :

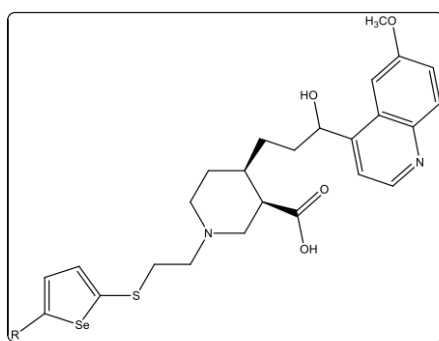
Ce sont des antioxydants naturels liposolubles, de couleur jaune, orange ou rouge, et leur structure de base est le carotène C<sub>40</sub>H<sub>56</sub> composé de 8 unités isoprène. Leur mécanisme d'action est de piéger et d'inhiber la peroxydation lipidique [38]



**Figure I. 7.** La structure de la  $\beta$ -carotène..

- **Le sélénium :**

Le sélénium joue un rôle clé dans la protection des cellules et de leurs composants contre les attaques des radicaux libres. Cette fonction est due à sa présence sur le site actif de la glutathion peroxydase dépendante du sélénium, ainsi qu'à son activité biologique anti-radicalaire Scléroprotéines [39]

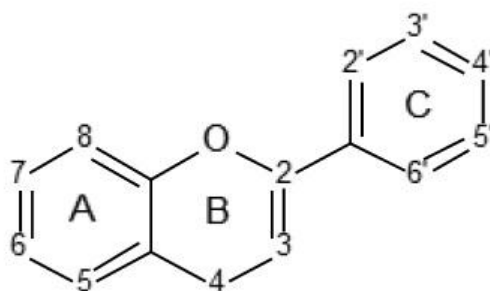


**Figure I. 8.** (2R,4R)-4-(3-hydroxy-3-(6-methoxyquinolin-4-yl)propyl)-1-(2-((5-methylselenophen-2-yl)thio)ethyl)piperidine-3-carboxylic acide..

### Les Flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent une classe de métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. [40]

Flavonoïde, est un terme générique pour des composés basés sur un squelette à 15 atomes de carbone qui fait de deux cycles phényles C<sub>6</sub>, les cycles A et B, connectés par un pont à trois carbones (structure en C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>). Ce dernier est situé entre les cycles A et B est communément cyclisé pour former le cycle C (cycle centrale). Les atomes de carbone dans les cycles C et A sont numérotés de 2 à 8, et dans le cycle B de 2' à 6' (Figure ci-dessous) [40]

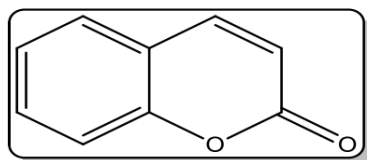


**Figure I. 9.** Structure de base des flavonoïdes.

Dans la nature, les flavonoïdes sont généralement glycosylés, ces sucres ainsi que les groupes hydroxyles augmentent leur solubilité dans l'eau, d'autres substitutions telles que les méthyles et l'isopentyls, rendent les flavonoïdes lipophiles. [40]

- **Les coumarines :**

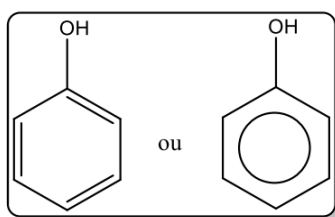
Ils sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, super oxydes et peroxydes.



*Figure I. 10. La structure des coumarines.*

- **Les phénols**

Ces substances sont largement utilisées dans la médecine traditionnelle et moderne pour leur activité antioxydante, et compte tenu de leurs propriétés redox élevées, les polyphénols agissent comme des agents réducteurs, fournissant de l'hydrogène en piégeant les radicaux libres, ions libres et chélates [38].

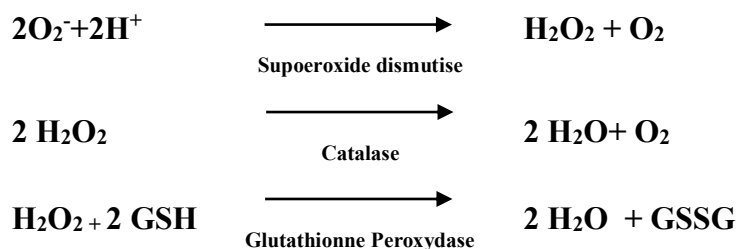


*Figure I. 11. La structure des phénols.*

#### ***1.4.5.1. Antioxydants primaires***

La cellule est pourvue d'enzymes antioxydantes qui sont des systèmes de défense très efficaces puisque les enzymes ont la propriété de pouvoir réaliser un travail de façon permanente. Cette ligne de défense est constituée de superoxyde dismutase (SOD), de catalase et de peroxydase (glutathion et ascorbate) [41]

Ces enzymes antioxydantes permettent l'élimination des radicaux libres primaires, selon les réactions suivantes :



De ce fait elles préviennent notamment la formation de radicaux libres organiques à partir des lipides membranaires et contribuent donc à la protection des membranes de la peroxydation lipidique [42].

#### ***1.4.5.2. Les antioxydants secondaires***

Ce sont des molécules exogènes. Contrairement aux enzymes antioxydantes, une molécule d'antioxydant piège un seul radical libre. Pour pouvoir fonctionner à nouveau, cette molécule d'antioxydant doit donc être régénérée par d'autres systèmes [43].

Plusieurs substances peuvent agir en tant qu'antioxydants in vivo ont été proposés. Elles incluent : la vitamine E, l'acide ascorbique, le  $\beta$ -carotène, les composés phénoliques, ... etc. Elles peuvent stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité et elles ont également une capacité de lier les acides gras libres [43].

Grâce à la mobilité de l'hydrogène phénolique, les composés phénoliques sont capables de piéger les radicaux libres oxygènes en particulier les radicaux peroxydes (ROO<sup>-</sup>), alkoxydes (RO<sup>-</sup>), superoxydes (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) et les hydroxydes (OH<sup>-</sup>) [44]

#### **1.4.6. Techniques d'évaluation de la capacité antioxydant**

Il existe de nombreuses méthodes pour évaluer l'activité antioxydante, in vitro et in vivo. Elles peuvent être classées en deux groupes selon deux mécanismes : soit par le transfert d'atome d'hydrogène, soit par le transfert d'un simple électron. Les techniques du premier groupe sont employées pour évaluer la peroxydation lipidique en utilisant un substrat lipidique ou lipoprotéique. La quantification de cette propriété est exprimée par la mesure du degré d'inhibition de l'oxydation. Alors, les méthodes du deuxième groupe sont celles qui interviennent dans la mesure de la capacité du piégeage des radicaux libres. Elles comportent le balayage du peroxyde

d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), de l'acide hypochloreux ( $HOCl$ ), de l'hydroxyle ( $\bullet OH$ ), des anions superoxyde ( $O\bullet_2$ ), du peroxyde ( $ROO\bullet$ ) et de l'oxyde nitrique ( $NO\bullet$ ) Parmi ces techniques, on cite :

- la méthode d'ORAC (Capacité d'absorbance du radical de l'oxygène)
- La méthode d'ABTS (2,2-azinobis-(3-éthyle-benzothiazoline-6-sulphonate) ou TEAC (Capacité antioxydant équivalente de Trolox).
- La méthode FRAP (Capacités réductrices ferriques d'antioxydants) ;
- la méthode du radical DPPH (2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl).
- La méthode de DMPD (Balayage du radical cation N, N. dimethylp\_phenylenediamine)
- la méthode TOSC (Capacité du piégeage des oxy-radicaux totaux)
- La méthode TRAP (Paramètre du piégeage du radical total)
- La méthode photo chimiluminescence (PCL) et La méthode d'hémolyse

**I.5. Activité antibactérienne**

L'utilisation des antibiotiques a eu un impact énorme sur la santé publique en permettant de traiter efficacement des maladies telles que la pneumonie, la méningite, les infections des voies urinaires, les infections cutanées et bien d'autres. Les antibiotiques sont également essentiels dans les procédures chirurgicales, car ils aident à prévenir les infections post opératoires.

**I.5.1. Historique**

L'anti bactérienne stone avancée majeure dans le domaine médical, offrant des moyen sefficaces de lutte contre les infections bactériennes. Les antibiotiques ont révolutionne la médecine modern en permettant de traiter avec succès un large éventail de maladies infectieuses, réduisant ainsi considérablement la morbidité et la mortalité associées à ces infections.

Les premiers antibiotiques ont été découverts au début du XXe siècle, avec des contributions significatives de chercheurs tels qu' Alexander Fleming, qui a découvert la pénicilline en 1928. Depuis lors, de nombreux autres antibiotiques ont été développés, ci bêlant différents types de bactéries et présent antdifférentes propriétés pharmacologiques.[45]

**I.5.2. Définition**

Une bactérie est un microorganisme unicellulaire, procaryote et souvent de petite taille, appartenant au règne des bactéries. Elles sont présentes dans de nombreux environnements, y compris le sol, l'eau, l'air, et même à l'intérieur du corps humain. Les bactérie sont une structure cellulaire simple, dépourvue de noyau et d'organites membranaires.

Elles se reproduisent généralement par division cellulaire binaire, ce qui leur permet de se multiplier rapidement. Certaines bactéries peuvent être bénéfiques, par exemple en aidant à la digestion Ouen produisant des vitamines, tandis que d'autres peuvent causer des maladies chez les humains, les animaux et les plantes.[46]

**I.5.3. Nomenclature bactérienne**

Elle prend un nom binominal où la première partie désigne le sexe de la bactérie, tandis que la deuxième partie c'est le genre de la bactérie

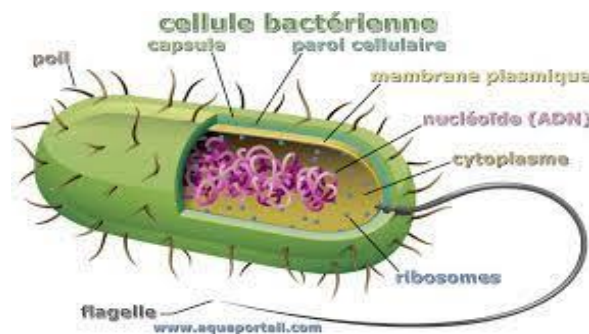
- La première partie du nom peut s'agir de la forme de la bactérie telle que (Staphylococcus sp) ou du nom de leur découvreur comme Escherichia coli, ce nom prend une majuscule à la première lettre.

- La deuxième partie du nom peut s'agir de la maladie comme la *Vibriocolirae* ou de la couleur *Staphylococcus aureus*, cette partie s'écrit en minuscule.

L'ensemble du nom est écrit en italiques (Exemple. : *Escherichia coli*)[47].

#### I.5.4. Structure des bactéries

Une bactérie est un être unicellulaire (procaryote) de petite taille, de morphologie variable qui présente des caractéristiques propres. La taille d'une bactérie varie entre 1 à 10  $\mu\text{m}$ . Le poids d'une bactérie est d'environ 10-12 g. Elle contient 70% d'eau. Rapporté au poids sec, une bactérie est constituée de protéines (55%), de lipides (10%), de lipopolysaccharides (3%), de peptidoglycane (3%), de ribosomes (40%), d'ARN (20%) et d'ADN (3%).



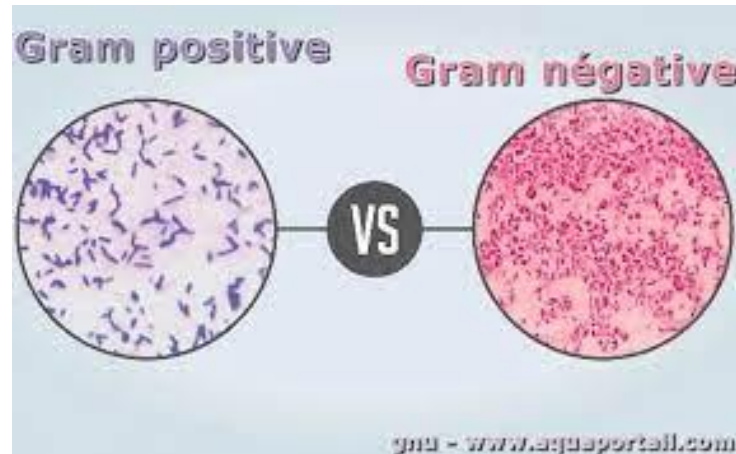
**Figure I. 12.** Structure d'une bactérie.

Généralement, une bactérie est composée de:

1. Membrane plasmique: Une fine couche lipidique qui entoure la cellule bactérienne et contrôle les échanges avec l'environnement.
2. Paroi cellulaire : Une couche rigide située à l'extérieur de la membrane plasmique, responsable de la forme et de la protection de la bactérie. La composition de la paroi cellulaire varie selon les types de bactéries, notamment entre les bactéries à Gram positif et les bactéries à Gram négatif.
3. Cytoplasme : Un espace à l'intérieur de la cellule bactérienne qui contient diverses structures cellulaires et organites, tels que les ribosomes, l'ADN, les protéines et les métabolites.
4. ADN bactérien :L'information génétique est stockée sous forme d'ADN dans le cytoplasme. Contrairement aux cellules eucaryotes, l'AND bactérien n'est pas entouré d'une membrane nucléaire.
5. Ribosomes : Des complexes moléculaires responsables de la synthèse des protéines dans la cellule bactérienne.

6. Flagelle : Certains types de bactéries sont dotés de flagelles, des appendices en forme de fouet qui leur permettent de se déplacer.

7. Pili : Des structures filamenteuses plus courtes que les flagelles, qui aident les bactéries à s'attacher à des surfaces ou à d'autres cellules. [48]



*Figure I. 13. Les Bactérie est Gram+ et en Gram..*

### I.5.5. Classifications des bactéries

Les scientifiques ont classé les bactéries selon plusieurs critères :

#### Selon les flagelles

- Un seul flagelle
- Multi flagelles
- Situé sur l'un des pôles de la cellule.
- Distribué sur la surface de la cellule [49].

#### Selon la forme

- Bactéries en forme Sphérique : les cocci, tel la : Staphylococcus aureus
- Bactéries en forme Bâtonnet : les bacilles, tel la : Bacillus cereus
- Bactéries en forme Spiral : tel la: Syphilis
- Bactéries en forme Vibrio : tel la: vibriocholirae[50].

#### Selon le type de Respiration :

- Aérobie.
- Anaérobie.
- Mixte [51].

## Selon les besoins nutritionnels

- Les bactéries auto-alimentaires
- ceux sont qui produise leur nourriture à partir de ses sources primaires[52].

## Les bactéries non auto-alimentaires

- Ils sont les bactéries qui obtiennent leurs nourritures de l'anatomie de la substance organique.

## Selon la coloration

Les bactéries peuvent être groupées en 2 catégories selon la méthode de coloration de Gram. Cette technique a été mise au point en 1884 par Hans Christian Gram, un bactériologiste danois. Après coloration, les bactéries **Gram+** devein envoi lettres alors que les bactéries **Gram-** apparaissent en rose. La répartition des bactéries en Gram+ ou Gram- est un critère systématique important pour la classification des bactéries. En autre, la coloration de Gram reste une étape essentielle dans l'analyse médicale pour la détermination des pathogènes. Elle permet de visualiser facilement les bactéries et de donner des indications sur leurs formes et leurs tailles[53-54].

## I.6. Les antibiotiques

### I.6.1. Définition

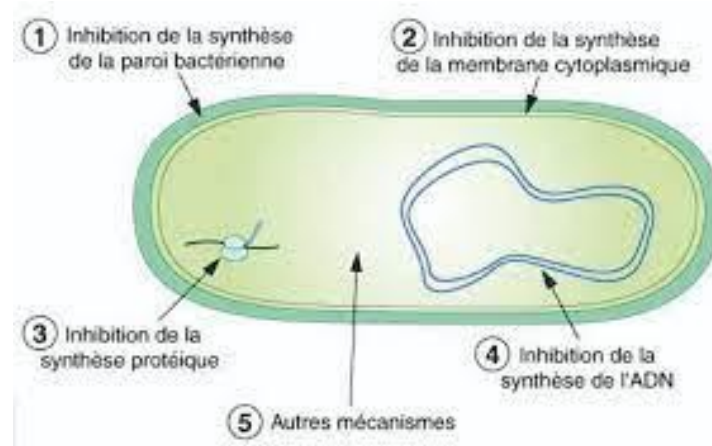
On appelle « Antibiotique » toute substance naturelle d'origine biologique élaborée par un organisme vivant, substance chimique produite par synthèse ou substance semi synthétique obtenue par modification chimique d'une molécule de base naturelle ayant les propriétés suivantes:

- Activité antibactérienne
- Activités milieu organique
- Une bonne absorption et bonne diffusion dans l'organisme Les antibiotique sont la propriété d'interférer directement avec la prolifération des micro-organismes à des concentrations tolérées par l'hôte.

Lorsque la substance est utilisée de manière externe pour tuer la bactérie par contact, on ne parle pas d'antibiotique mais d'antiseptique. S'il s'agit non pas d'une substance mais d'un virus, on parle de bactériophage. Un antibiotique peut être à la fois bactéricide et bactériostatique, tout dépendant de sa dose. Un grand nombre des antibiotiques existants sont constitués de molécules naturelles, fabriquées par des micro-organismes : des champignons ou d'autres bactéries[55].

Critères de Classification La classification des antibiotiques peut se faire selon :

- Origine :élaboré par un organisme (naturel) ou produit par synthèse (synthétique ou semi synthétique)
  - Mode d'action :paroi, membrane cytoplasmique, synthèse des protéines, synthèse des acides nucléiques
  - Spectre d'activité :liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs (spectreétroitou large)
- 3.4 Nature chimique : très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (ex : cycle  $\beta$  lactame) sur laquelle il y a héli synthèse. La classification selon la nature chimique nous permet de classer les antibiotiques en familles ( $\beta$  lactamines, aminosides, tétracyclines.....etc.) Nous adopterons la classification selon le mode d'action.



*Figure I. 14. Modes d'action des antibiotiques..*

### I.6.2.La résistance bactérienne aux antibiotiques

L'émergence de la résistance bactérienne aux antibiotiques a été observée après l'introduction de nouveaux antibiotiques, utilisation massive est abusive. Elle se produit lorsqu'un antibiotique perd sa capacité à inhiber efficacement la croissance bactérienne. Autrement dit, les bactéries continuent de se multiplier en présence de concentrations thérapeutiques d'antibiotiques [56].

A ce moment où les microbes deviennent moins sensibles ou résistants, il faut une concentration supérieure à la concentration normale du même médicament pour avoir un effet, condition pas toujours possible in vivo. Il existe deux types de résistance bactérienne pour les antibiotiques [57]

### I.6.3. Une résistance naturelle ou intrinsèque

C'est un trait d'espèce qui affecte et ou tes les bactéries de l'espèce considérée, il est stable et peut être transmis à la descendance (son support génétique est le chromosome bactérien), mais il ne peut pas ou ne peut être transmis qu'en mode horizontal (à partir d'une bactérie à une autre une bactérie) de la même espèce ou entre espèces différentes[58].

Les espèces de *Klebsiella* produisent naturellement de la pénicillinase. Cette enzyme réside alors dans l'espace péri plasmique de la bactérie et provoque la destruction d'antibiotiques tels que la pénicilline A avant qu'ils n'atteignent leur cible bactérienne, la protéine de liaison à la pénicilline (PLP). Les anaérobies sont naturellement résistants aux aminoglycosides car les aminoglycosides nécessitent un système de transport actif pour traverser la membrane plasmique, qui est absent chez les anaérobies.

### I.6.4. Une résistance acquise

Cette résistance ne concerne qu'un petit nombre de souches, appartenant à la même espèce ou au même genre, généralement sensible à un antibiotique donné. Ceci est dû à une modification génétique chromosomique ou extra chromosomique : mutation de gènes existants (gènes codant pour des cibles antibiotiques ; gènes glaneurs) ou incorporation de nouveaux gènes codant pour des mécanismes de résistance[59].

### I.6.5. Caractéristiques des souches utilisées

#### *I.6.5.1. Les bactéries à Gram négatif*

Les bactéries à gram négatif apparaissent alors roses au microscope. La technique de coloration repose sur les caractéristiques membranaires et de la paroi de la bactérie néanmoins, il ne s'agit pas d'un facteur de classement phylogénétique : en effet les groupes « gram + et gram – » sont tous les deux non monophylétiques [60].

#### *Escherichia coli*

Isolée par Escherichia en 1885, c'est l'espèce type du genre *Escherichia* qui appartient à la famille des Enterobacteriaceae. C'est un Bacille à Gram négatif, assez grand ( $1-1.5 \times 2-6 \mu\text{m}$ ), aéro.anaérobie facultatif, oxydase négatif, nitrate positif et qui fermente le glucose. C'est une Colibacille entérobactère mobile capable de fermenter le lactose et de produire de l'indole[61].



*Figure I. 15. Bactérie Escherichia coli.*

### *Klebsiella pneumoniae*

*Klebsiella pneumoniae*, anciennement connue sous le nomade *Friedlander pneumoniae*, est le membre le plus commun du genre *Klebsiella* et est une bactérie immobilisée et pré-encapsulée. C'est une bactérie symbiotique présente dans le tractus intestinal, les voies respiratoires et les animaux. Chez l'homme, il est l'agent causal de maladies pulmonaire saiguës, d'angor, d'otite moyenne, de cystite et de néphropathie[61].



*Figure I. 16. Bactérie Klebsiella pneumoniae.*

### *Pseudomonasaeruginosa*

Ce sont des bacilles à Gram négatif, de forme non sporulée, elles sont aérobies, mobiles grâce à la présence de 1 à 2 flagelles (habituellement polaires et non gainés). Ce type de bactéries synthétise deux types principaux de pigments: le pyocyanine (bleue phénazine) et le pyoverdine (jaune vert). Il s'agit de bactéries résistantes pour plusieurs antibiotiques. Elle peut être impliquée dans des infections communautaires et c'est l'une des bactéries les plus fréquemment isolées lors d'infections nosocomiales [62].



*Figure I. 17. Bactérie Pseudomonas aeruginosa*

### **I.6.6. Techniques d'évaluation de l'activité antimicrobienne**

L'activité antimicrobienne des produits contre les souches bactériennes consiste à les exposer au contact tout en observant les effets sur le développement et la survie des cultures bactériennes. Pour cette étude, plusieurs techniques ont été démontrées en milieu liquide et solide

#### ***I.6.6.1. Méthode de diffusion en milieu liquide***

Cette méthode consiste à mettre un inoculum bactérien standardisé au contact de concentrations croissantes d'antibiotiques selon une progression géométrique de raison de 2 (0.5, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 16 U $\mu$ /ml après 18 à 24 h d'inhibition à 37°C, la CMI correspond à la concentration à laquelle l'inhibition de la croissance bactérienne est visible à l'oeil nu (absence de turbidité dans la tube) [63].

Les méthodes de dilution en milieu liquide sont réalisées dans des tubes (macro-méthode) ou dans des plaques de micro titration (micro-méthode). Les micro-méthodes sont plus adaptées à la pratique de l'antibiogramme, grâce à une automatisation possible de la préparation des dilutions d'antibiotiques et de la lecture des CMI.

#### ***I.6.6.2. Méthode de diffusion en milieu solide***

La méthode de diffusion est l'une des plus vieilles approches de détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques et demeure l'une des méthodes les plus utilisées en routine. Dans un premier temps, il fautensemencer les géloses MH selon les recommandations en vigueur, à l'aide d'un écouvillon avec un inoculum bactérien de 0.5 Mc $\mu$  Farland (McF), ensuite, on dépose les disques imprégnés d'une concentration de 10  $\mu$ g en linézolide sur les géloses. L'antibiotique présent dans le disque diffuse dans la gélose et

inhibe la croissance bactérienne, après une incubation de 24h à 37°C on peut lire les diamètres des zones d'inhibitions. Le diamètre d'inhibition autour de disque est d'autant plus grand que la bactérieensemencée est sensible à l'antibiotique testé [64].

## Références bibliographiques

1. P, Quezel ; S. Santa, Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques et méridionales, 1963, Tome II, CNRS,PARIS.
2. Larit, F., Benyahia, S., Benayache, S., Benayache, F., Léon, F., Brouard, I., & Bermijo, J. (2012). Flavonoïds from *Calycotome spinosa* (L.). Lamk. *Int J Med Arom Plants*, 2(1), 34-37.
3. Penso, Giuseppe. "The role of WHO in the selection and characterization of medicinal plants (vegetable drugs)." *Journal of ethnopharmacology* 2.2 (1980): 183-188.
4. Gupta, Neeru, et al. "Human glaucoma and neural degeneration in intracranial optic nerve, lateral geniculate nucleus, and visual cortex." *British Journal of Ophthalmology* 90.6 (2006): 674-678.
5. Leung, Cynthia C., et al. "Accuracy and reliability of cone-beam computed tomography for measuring alveolar bone height and detecting bony dehiscences and fenestrations." *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics* 137.4 (2010): S109-S119.
6. Laigle, Clotilde, et al. "The COSMOS2015 Catalog: Exploring the  $1 < z < 6$  Universe with half a million galaxies." *The Astrophysical Journal Supplement Series* 224.2 (2016): 24.
7. Hamel, Tarek. "Première observation d'une xénophyte *Oenothera rosea* L'Hér. ex Aiton.(Onagraceae) en Afrique du Nord." (2016).
8. Mogues, Tewodaj, et al. "The impacts of public investment in and for agriculture. Synthesis of the existing evidence." (2012).
9. Mallory, James P., and Douglas Q. Adams. "Corded ware culture." *Encyclopedia of Indo-European Culture* (1997): 127-128.
10. Minissale, Pietro, et al. "*Bituminaria basaltica* (Fabaceae), a new species from Italy." *Phytotaxa* 98.1 (2013): 1-15
11. Greuter, Werner, Hervé Maurice Burdet, and Gilbert Long. Med-checklist. Secretariat Med-Checklist, Botanischer Garten & Botanisches Museum Berlin-Dahlem, 1984.
12. Quézel, Pierre, and Sébastien Santa. "Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales." (1962).
13. Guaâdaoui, A., et al. "Contribution to botanical, phyto-ecological and phytochemical studies of *Calicotome villosa* (Poiret) Link subsp. *intermedia*: A phylogenetic approach from Moroccan species." *IJGHC* 5 (2016): 93-111.

14. Damerdji, Amina. "Diversité orthoptérologique sur trois plantes xérophiiles (diss-doumgenêt) dans les environs de Tlemcen (Algérie Nord-occidentale)." *Revue Ivoirienne des sciences et technologie* 17 (2011): 67-78.
15. Rameau, Jean-Claude, et al. *Flore forestière française tome 3, région méditerranéenne: Guide écologique illustré*. Vol. 3. CNPF-IDF, 2008.
16. Siddiqi, Imran, et al. "Automatic analysis of handwriting for gender classification." *Pattern Analysis and Applications* 18 (2015): 887-899.
17. Mebirouk-Boudechiche, L., et al. "Digestibilité in vitro et cinétique de fermentation des feuilles de cinq arbustes fourragers du nord est algérien." *Revue Méditerranéenne Vétérinaire* 166 (2015): 11-12.
18. Said, O., et al. "Ethnopharmacological survey of medicinal herbs in Israel, the Golan Heights and the West Bank region." *Journal of ethnopharmacology* 83.3 (2002): 251-265.
19. Mebirouk-Boudechiche, L., et al. "Estimation de la biomasse foliaire fourragère de Pistacia lentiscus et Calycotome spinosa, arbustes des subéraies en Algérie." (2015): 77-83.
20. Valenti, Donatella, et al. "Liposome-incorporated Santolina insularis essential oil: preparation, characterization and in vitro antiviral activity." *Journal of liposome research* 11.1 (2001): 73-90.
21. Cherfia, Radia, et al. "New approach in the characterization of bioactive compounds isolated from Calycotome spinosa (L.) Link leaves by the use of negative electrospray ionization LITMSn, LC-ESI-MS/MS, as well as NMR analysis." *Bioorganic Chemistry* 96 (2020): 103535.
22. VACCINAL POTENTIEL CONTRE LES MAMMITES A STAPHYLOCOCCUS Pujol, Julien. "PRODUCTION D'UNE PROTEINE CD40L BOVINE RECOMBINANTE SOLUBLE: UN ADJUVANT AUREUS." (2016).
23. Madigan, M. T., Martinko, J. M., Bender, K. S., Buckley, D. H., & Stahl, D. A. (2018). *Brock Biology of Microorganisms*. Pearson.
24. Camille, D. E. L. A. R. R. A. S. *Pratique en microbiologie de laboratoire? Recherche de bactéries et de levures-moisissures*. Lavoisier, 2014.
25. Young, Barbara, Géraldine O'Dowd, and Phillip Woodford. *Atlas d'histologie fonctionnelle de Wheater*. De Boeck Supérieur, 2015.
26. Jawetz, Ernest, Joseph L. Melnick, and Edward Allen Adelberg. *Microbiologie médicale*. Presses Université Laval, 1973.

27. Miquel, Pierre, and Robert Cambier. *Traité de bactériologie pure et appliquée à la médecine et à l'hygiène*. Naud, 1902.
28. Kouassi, Y. M., et al. "Microbiology of facial cellulitis related to dental infection." *Médecine et maladies infectieuses* 41.10 (2011): 540-545.
29. Faurie, Claude. *Écologie Approche scientifique et pratique* (6e ed.). Lavoisier, 2011.
30. Astier-Théfenne, Hélène, et al. "Vérification des performances d'une méthode selon le SH FORM 44: application à la coloration de Gram." *Revue Francophone des Laboratoires* 2014.461 (2014): 37-46.
31. Peyroux, Julien. *Etude et application de nouvelles techniques d'imagerie et d'intelligence artificielle pour l'identification bactérienne*. Diss. Université Grenoble Alpes, 2022.
32. Chéttibi Samah, Hamlaoui Asma. "Recherche de l'activité antibactérienne d'une plante marine «Posidonia oceanica»." (2016)..
33. BANAH, Victor VIBAN. *ETUDE ETIOLOGIQUE DES MAMMITES CLINIQUES CHEZ LES PETITS RUMINANTS DANS LA ZONE URBAINE ET PERIURBAINE DE DAKAR*. Diss. UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR, 1977.
34. Jehl, François, and Christelle Koebel. "Antibiotiques-bactéries: une relation (pharmaco) dynamique." *Revue Francophone des Laboratoires* 2011.434 (2011): 45-56.
35. Dessalles, Jean-Louis, Cédric Gaucherel, and Pierre-Henri Gouyon. *Le fil de la vie: la face immatérielle du vivant*. Odile Jacob, 2016.
36. AL-Saeed, M.H., Hadi, N.S. (2015). *Etude de l'effet des iso flavonoïdes extraits de l'écorce de Punica granatum sur la fertilité et les caractéristiques du sperme chez les males des lapins* ». Université de Basrah, Iraq.
37. SENOUSS, Narimane, and Khawla Ben Abbes. *Echappement des bactéries Gram négatif au système de complément*. Diss. UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA.
38. Rania, Fathi, and Fathi Rania. "Étude du profil bactériologique et de la sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries responsables des infections urinaires." *Mémoire d'Hygiène Hospitalière et Santé*. Université des Frères Mentouri Constantine Faculté des Sciences de la nature et de la Vie 77 (2017).
39. Paul, Singleton. "Bactériologie pour la médecine, la biologie et les biotechnologies." Edition Dunod. 6ème édition. Page 542 (1999).
40. Mazzoleni, Viola. *La leucocidine de Panton-Valentine initie une forme alternative de NETose qui passe par la voie mitochondriale*. Diss. Université de Strasbourg, 2020.

41. Lehucher-Michel, M. P., et al. "Oxidative stress and human disease. Current knowledge and perspectives for prevention." *Presse Medicale* (Paris, France: 1983) 30.21 (2001): 1076-1081.
42. Torralba, Jm D., C. E. Da Costa, and F. Velasco. "P/M aluminum matrix composites: an overview." *Journal of Materials Processing Technology* 133.1-2 (2003): 203-206.
43. Kohen, Ron, and Abraham Nyska. "Invited review: oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification." *Toxicologic pathology* 30.6 (2002): 620-650.
44. Min, Kyungmi, and Susan E. Ebeler. "Flavonoid effects on DNA oxidation at low concentrations relevant to physiological levels." *Food and Chemical Toxicology* 46.1 (2008): 96-104.
45. Crowden, R. K., J. B. Harborne, and V. H. Heywood. "Chemosystematics of the Umbelliferae—a general survey." *Phytochemistry* 8.10 (1969): 1963-1984.
46. Bister-Miel, F., et al. "Glutamine as an active component of casein hydrolysate: its balancing effect on plant cells cultured in phosphorus deficient medium." *Plant cell reports* 4.3 (1985):161-163.
47. Zweier J.L, Hassan, Talukder M.A,(2006). The role of oxidants and free radicals in4. reperfusion injury *Cardiovascular Research*.
48. Favier, A,(2006).Stress Oxydant et pathologies humaines, *Annals of Pharmacotherapy*.
49. Hocine Farah et Gorine Mohamed Amine,(2017).Evaluation de l'exposition au plomb etcadmium et impact sur quelque paramètres du statut oxydant/ antioxydant chez lesouvriesexposés aux fumes de soudage.
50. Favier A, (2003).Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la8. compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique.
51. Pastreet Rriymenko,(2007).Intérêt des antioxydants dans l'alimentation des carnivoresdomestiques.
52. BENBROOK,(2005).Accroitre la teneur antioxydants des aliments grâce à l'agriculture et à la transformation alimentaire biologique.
53. Tanguy M ,(2009).Antioxydants première partie de l'antioxydants dans l'alimentation *Médecine*.
54. MilburyP,Richer A,(2008).Understanding the antioxydant controversy.

55. Mika A, Minibayeva F, Beckett R, Luthje S, (2004). Possible functions of extracellular peroxidases in stress-induced generation and detoxification of active oxygen species.
56. Comhair SAA, Erzurum SC, (2002). Antioxidant responses to oxidant-mediated lung diseases, American Journal Physiology Lung Cell. Molecular Physiology.
57. Foyer CH, Trebst A, Noctor G, (2008). Signaling and integration of defense functions of tocopherol, ascorbate and glutathione .
58. Evans WJ, (2000). Vitamin E, vitamin C, and exercise. American Journal of Clinical Nutrition.
59. Ahamet S, (2003). Etude photochimique et des activités biologiques de *Balanites aegyptiaca* L.
60. Cheick Traore M, (2006). Etude de la phytochimie et des activités biologiques de quelques plantes utilisées dans le traitement traditionnel de la dysménorrhée au Mali.
61. Yeum KJ, Aldini G, Russell RM, Krinsky NI, (2009). Antioxidant/Pro-oxidant Actions of Carotenoids.
62. Valko M., Rhodes C.J, Moncol J, Izakovic M. et Mazur M, (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chemico-Ghedira K, (2005). Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique, Phytothérapie.
63. Delattre J, Beaudeau JL, Bonnefont-Rousselot, (2005). Radicaux libres et stress oxydant: aspects biologiques et pathologiques.
64. Ré D.B., Nafia I, Nieoullon A. et al. (2005). Stress oxydatif cérébral : les astrocytes sont-ils vulnérables aux faibles concentrations intracellulaires de glutamate, Implications sur la survie neuronale.

# **Chapitre II**

## **Matériel Et Méthodes**

## Introduction

Ce chapitre est dédié à la description du matériel biologique et non biologique et l'ensemble des méthodes utilisés pendant la réalisation de cette étude au niveaux des laboratoires du hall technologique de chimie et de microbiologie à l'université 20 Aout 1955 Skikda, l'étude a été effectué pendant une durée d'un mois de l'année universitaire 2023. Notre objectif consiste à évaluer l'activité antibactérienne et anti oxydante des extraits phénoliques de la plante *Calicotome spinosa* L.

### II.1. Matériels

#### II.1.1. Matériels non biologiques

*Tableau II. 1. Listes de matières non biologiques utilisées pendant le travail expérimental*

| Petits matériels et verreries   | Appareils  | Produits chimiques et réactifs   |
|---|--|--|
| Ampoule à décanter :<br>500ml/250ml.<br>Fiole jaugée : 250ml/100ml<br>/25ml.<br>Bécher : 250ml/100ml<br>/50ml/25ml.<br>Eprouvette.<br>Entonnoirs.<br>Tube à essai.<br>Boîtes de pétri 9cm.<br>Micropipettes.<br>Pipettes pasteurs.<br>Ecouvillons.<br>Papier filtre.<br>Papier aluminium.<br>Pince stérile.<br>Une règle.<br>Poêle à gaz. | Agitateur<br>Bain marie.<br>Evaporateur rotatif.<br>Balance analytique.<br>Etuve.<br>Autoclave.<br>Un spectrophotomètre UV<br>visible. | L'éthanol.<br>Ether de pétrole.<br>Acétate d'éthyle.<br>Dichlorométhane.<br>2-butanol<br>plaque CCM<br>L'eau distillée,<br>hydroxyde d'ammonium, copaux<br>de Magnésium, chloroforme,<br>DPPH. Milieu Muller.Hinton. |

**II.1.2. Matériels biologiques****II.1.2.3. Choix du matériel végétal**

Le choix du matériel végétal a obéi à des considérations bibliographiques tout d'abord, qui ont montré une chimio-diversité remarquable de cette espèce au travers des travaux effectués dans plusieurs pays (Algérie, Maroc, France, Espagne), [1].

nous avons voulu pour notre part apporter une contribution à cette chimio-diversité par l'étude des composants chimiques de la variété Algérienne. Par ailleurs, les populations locales utilisent abondamment ces ressources dans le cadre de la pharmacopée traditionnelle. *C. spinosa* (L.) plus connue sous le nom gundoule n'échappe pas à cette règle.

Sur le plan pharmacologique, des recherches récentes ont mis en évidence une activité antitumorale du décocté de la partie aérienne sèche de *Calycotome spinosa* (L.). Des travaux publiés ont permis de vérifier l'activité bactérienne [2] de l'extrait aqueux. De même, les fleurs l'infusion de cette plante est utilisée par le peuple palestinien pour la guérison des troubles cardiovasculaires et du système nerveux. [3]

Ces résultats nous ont incité à entreprendre l'étude de quelques activités biologique et synergique de cette espèce.

**II.1.3 Protocole expérimental****II.1.3.1. Récolte de la Matière Végétale**

Toute la partie aérienne de *C. spinosa* (L.) Link a été collectée de la population naturelle de Skikda (El hadaik), au nord-est de l'Algérie, pendant la période de floraison en fin d'avril 2023, l'identification de la plante était basée sur ses caractéristiques morphologiques (figure 1)



Thorny Calycotome (spinousus)

*Figure II. 1. Calicotome spinosa L*

## II.2. Méthodes

### II.2.1. Préparation de la matière végétale

La matière végétale a été récoltée, nous avons pris en considération toute la partie aérienne de la plante (fleurs, tiges, feuilles). Les plantes récoltées, ont été séchées dans un endroit sec et bien ventilé, à l'abri de la lumière, du soleil et de l'humidité pendant 15 jours. Le matériel végétal a été ensuite broyé à l'aide d'un broyeur électrique. Après broyage la poudre obtenue a été soumise à une extraction afin de récupérer les différentes classes de composés chimiques contenus dans les fleurs et les feuilles.



*Figure II. 2. Séchage de la plante.*

### II.3. Matériel microbien

#### II.3.1. Les souches bactériennes

Le choix des bactéries (Tableau) a été porté sur 7 souches fréquentes en pathologie humaine, ces souches ont été sélectionnées en fonction de leur pouvoir pathogène et leur résistance naturelle aux antibiotiques constituant ainsi un problème majeur de santé publique. Les souches bactériennes ont été fournies par le laboratoire de microbiologie de l'université de Skikda, en effet toutes les souches que nous avons utilisées sont exposé en détail dans la partie théorique, Les sept souches ont été résumées dans le tableau ci-dessous.

*Tableau II. 2. les souches bactériennes testés.*

| Souche Testée                       | Gram |
|-------------------------------------|------|
| <i>Citrobactre</i>                  | -    |
| <i>Esherichiacoli</i>               | -    |
| <i>Klebsiella pneumonide</i>        | -    |
| <i>Staphlococcusauveus</i>          | +    |
| <i>Enterobacter cloacae</i>         | -    |
| <i>Pseudomonaaruginosa</i>          | -    |
| <i>Streptococcus thermophilus</i>   | +    |
| <i>Candidachampignons</i> (levures) | /    |

## II.4. Préparation des extraits

### II.4.1. Principe d'extraction solide liquide (macération)

La macération est la méthode d'extraction solide-liquide la plus simple. Il consiste à mettre en contact de la matière végétale avec un solvant avec ou sans agitation à la température ambiante ou élevée pendant la période spécifiée. La technologie est basée sur la solubilité des composés biologiquement actifs dans le solvant d'extraction est affectée par une série de facteurs, dont la nature du matériel végétal, la présence de solutés dans la nature de l'échantillon, le solvant et le temps d'extraction. Le trempage commence par choisir un solvant d'extraction approprié. Après avoir effectué l'étape de diffusion du solvant en interne Cellules végétales le processus se poursuit à mesure que le composé bioactif se dissout migrera du substrat végétal vers le solvant environnant jusqu'à l'équilibre réaliser un partage centralisé (figure 3).



*Figure II. 3. Macération des plante sèche*

### II.4.2. La méthode classique par gradient de polarité de solvant

Les parties aériennes sèches sont coupées en petits morceaux, ensuite broyées et subissent une dilapidation préliminaire par l'éther de pétrole, ensuite extraites par une macération dans un mélange hydro alcoolique (méthanol-eau 70:30) pendant 24 heures, cette opération se répète en trois fois avec renouvellement du solvant.

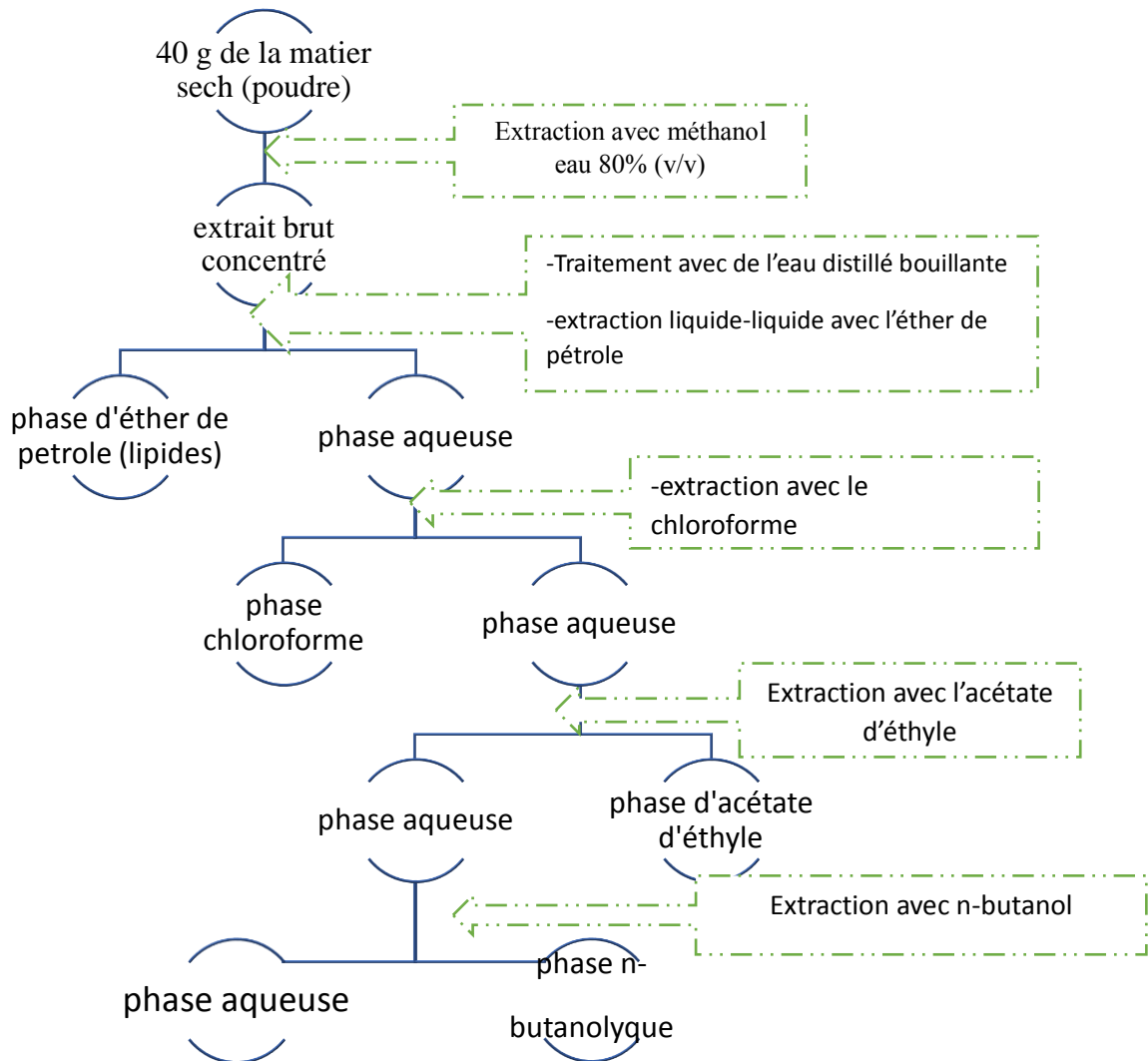
Ensuite l'extrait obtenue a subi une extraction liquide-liquide selon le protocole préconisé par LEBRETON (1967) modifié par BOUTARD (1972), Gonnet (1973) et Jay (1975).[4]

L'extrait hydrométhanolique est récupéré, concentré puis additionné de l'eau, ainsi la solution obtenue subie dans un premier temps un affrontement liquide-liquide avec l'éther de pétrole qui entraîne les cires, les graisses et les composés lipophiles.

Le second affrontement se fait avec le  $\text{CHCl}_3$  qui entraîne les trapézoïdes. Dans la troisième extraction on utilise l'acétate d'éthyle (trois extractions) qui entraîne les flavonoïdes aglycones et les mono hétérosides.

Enfin, la dernière extraction se fait avec le n-butanol (3 extractions) qui extrait les composés phénoliques di-O-glysilés ainsi que les tri-O- et C-glycosides. Les différents extraits sont d'abord séchés sur sulfate de sodium ( $\text{NaSO}_4$ ) et évaporés sous pression réduite.

Le protocole de l'extraction est résumé dans le schéma 1.



**Diagramme d'extraction liquide-liquide (fractionnement à l'aide de solvants organiques à polarité croissante)**



*Figure II. 4. extraction liquide-liquide*

#### **II.4.3. Extraction par solvant alcoolique utilisant le soxhlet**

Dans une extraction Soxhlet, le solvant d'extraction est placé dans le réservoir inférieur et chauffé à son point d'ébullition. Le solvant en phase vapeur se déplace vers le haut à travers le tube à l'extrême droite de l'appareil, atteignant le condenseur où il se condense à l'état liquide. Le solvant passe ensuite à travers l'échantillon, qui est maintenu dans une cartouche filtrante en cellulose poreuse, collectant dans le réservoir supérieur. Dans notre étude nous avons utilisé l'extraction solide liquide par soxhlet afin de réaliser une étude comparative des deux extraits obtenue (figure 5)



*Figure II. 5. Extraction par Soxhlet.*

## II.5. Évaluation de l'activité antibactérienne

### II.5.1. Méthodes

#### II.5.2.1. Méthode de diffusion des disques

La méthode de diffusion des disques est généralement employée comme une analyse préliminaire pour étudier l'activité antibactérienne ensuite viennent des méthodes plus détaillées. Dans cette méthode, les paramètres tels que le volume placé sur les disques de papier, l'épaisseur de la couche de gélose et si un dissolvant est employé varient considérablement entre les études Manou et Burt. [5] L'activité antibactérienne de nos extraits est estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition (mm) autour des disques contenant l'extrait à tester contre les germes pathogènes après 24 et 48 heures respectivement d'incubation à une température convenable de 37°C. Les valeurs indiquées sont les moyennes des trois mesures de chaque concentration (figure 6).

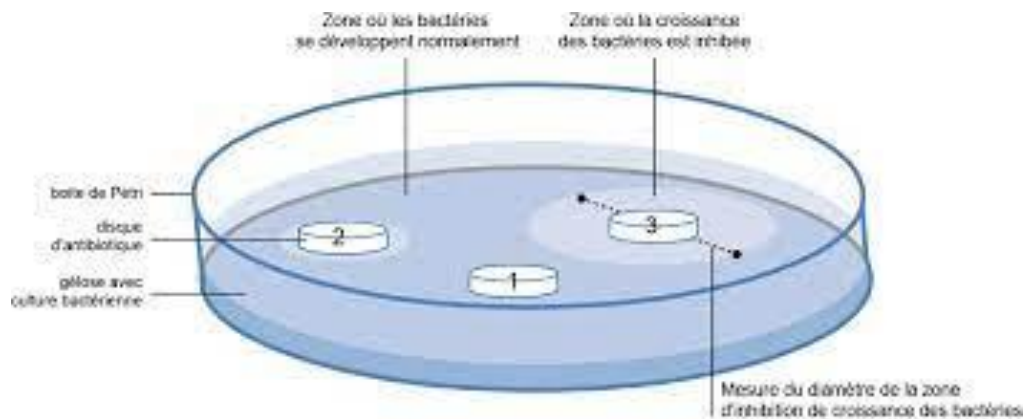


Figure II. 6. La méthode de diffusion de disque.

### Principe

Le principe de cette méthode se résume en un disque de papier imprégné de l'extrait à différentes concentrations, déposé directement sur la gélose, uniformémentensemencée avec le germe à tester. La croissance du germe est inhibée à une distance du disque par rapport à sa sensibilité à l'extrait diffusé. La limite de la zone d'inhibition est détectée à l'œil nu Ets 'accorde à l'endroit où la croissance bactérienne commence [6] L'interprétation de la zone d'inhibition se fait à l'aide d'une règle en fonction des diamètres donnés dans un tableau, ainsi les germes sont classés en « sensibles », « intermédiaires » ou « résistants » [7]

Cette méthode est reconnue comme fiable et reproductible, en plus de ça, elle constitue surtout une étape préliminaire à des études plus approfondies, car elle permet d'accéder à des résultats essentiellement qualitatifs.[8] Elle permet également de mettre en évidence l'effet antimicrobien

des composées phénoliques et de déduire la résistance et la sensibilité des souches microbiennes.[9]

### II.5.3. Souche bactérienne et conditions de culture

D'après les études antérieures, les différents extraits de la plantes présentes une activité bactérienne remarquable contre plusieurs souches de bactéries.[10] Pour cette raison, nous avons choisi une série de quelque bactérie (suivant la disponibilité des souches tableaux x)

Les bactéries sont fournie par le laboratoire de microbiologie de la faculté des sciences, a étéensemencée juste avant le test antibactérien dans un bouillon nutritif et incubé à 37 °C pendant 24 Mode opératoire

#### II.5.3.1. Préparation des disques

le papier filtre découpé sous forme de disques circulaires environ de 6 mm de diamètre, afin d'obtenir une zone d'inhibition facile à mesurer.

#### II.5.3.2. Préparation de milieu de culture

Le milieu de culture approprié à cette étude est le milieu : Muller-Hinton. Dans un bain marie, il faut faire bouillir la gélose jusqu'à dissolution totale. Puis une stérilisation à l'autoclave est nécessaire avant utilisation. Enfin couler le milieu dans les boites de pétri et laisser refroidir (figure7).



*Figure II. 7. Préparation de milieu de culture.*

### *II.5.3.3. Revivification des souches*

Dans le milieu gélose nutritive pendant 24h

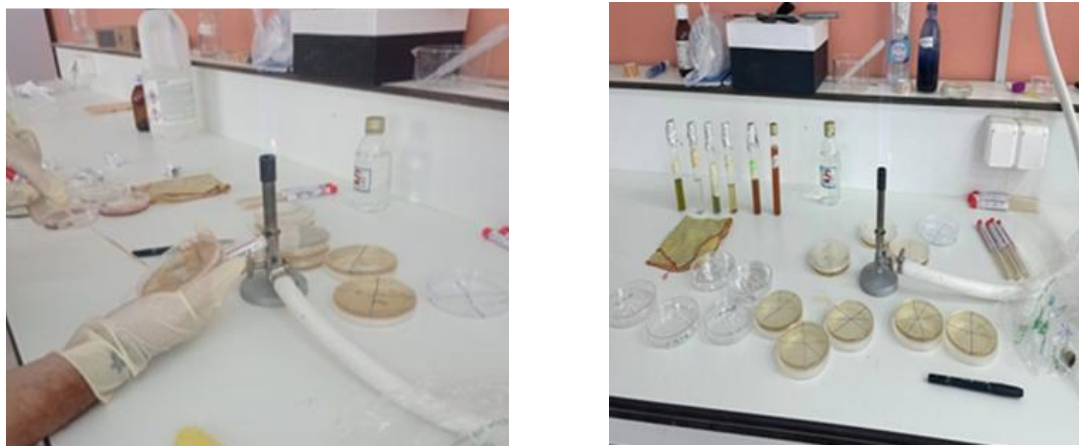
### *II.5.3.4. Stérilisation du matériel*

Les tubes à essai utilisés dans la préparation des solutions bactériennes ont été stérilisés en premier à sec dans un four pasteur, les disques en papier Wattman (6 mm de diamètre) et la gélose nutritive ont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

## **II.6. Test de l'activité inhibitrice**

### **II.6.1. Ensemencement et dépôt des disques**

Les suspensions bactériennes ont été étalées à la surface de la gélose M.H à l'aide des écouvillons. Les disques imprégnés des trois extraits différents (méthanol, 2-butanol, Ac-Et, de concentration de 1mg /1ml)de la plantes ont déposés délicatement sur la surface de la gélose inoculée à l'aide d'une pince stérile. De même les disques imprégnés de différents solvants (témoin négatif) ont été déposés. Les boîtes de pétri sont incubées pendant 24 et 48heures à 37°C ( figure 8).

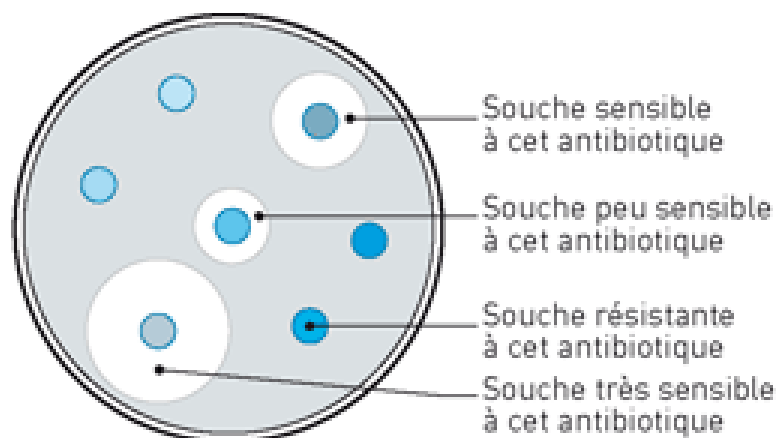


*Figure II. 8. préparation des disques*

Dans ce travail, les solvants organiques polaires ont été utilisé comme solvant d'extraction et de conservation des extraits obtenus. Ils ont été utilisés parallèlement comme témoin dans les tests antibactériens de ces extraits.

### Lecture des résultats

La lecture des résultats s'effectue en deux fois : la première lecture après 24 heures et la seconde après 48 heures d'incubation, mesurer à l'aide d'une règle graduée le diamètre d'inhibition des bactéries autour des disques. Le diamètre (mm) de la zone entourant le disque est proportionnel à la sensibilité du germe étudié.



*Figure II. 9. La lecture des résultats.*

### **Évaluation de l'effet l'activité antioxydant des extraits de Calicotome Spinosa L**

L'activité anti radicalaire de différentes fractions de Calicotome Spinosa L a été estimée par la méthode DPPH (2,2-diphényl-1 picrylhydrazyle) qui est largement utilisée dans l'analyse de l'activité antioxydante. Découvert en 1922[A], le DPPH se caractérise par sa capacité à produire des radicaux libres stables, et est oxydé à 100% en solution dans le méthanol. Dans des conditions d'oxydation, le composé DPPH est violet et absorbe à 517 nm. Cette stabilité est due à la délocalisation des électrons libres au sein de la molécule. En présence d'antioxydants, le radical DPPH est réduit par transfert d'hydrogène et conduit à un composé DPPH-H qui conduit à une diminution de l'absorbance à 517 nm[B ,C].

Les activités antioxydant ont été évaluées selon un protocole décrit par **A. M. Ahsanul, et al[K]**, en bref, 3 ml d'une solution méthanolique fraîchement préparée de DPPH (0,2 mM) ont été ajoutés à 5 ml de différentes dilutions d'extraits de plantes (0.03901 –0.625 µg/ml). Le mélange a ensuite été incubé à température ambiante à l'abri de la lumière pendant 30 minutes. Puis l'absorbance à 517 nm est mesurée par rapport au blanc (contrôle négatif). Un contrôle négatif est préparé en parallèle, en mélangeant 5ml de méthanol avec 3 ml d'une solution méthanolique de DPPH.

L'adsorption plus faible de la solution réactionnelle montre un effet de piégeage plus important. Comme standards positif, l'acide ascorbique a été utilisé dans les mêmes conditions expérimentales. Le pourcentage d'inhibition % PI est calculé à l'aide de l'équation ci-dessous :

$$\%PI = [(A_0 - A) / A_0] * 100 \quad \text{eq(1)}$$

Où A<sub>0</sub> est l'absorbance du contrôle négatif et A<sub>1</sub> est l'absorbance de l'échantillon ou des standards.

La cinétique d'activité permet de déterminer des concentrations correspondant à 50 % d'inhibition (IC<sub>50</sub>) ; Les faibles valeurs IC<sub>50</sub>(mg/ml) indiquent la forte activité antioxydantes des extraits

### Détermination de la composition chimique

La recherche des fonctions organique dans la composition chimique des extraits de la plante *Calicotome spinosa L* a été réalisée par Spectrométrie infrarouge (IR).

### La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

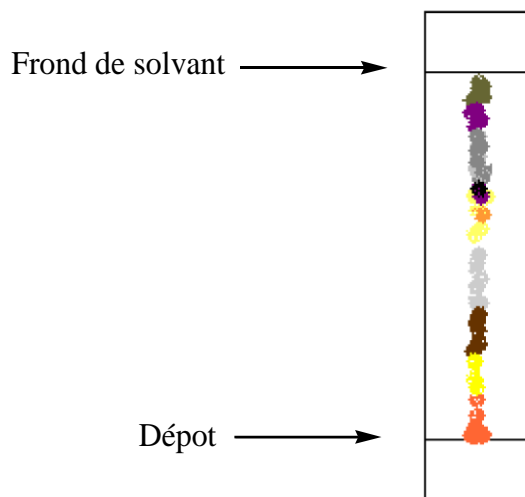
Spectrométrie infrarouge (IR) est principalement utilisée pour l'analyse qualitative d'une molécule, elle permet de mettre la nature des liaisons chimiques. Les vibrations et les rotations moléculaires sont excitées par absorption de rayonnement dans le domaine infrarouge du spectre électromagnétique (4000 cm<sup>-1</sup> à 400cm<sup>-1</sup>) [A, B]. La mesure se présente sous forme de spectre décrivant l'évolution de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde. Lorsque la longueur d'onde (l'énergie) apportée par le faisceau lumineux est voisine de l'énergie de vibration de la molécule, cette dernière va absorber le rayonnement et on enregistre alors une diminution de l'intensité réfléchié ou transmise.



Figure II. 10 . le spectre FTIR.

**Test qualitative par chromatographie sur couche mince**

Plusieurs systèmes d'élution ont été essayés sur l'extrait brut de la phase n-butanol. Le meilleur résultat a été obtenu avec le système  $\text{CHCl}_3 / \text{MeOH} / \text{H}_2\text{O}$  (70 :30 :5) (figure 1).



**Support** : plaque de silice Merck.

**Eluant** :  $\text{CHCl}_3 / \text{MeOH} / \text{H}_2\text{O}$  (70 :30 :5).

**Révéléteur** : acide acétique / acide sulfurique / eau : (1 / 1 / 8)

## Références

- [1] Bovei, Biarum. "ANNEXE: Plantes potentiellement dangereuses pour les ruminants en Algérie (nomenclature, répartition, habitat et abondance selon QUÉZEL et SANTA, 1962-1963)."
- [2] Siddiqi, Imran, et al. "Automatic analysis of handwriting for gender classification." *Pattern Analysis and Applications* 18 (2015): 887-899.
- [3] Amar, Zohar, and Yaron Serri. "The Land of Israel and Syria as Described by al-Tamimi—Jerusalem Physician of the 10th Century." (2004).
- [4] Jay, Maurice, et al. "Sur l'analyse qualitative des aglycones flavoniques dans une optique chimiotaxinomique." *Phytochemistry* 14.7 (1975): 1605-1612.
- [5] (Ahmadifar, E., et al. "Growth efficiency, survival and haematological changes in great sturgeon (*Huso huso* Linnaeus, 1758) juveniles fed diets supplemented with different levels of thymol—carvacrol." *Animal Feed Science and Technology* 198 (2014): 304-308.
- [6] Messiaen, Charles Marie, Mohamed Youcef-Benkada, and André Beyries. "Rendement potentiel et tolérance aux virus chez l'ail (*Allium sativum* L.)." *Agronomie* 1.9 (1981): 759-762.
- [7] Biondi, Daniela, et al. "Antimicrobial activity and chemical composition of essential oils from Sicilian aromatic plants." *Flavour and fragrance journal* 8.6 (1993): 331-337.
- [8] Hyde, Kevin D., et al. "Fungal diversity notes 367–490: taxonomic and phylogenetic contributions to fungal taxa." *Fungal diversity* 80 (2016): 1-270.
- [9] Amara, Jihen, Bassem Bouaziz, and Alsayed Algergawy. "A deep learning-based approach for banana leaf diseases classification." *Datenbanksysteme für Business, Technologie und Web (BTW 2017)-Workshopband* (2017).
- [10] Cherfia, Radia, et al. "Phytochemical analysis, antioxidant and antimicrobial activities of leaves and flowers ethylacetate and n-butanol fractions from an Algerian endemic plant *Calycotome spinosa* (L.) Link." *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy* 9.12 (2017): 185-196

# **Chapitre III**

## **Résultats Et Discussion**

### III.1. La comparaison entre l'extraction par macération et l'extraction par Soxhlet

Une étude comparative de deux techniques d'extraction des composés contenus dans la plante médicinale, *Calycotome spinosa* L., a été réalisée en l'occurrence :

- L'extraction par macération dans le méthanol aqueux à 70 %, à température ambiante, pendant 24 heures, préconisée en médecine traditionnelle.
- L'extraction par la méthode de Soxhlet (extraction à chaud 50 °C).

Notre comparaison est portée sur le rendement d'extraction en poids après la pesé effectué sur chaque solvant.

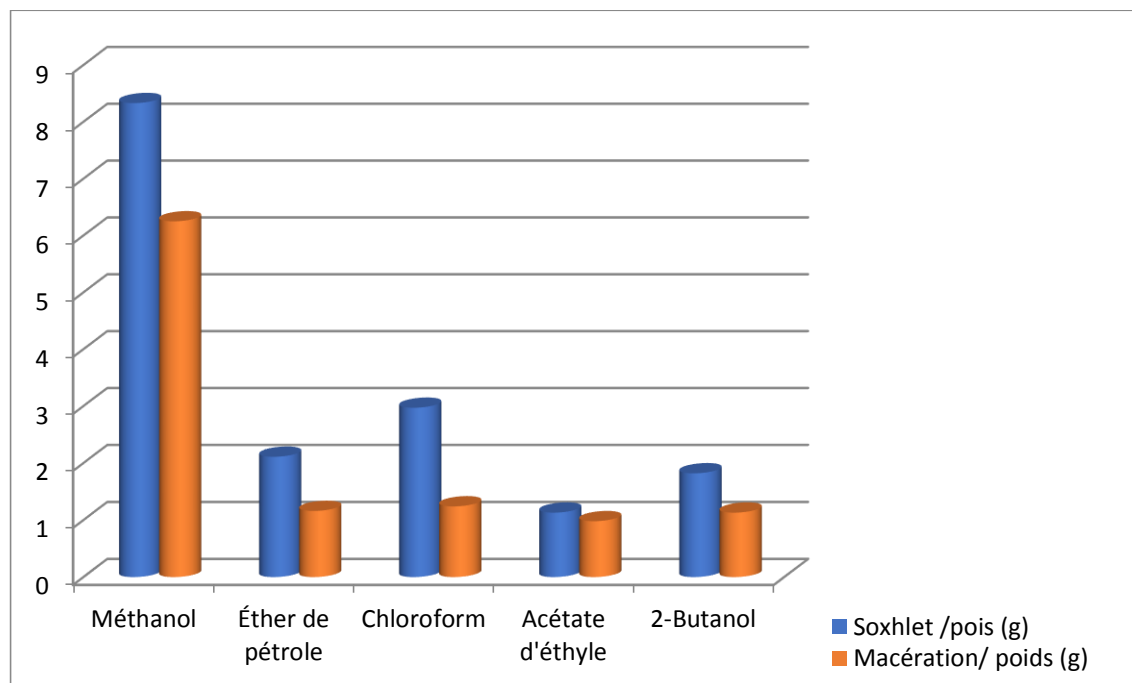
Nous avons choisi d'effectuer nos extractions sur 40 g de poids sec, ce qui représente la dose moyenne qu'il stocke traditionnellement par la population.

Dans cette étude, le rendement (l'extrait sec, obtenu après évaporation, contenant les flavonoïdes et les composés phénolique) a été déterminé par rapport à 40 g de la matière végétale (broyat sèches).

Le poids de l'extrait sec est déterminé par la différence entre le poids du ballon plein (après évaporation) et le poids du ballon vide (avant évaporation), les résultats obtenus sont regroupés dans le **tableau 1**, et illustré dans **la figure 1**.

*Tableau III. 1. Les teneurs en masse de différents solvant d'extraction*

|                         | Soxhlet /pois (g) | Macération/ poids (g) |
|-------------------------|-------------------|-----------------------|
| <b>Méthanol</b>         | 8,33              | 6,25                  |
| <b>Éther de pétrole</b> | 2,11              | 1,16                  |
| <b>Chloroform</b>       | 2,97              | 1,24                  |
| <b>Acétated'éthyle</b>  | 1,13              | 0,98                  |
| <b>2-Butanol</b>        | 1,82              | 1,13                  |



*Figure III. 1. Les résultats donnés par les deux méthode s'indiquent que le rendement d'extraction en masse des métabolites secondaires le plus élevé a été obtenu en utilisant le montage Soxhlet..*

### III.2Activité antibactérienne des extraits

Concernant les extraits des zones d'inhibition sont observées les résultats sont les moyennes des ensembles des diamètres du même essaie. Les diamètres des zones d'inhibitions, pour toutes les solutions testées varient de 8mm-28 mm (Comme 8 mm indique une inactivité contre les bactéries, et plus le diamètre est grand, c'est-à-dire qu'il y a une augmentation de l'effet désiré), les diamètres des zones d'inhibition (mm) obtenus sont représentés dans les tableaux suivants MeOH 2-Butanol :(mesure des diamètres après 24 et 48 heures)

**Tableau III. 2.** Activité antibactérienne des extraits : MeOH et le 2-Butanol (*Calicotome spinosa L.*) mesurée en mm..

|                               | Temps | Extrait |           | Solvant (T)      |      |           |
|-------------------------------|-------|---------|-----------|------------------|------|-----------|
|                               |       | MeOH    | 2-Butanol | H <sub>2</sub> O | MeOH | 2-Butanol |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i>  | 24h   | 00(-)   | 27(+++)   | 00               | 12   | 16        |
|                               | 48 h  | 00(-)   | 27(+++)   | 00               | 16   | 16        |
| <i>Staphylococcus aureus</i>  | 24 h  | 28(+++) | 24 (+++)  | 17               | 21   | 13        |
|                               | 48 h  | 28(+++) | 24(+++)   | 22               | 21   | 19        |
| <i>Enterobacter cloacae</i>   | 24 h  | 09(+)   | 11(+)     | 00               | 00   | 09        |
|                               | 48 h  | 09(+)   | 11(+)     | 00               | 00   | 09        |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 24 h  | 13(+)   | 13(+)     | 00               | 00   | 11        |
|                               | 48 h  | 12(+)   | 13(+)     | 00               | 00   | 10        |



**Figure III. 2.** Photographie montrant l'action des extraits de la plante sur les 4 souches bactériennes

Selon les critères proposés par Ponce et al, [1] l'échelle de l'estimation de l'activité antimicrobienne et catégoriser comme suit:

- Extrêmement sensible (+++): plus de 20mm
- Très sensibles (++) : de 15mm à 19mm
- Sensibles (+) : 8 mm à 14mm
- Non sensibles (-) : moins de 8 mm

Concernant les extraits concentrés, des zones d'inhibition observées indiquant que tous les extraits concentrés ont une activité antibactérienne variée entre extrêmement sensible et sensible.

**a- L'extrait de méthanolique**

• la souche la plus sensible est le *Staphylococcus aureus* (28 mm), ensuite la *Pseudomonas aeruginosa* (13mm) et en fin *Enterobacter cloacae* (9 mm) et sans effet sur les bactéries *Klebsiella pneumoniae*.

**b- L'extrait 2-bétanolique**

• la souche la plus sensible est le *Klebsiella pneumoniae* (27 mm), ensuite la *Staphylococcus aureus* (24 mm) Et ça a eu une très grande influence sur ces deux souches et en fin *Pseudomonas aeruginosa* (13mm) *Enterobacter cloacae* (11mm) l'effet est modéré, et les résultats sont satisfaisants.

**Tableau III. 3.** *Activité antibactérienne des extraits : Acétate d'éthyle, MeOH et le 2-Butanol (Calicotome spinosa L) mesurée en mm*

|                         | Tem<br>ps | Extrait  |           | Solvant (T) |       |           |      |
|-------------------------|-----------|----------|-----------|-------------|-------|-----------|------|
|                         |           | Ac-Eth   | 2-Butanol | MeOH        | AcOEt | 2-Butanol | MeOH |
| <i>Citrobacte</i>       | 24 h      | 00       | 09        | 00          | 8     | 10        | 0    |
|                         | 48 h      | 00       | 09        | 00          | 0     | 11        | 0    |
| <i>streptocoque</i>     | 24 h      | 28(++++) | 08        | 08          | 8     | 14        | 0    |
|                         | 48 h      | 29(++++) | 08        | 08          | 0     | 9         | 0    |
| <i>Escherichia coli</i> | 24 h      | 00       | 08        | 00          | 10    | 12        | 10   |
|                         | 48 h      | 00       | 09        | 08          | 10    | 13        | 11   |
| <i>Candida</i>          | 24 h      | 00       | 10        | 06          | 0     | 16        | 0    |

Nous notons qu'il n'y a pas d'effet des trois extraits sur tous les types de bactéries, sauf dans le cas de l'extrait d'acétate, car il a eu un effet significatif et souhaitable sur les bactéries *streptocoques*, où le diamètre était de (29 mm).

En effet, cette méthode a permis de déterminer l'action de certains extraits sur les bactéries et ces résultats montrent bien l'intérêt de nos extraits ainsi que leurs richesses en principe actifs responsables de leurs activités vis-à-vis les souches bactériennes de Gram (positif et négatif). Notre test microbien montre que le pouvoir antibactérien diffère d'un extrait à l'autre, en rapport direct avec les différences de leurs compositions chimiques respectives.

Considérant que, les extraits de la plante étudiée ont un effet fort et souhaitable sur les souches de bactéries qui causent des maladies qui affectent la santé humaine, telles que le *streptocoque*, *Klebsiella pneumonide*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterobacter cloacae*.

L'activité antibactérienne est principalement attribuée à la présence de différents métabolites secondaires dans ces plantes [2].

Ces résultats pourraient justifier l'utilisation de cette plante pour le traitement de certaines maladies d'origine bactérienne, et ses métabolites secondaires pourraient être utilisés à des fins thérapeutiques, notamment antibactériennes.

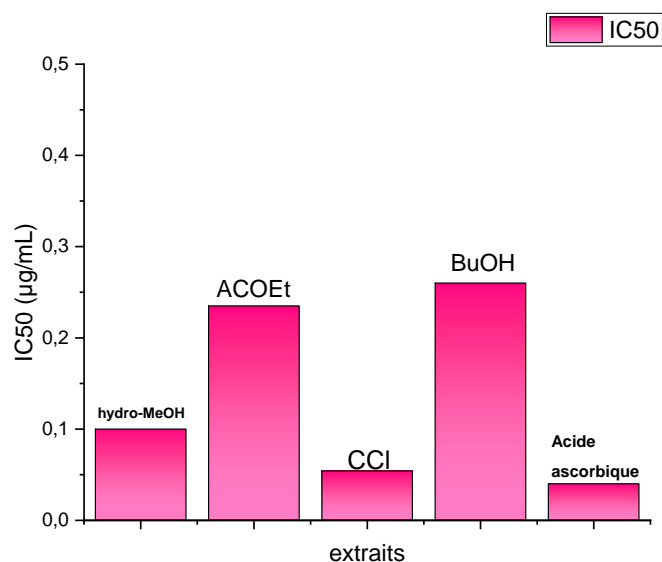
### III.3. Activité anti oxydantes des extraits de la plante *C. spinosa* L

Les capacités antioxydantes des extraits de *C. spinosa* ont été évaluées par la méthode de transfert de protons d'hydrogène (DPPH). La capacité des extraits de plantes à agir en tant que pièges des radicaux libres pour le DPPH.

• (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl) a été largement évaluée. La capacité à piéger ces radicaux libres est proportionnelle à la concentration de l'antioxydant. L'efficacité des propriétés antioxydantes est inversement corrélée à leurs valeurs IC<sub>50</sub> où une valeur IC<sub>50</sub> inférieure indique une activité plus élevée. Les résultats des tests ont été exprimés en termes de PI(%) et CI<sub>50</sub> (tableau 4).

**Tableau III. 4.** Pourcentage d'inhibition du DPPH (%) par les extraits et les fractions de *C. spinosa*.

| Extraits                        | % Inhibition in DPPH assay |             |            |            |            |
|---------------------------------|----------------------------|-------------|------------|------------|------------|
|                                 | 0.03901 µg                 | 0.07813 µg  | 0.1516 µg  | 0.3125 µg  | 0.625 µg   |
| <b>Extrait hydro-MeOH</b>       | 41,84±5,66                 | 43,58±0,23  | 63,04±0,63 | 73,46±0,2  | 84,60±0,40 |
| <b>Extrait ACOEt</b>            | 30,48±8,7                  | 35,69±11,24 | 40,97±1,46 | 64,61±1,99 | 82,99±0,46 |
| <b>Extrait CHCl<sub>3</sub></b> | 45,30±0,61                 | 57,41±0,07  | 61,20±0,46 | 63,76±2,30 | 74,22±0,59 |
| <b>Extrait BuOH</b>             | 27,41±3,16                 | 36,68±14,1  | 40,85±4,47 | 60,01±1,59 | 71,46±5,15 |
| <b>Acide ascorbique</b>         | 48,31±0,18                 | 68,41±0,05  | 68,42±0,08 | 70,33±0,18 | 75,97±0,32 |



**Figure III. 3.** Valeurs des IC50 de DPPH pour les extraits de *C. spinosa*.

Comme indiqué dans la Figure 3 et le tableau 4, l'extrait de chloroforme était le plus efficace avec une IC50 de  $0.054 \pm 5,17$  µg/mL. Ces valeurs inférieures sont proches de l'acide ascorbique ( $0.04 \pm 0.41$  µg/mL). L'extrait d'hydro-alcoolique brut a également montré une activité anti oxydantes significative avec un IC de  $0.1 \pm 0,13$  µg/mL, mais inférieur à celui de témoin (acide ascorbique) et de l'extrait CHCl<sub>3</sub>. Par rapport aux extraits ci-dessus, l'activité anti oxydantes des extraits de ACOEt et BuOH était faible et similaire, où les valeurs IC50 étaient de  $0.235 \pm 0.02$  et  $0.26 \pm 0.14$  µg/ml, respectivement.

Les composés phénoliques présents dans les plantes sont caractérisés comme des métabolites secondaires avec la capacité à piéger les radicaux libres et l'activité anti oxydantes [3].

Composés phénoliques les plus importants, les flavonoïdes constituent l'un des groupes de composés naturels les plus divers et les plus répandus. Ils peuvent être extraits avec différentes méthodes et solvants [4,5].

La variation de la teneur en composés polyphénoliques et flavonoïdes (TPC et TFC) des plantes est due aux conditions environnementales dans lesquelles les plantes ont été cultivées et à la méthode d'extraction ou au solvant utilisé. Il a été rapporté dans la littérature que le chloroforme était utile pour l'extraction des flavonoïdes [6, 7].

Les extraits riches en phénols et en flavonoïdes ont un pouvoir antioxydant élevé, ce qui explique les capacités de l'extrait chloroforme proches de l'activité anti oxydantes des standards positifs.

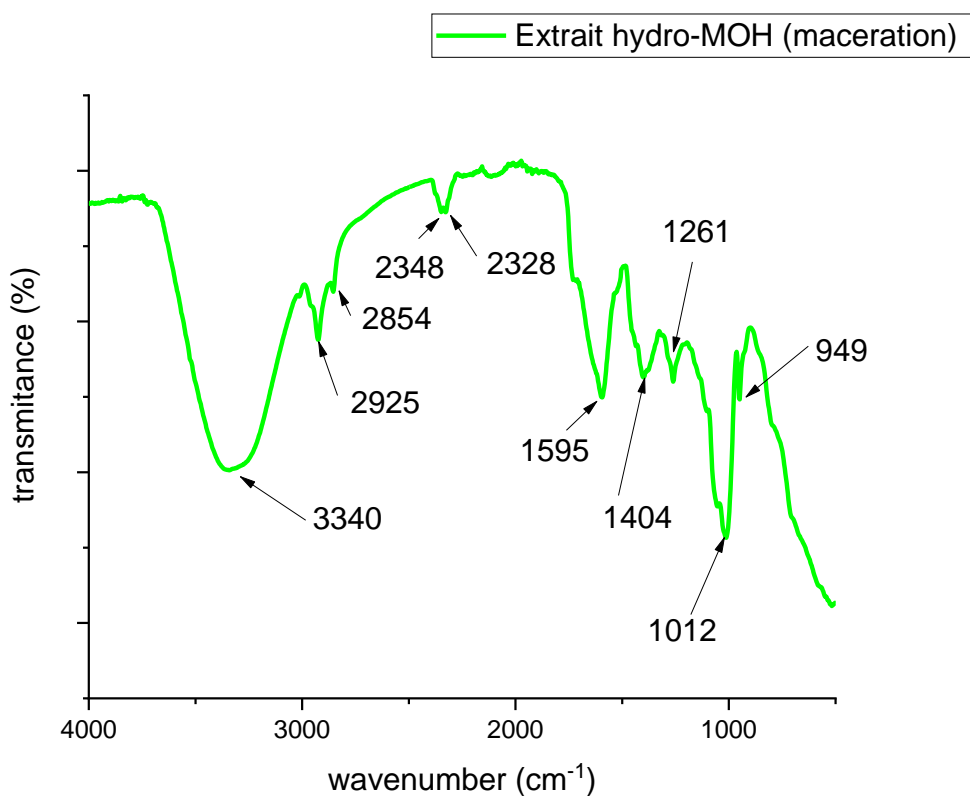
#### III.4. Les spectres FTIR de des extraits brut des deux méthodes d'extraction

Les spectres FTIR de chaque extrait brut ont été enregistrés dans la région IR de 4000 à 400  $\text{cm}^{-1}$ . Les spectres FTIR ont été utilisés pour identifier les groupes fonctionnels présent dans les extraits de Calicotome Spinosa L. Les annexes 2 et 3 présentent les spectres FTIR des extraits bruts obtenus par les techniques de macération et Soxhlet, respectivement. Les spectres de deux extraits ont montré un large pic à 3430  $\text{cm}^{-1}$  (macération) et 3334  $\text{cm}^{-1}$  (Soxhlet) attribués aux vibrations d'étirement O-H des groupes eau, alcool, carboxyle et phénol.

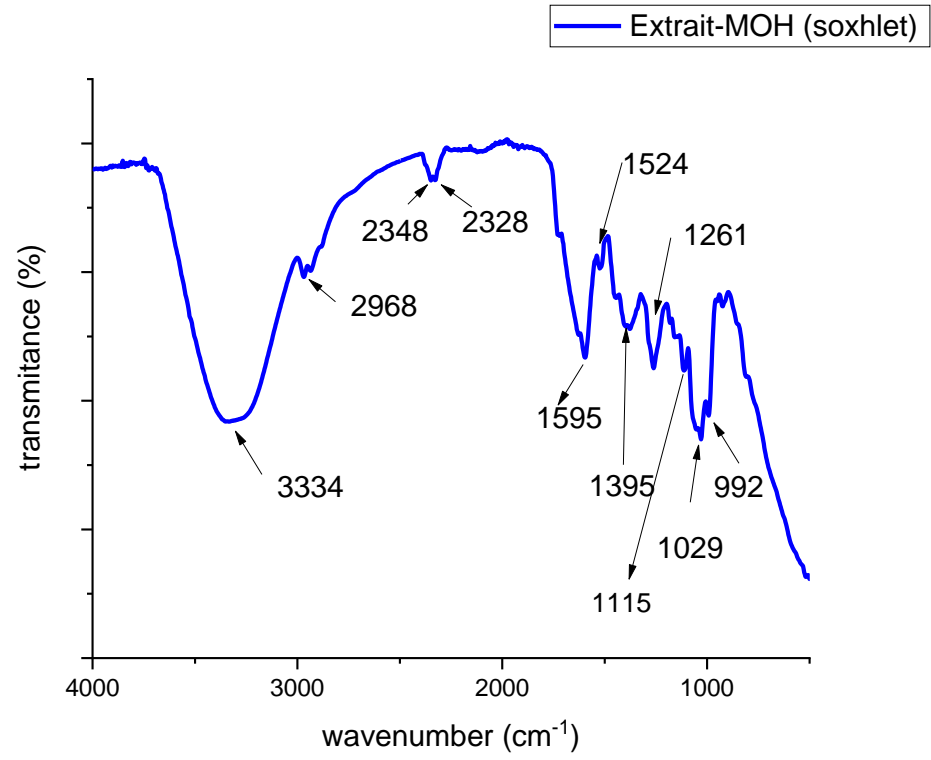
- L'extrait hydro-MeOH (macération) a montré deux bandes d'absorption à 2925 et 2854  $\text{cm}^{-1}$  liées aux vibrations d'étirement asymétriques et symétriques des groupes méthylène ( $\text{CH}_2$  et  $\text{CH}_3$ ), des dérivés méthoxy et C-H (aldéhydes). Alors qu'un seul un pic de faible intensité est apparu à 2968  $\text{cm}^{-1}$  dans le spectre FTIR d'extrait-MOH (Soxhlet).
- La bande à 2348  $\text{cm}^{-1}$  est due à l'étirement C-H aldéhydique, tandis que le pic à 2328  $\text{cm}^{-1}$  indique la présence d'un groupement nitrile (dans les deux spectres infrarouge).
- La bande à 1595  $\text{cm}^{-1}$  correspond aux vibrations d'étirement C=C des cycles aromatiques
- Un pic faible supplémentaire peut également être observé à 1525  $\text{cm}^{-1}$  dans le spectre FTIR d'extrait-MeOH (Soxhlet) dans lequel correspond la vibration d'étirement C=C du cycle aromatique.
- Une bande apparaît à 1404  $\text{cm}^{-1}$  dans le spectre de l'extrait obtenu par la macération correspondant à l'étirement C-C, confirmant la présence de composés aromatiques.
- Le spectre de l'extrait méthanoïques montre un pic à 1395  $\text{cm}^{-1}$  indiquant la flexion O-H des acides carboxyliques, qui à son tour a révélé la présence de flavonoïdes, tanins, saponines et glycosides.
- Le pic à 1261  $\text{cm}^{-1}$  a été attribué à la présence de la vibration d'étirement C-N des amines aromatiques.

Les spectres FTIR de l'extrait hydro-MOH et l'extrait-MOH démontrent différentes bandes dans la région 1200 - 800  $\text{cm}^{-1}$  où :

- Pour le spectre FTIR de l'extrait obtenu par la macération, deux pics d'absorption sont apparus à 1012 et 949  $\text{cm}^{-1}$  correspondant à l'étirement C-N et à la vibration de flexion O-H des acides carboxyliques.
- Il y a trois bandes à 1115, 1029 et 992  $\text{cm}^{-1}$  dans le spectre de l'extrait-MOH (Soxhlet). Où le pic d'absorption à 1115  $\text{cm}^{-1}$  est attribué à la flexion du C-H aromatique dans le plan, et le pic plus intense à 1029  $\text{cm}^{-1}$  indique la teneur la plus élevée en flavonoïdes car cela peut-être dû à la vibration de flexion des liaisons C-OH (liaisons glycoside). Alors que la bande à 992  $\text{cm}^{-1}$  peut être attribué aux vibrations de flexion d'un groupe C-H ou à l'étirement C-H d'alcènes.



*Schéma 1. Spectre FTIR de l'extrait MeOH macération*



*Schéma 2. Spectre FTIR de l'extrait MeOH Soxhlet*

**Références bibliographiques**

1. Ponce, A. G., et al. "Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard." *LWT-Food Science and Technology* 36.7 (2003): 679-684.
2. Larit, F., et al. "Flavonoids from *Calycotome spinosa* (L.). Lamk." *Int J Med Arom Plants* 2.1 (2012): 34-37.
3. Cruz, AL Dela, et al. "Isolation, Characterization, and Antioxidant Activity of *Selligueataeniata* Secondary Metabolites." *Biointerface Res. Appl. Chem* 13.4 (2023).
4. Chaves, Jáisa Oliveira, et al. "Extraction of flavonoids from natural sources using modern techniques." *Frontiers in Chemistry* 8 (2020): 507887.
5. Tzanova, Milena, et al. "Selectivity of current extraction techniques for flavonoids from plant materials." *Processes* 8.10 (2020): 1222.
6. Barek, Saïd, et al. "Phenolic contents, antioxidant, and antibacterial activities of the Algerian *Genista saharae* solvent extracts." *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants* 26.1 (2020): 1-13.
7. Barek, Saïd, et al. "Phenolic contents, antioxidant, and antibacterial activities of the Algerian *Genista saharae* solvent extracts." *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants* 26.1 (2020): 1-13.

# **Conclusion générale**

Les plantes médicinales représentent une source infinie de métabolites secondaires qui ont un très large éventail d'activités biologiques. Les plantes médicinales sont utilisées depuis longtemps dans la médecine traditionnelle inspirée des expériences de la population. Cependant, cette utilisation ne suit pas de règles scientifiques exactes et ne tient pas compte des mécanismes thérapeutiques.

*Calycotome spinosa* L. est une plante médicinale très importante dans la médecine populaire de la région de Skikda. Le présent travail vise à promouvoir l'utilisation de cette plante dans le domaine biologique.

Du point de vue photochimique, un aperçu bibliographique de cette plante médicinale s'est révélé sa riche en différents composés : phénoliques, flavonoïdes et aussi en alcaloïdes.

Les résultats de l'extraction comparative par l'utilisation d'un Soxhlet ou bien par macération à froid, nous montrent que le rendement d'extraction par Soxhlet et le plus important para port à l'extraction par macération.

Les résultats de l'évaluation de l'activité antibactérienne et antioxydante des différents extraits de *Calycotome spinosa* L sont :

L'activité antibactérienne des extraits méthanolique, d'acétate d'éthyle et 2-butanolique de *Calycotome spinosa* L ont été évaluée sur des différent souches bactériennes (gram positives et gram négatives) par la méthode de diffusion sur disque. L'extrait d'acétate a montré une efficacité importante contre *Streptococcus aureus*, qui avait un diamètre de (29 mm). Alors que l'extrait méthanolique a prouvé une bonne sensibilité importante contre *Staphylococcus aureus* (28 mm). Ainsi, il y avait un effet fort et souhaitable contre *Klebsiella pneumoniae* (27 mm) et *Staphylococcus aureus* (24 mm) par le test de l'extrait 2-butanolique. En effet, ces tests microbiens ont confirmé que le pouvoir antibactérienne varie d'un extrait à l'autre, en relation directe avec les différences de leurs compositions chimiques en métabolite secondaires.

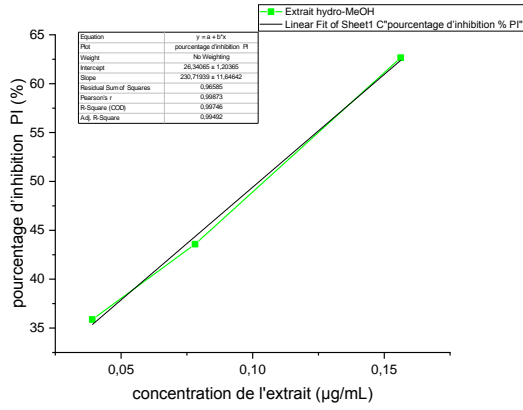
L'activité antioxydante des extraits de *Calicotomespinosaa* été déterminée par la méthode DDPH•. Les résultats ont montré que l'extrait de chloroformiquea une activité antioxydante importante avec une IC de  $0,054 \pm 5,17 \mu\text{g/ml}$  proche du témoin (acide ascorbique), alors que les autres extraits ont un potentiel antioxydant nettement faible.

Les résultats des spectres FTIR des deux extraits : méthanolique et hydro-méthanolique, confirment les données des études antérieures, ce qui montre la richesse et la diversité de cette plante en groupes fonctionnels et en composés bioactifs.

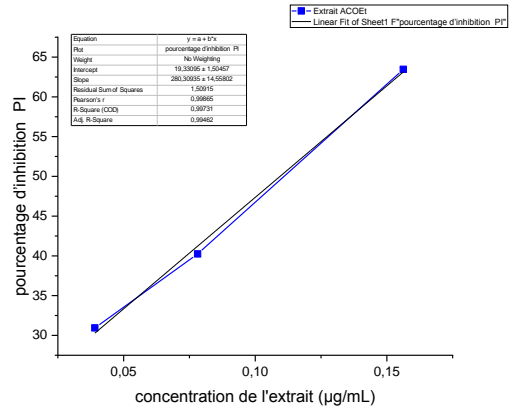
*Après les différents résultats obtenus durant ce travail, nous proposons les perspectives suivantes :*

- L'utilisation d'outils et de dispositifs de caractérisation à haute résolution tels que (HPLC, LC-MS, RMN, etc.) pour déterminer la composition chimique des extraits de *Calycotome spinosa* et la recherche de nouvelles substances actives.
- Évaluation des autres activités de ces extraits comme anticancéreuse, antifongique, antivirale, antiparasitaire, insecticide, anti-inflammatoire, Anti tumorale, etc. Pour bien valoriser notre flore algérienne.

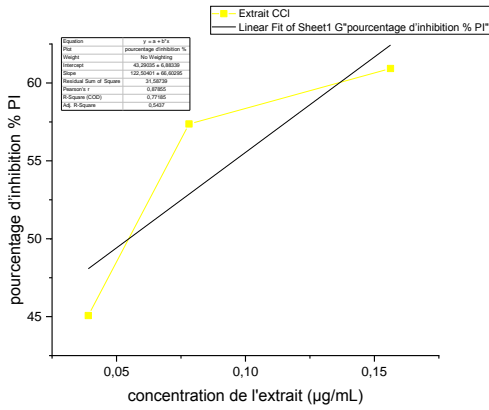
# **Annexes**



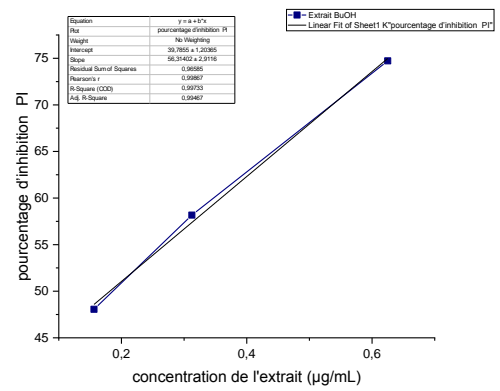
a)



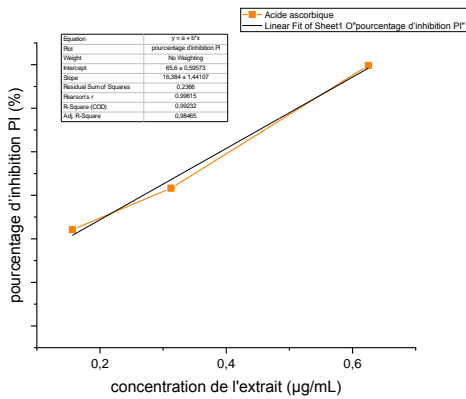
b)



c)



d)



e)

**Annexe 1.** Régression linéaire de de l'inhibition du DPPH\* en fonction de la concentration des l'extraits, a) extrait hydro-MeOH, b) extrait AcOEt, c) extrait CHCl<sub>3</sub>, d) extrait 2-BuOH et e) acide ascorbique.